

Aufbauanleitung des optischen Kohärenztomographen

Der fertige Aufbau des optischen Kohärenztomographen ist in Abbildung 1 zu sehen. Die blauen Zahlen markieren darin die Bauteile des Michelson-Interferometers, während die grünen Zahlen die Bauteile des Mikroskops kenntlich machen. Der Aufbau besteht aus einer LED **1**, einem Strahlteiler **2**, einer manuellen Stage mit Spiegelrohling **3**, einem Probenhalter **4** auf einer motorisierten Stage **5**, einer Linse mit $f_1 = 75\text{ mm}$ **6**, einer Linse mit $f_2 = 200\text{ mm}$ **7** und einer Kamera **8**.

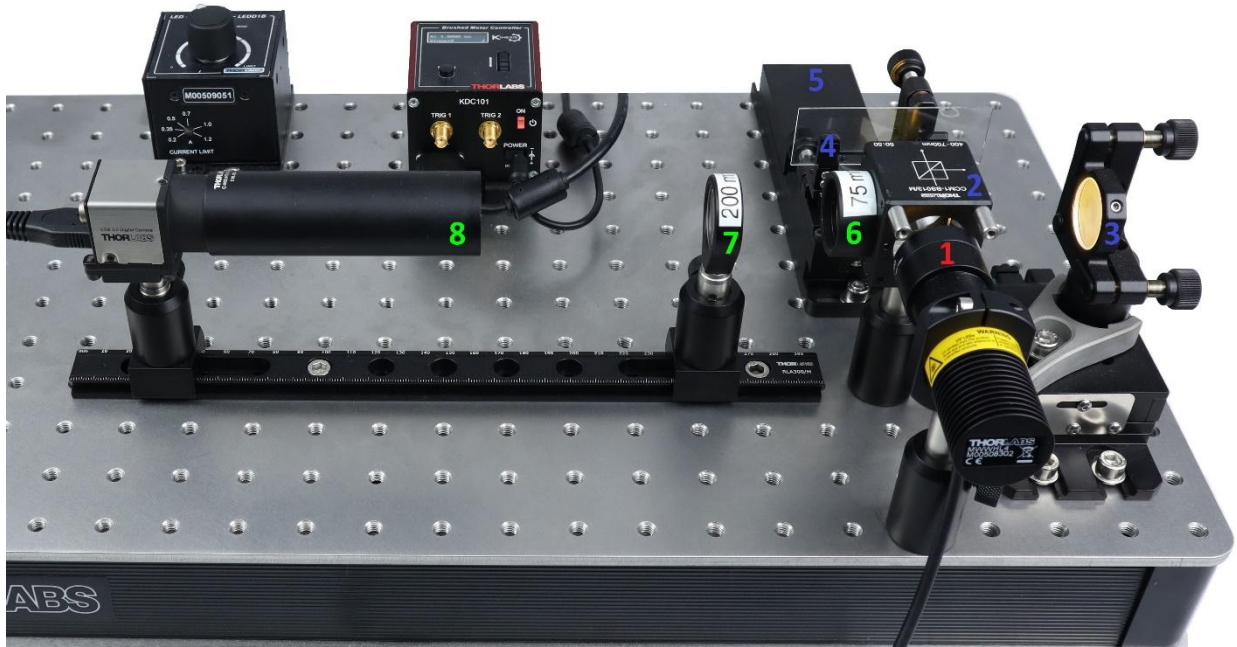


Abbildung 1: Fertiger Aufbau des optischen Kohärenztomographen

1 Aufbau

1.1 Ein- und Umbau der Objektivlinse

1. Starten Sie die Software „EDU-OCT“.
2. Nehmen Sie die Linse $f_2 = 150 \text{ mm}$ und ersetzen Sie die Linse $f_2 = 200 \text{ mm}$ (s. Abb. 2 - links). Bauen Sie ein unendlich korrigiertes Mikroskop auf, indem Sie den Abstand zwischen Kamera und Linse so einstellen, dass ein scharfes Bild eines weit entfernten Gegenstandes zu sehen ist (s. Abb. 2 – rechts). Erhöhen Sie für eine bessere Belichtung im EDU-OCT-Fenster die „Exposure Time“ und schalten Sie gegebenenfalls das Raumlicht ein.



Abbildung 2: links: Kamera und Linse auf einer Schiene;
rechts: scharfes Bild eines ca. 5 m entfernten Oszilloskops

Frage: Warum wollen Sie den Aufbau unendlich korrigieren?

3. Passen Sie die Höhe der Linse und der Kamera mit Hilfe des runden, schwarzen Justiertools so an, dass Linse und Kamera möglichst mittig getroffen werden (s. Abb. 3).

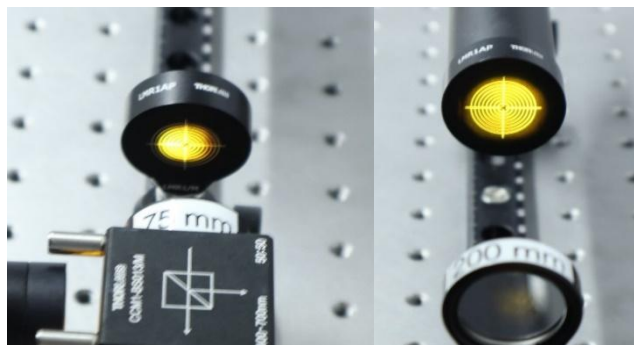


Abbildung 3: Höhenkalibrierung von der Linse (links) und der Kamera (rechts)

4. Legen Sie den Wert für die Exposure Time auf 0,2 ms fest und regulieren Sie die Intensität der LED, sodass das Bild im EDU-OCT-Fenster grau erscheint (das Intensitätsprofil (gelber  Button,) sollte bei etwa 500 liegen).

1.2 Aufbau: Feinjustage

1. Verfahren Sie die Stage, bis die Oberfläche Ihrer Probe scharf zu erkennen ist. (siehe Abschnitt 3.1)
2. Stellen Sie falls nötig die Intensität der Lampe nochmals so ein, dass das Intensitätsprofil wieder bei etwa 500 liegt. Ist die Lampe sehr weit aufgedreht, lohnt es sich gegebenenfalls die Belichtungszeit anzupassen.
3. Stellen Sie nun die Position der manuellen Stage (des Spiegels) ein, bis das Interferenzmuster der ersten Oberfläche angezeigt wird. Ist das Muster sehr schwach zu erkennen, haben Sie vermutlich das Interferenzmuster der Rückseite. In diesem Fall müssen Sie den Spiegel weiter nach vorne einstellen. Sie können auch mit dem Lineal die Armlängen der beiden Interferometerarme überprüfen – Sie müssen ziemlich genau gleich sein. Achtung: Verwechseln Sie die Mikrometerschraube nicht mit den Stellschrauben am Spiegelrohling (s. Abb. 4 - rechts)!

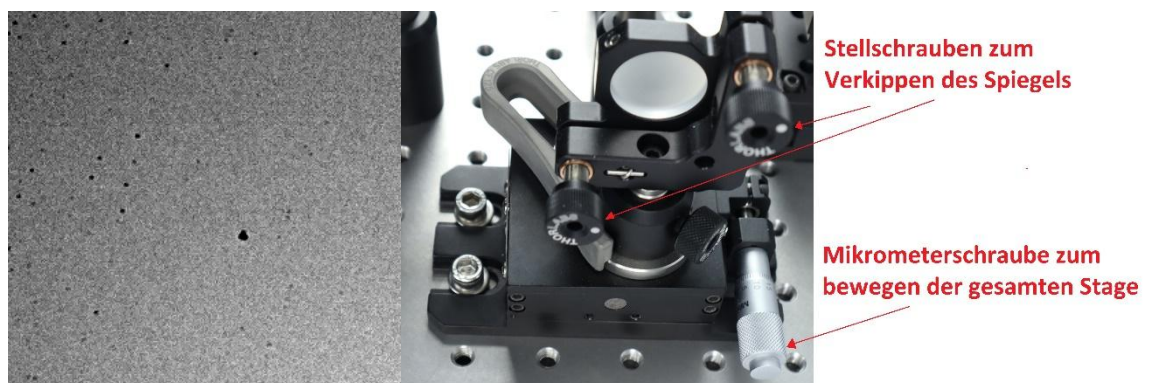


Abbildung 4: links: Staubpartikel auf Spiegelrohling; rechts: Überblick über Schrauben an manueller Stage

2 Durchführung

2.1 Orientierung und Dicke der Interferenzstreifen

1. Die Orientierung und die Dicke der Interferenzstreifen können mit den Stellschrauben am Probenhalter der motorisierten Stage beeinflusst werden.
2. Durch das Verdrehen der Stellschrauben wird sich das Interferenzmuster aus dem Kamerabild herausbewegen, weshalb Sie mit der Mikrometerschraube die manuelle Stage nachjustieren müssen.

3. Für eine Messung sollten die Interferenzstreifen so dick werden, dass das Interferenzmuster das Kamerabild vollständig bedeckt (vgl. Abb. 5). Es bietet sich an, die Interferenzstreifen entweder horizontal oder vertikal auszurichten, da dies die manuelle Einstellung erleichtert. (Warum?)
 - a. Sind anfangs nur horizontale Interferenzstreifen zu sehen, so können diese durch eine vertikale Verkipfung vergrößert werden (obere Stellschraube).
 - b. Sind anfangs nur vertikale Interferenzstreifen zu sehen, so müssen Sie, um die Dicke der Interferenzstreifen zu ändern, die hintere Stellschraube für eine horizontale Verkipfung nutzen.
 - c. Sind anfangs weder vertikale noch horizontale Streifen zu sehen, so drehen Sie so lange an den Stellschrauben, bis entweder vertikale oder horizontale Streifen zu sehen sind und fahren Sie dann entweder mit Schritt 4.a oder Schritt 4.b. fort.

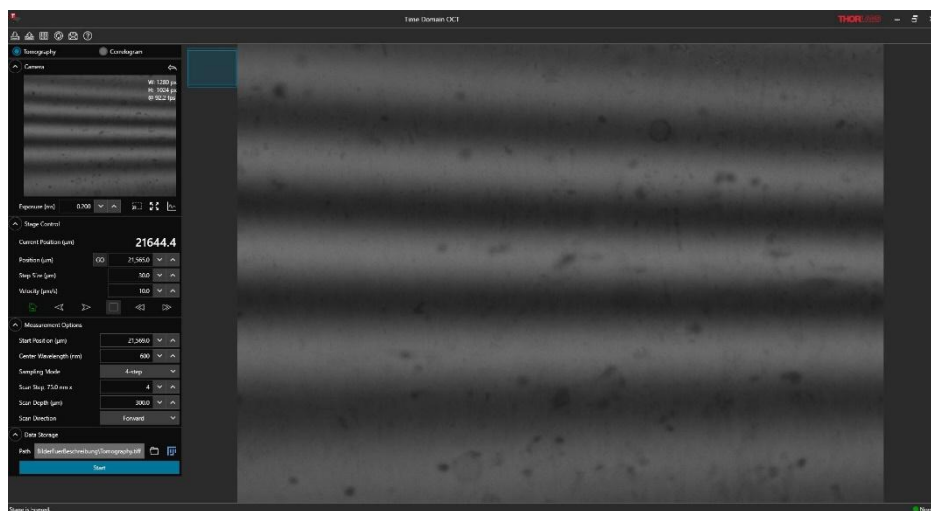


Abbildung 5: Interferenzstreifen auf flacher Probe, welche das Kamerabild komplett bedecken.

2.2 Vermessung von Proben

Starten Sie die Software EDU-OCT und folgen Sie den Anweisungen in Abschnitt 3.1.

2.3 Filter austauschen

1. Schalten Sie die LED aus und entfernen Sie sie aus dem Postholder, indem Sie die LED seitlich am Gestänge des Strahlteilers vorbeidrehen.
2. Vorne an der LED ist standardmäßig ein Filter befestigt, der Licht unterhalb einer Wellenlänge von 495 nm absorbiert. Drehen Sie diesen Filter heraus und ersetzen Sie ihn durch einen anderen Filter.

3. Positionieren Sie die LED erneut in ihrem Postholder. Passen Sie gegebenenfalls die Leistung der LED oder die „Exposure Time“ an.

3 Software-Übersicht

3.1 EDU-OCT

Software starten

- Schalten Sie den Steuerwürfel der motorisierten Stage ein und öffnen Sie die Software „EDU-OCT“ auf dem Desktop. Stellen Sie sicher, dass die Kamera in einem USB 3.0 Anschluss angeschlossen ist, da es ansonsten zu Datenverlust kommen kann.

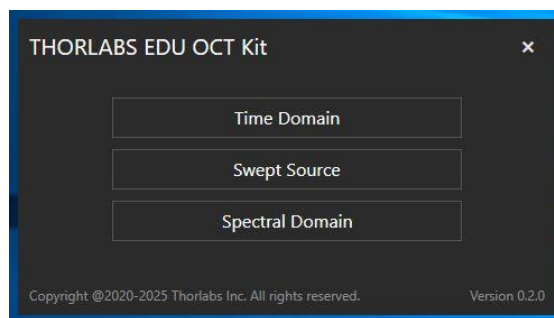


Abbildung 6: Wahl des Verfahrens

- Wählen Sie „Time Domain“ als Verfahrensart aus, s. Abb. 6.

Abbildung 7 zeigt einen Ausschnitt der graphischen Oberfläche der Software. Stellen Sie sicher, dass der in Abbildung 7 rot umzeichnete Bereich auf „3D Image“ eingestellt ist. Den Bereich „A-Scan“ werden Sie erst später verwenden müssen (siehe weiter unten: „Interferogramm aufnehmen“). Sollte das große Kamerabild nicht zu sehen sein, drücken Sie auf den „Camera View“ - Pfeil rechts über dem kleinen Bild, es sollte dann erscheinen.

- Drücken Sie auf den „Home“-Button  und geben Sie der Stage Zeit, die Aktion durchzuführen. Das Programm wird Sie ansonsten keine Aktionen durchführen lassen.
- Überprüfen Sie, sobald Sie nicht mehr den Laser verwenden, dass das Intensitätsprofil (siehe Abbildung 10) bei etwa 500 ist. Verändern Sie gegebenenfalls die Leistung der Lampe, um dies zu erreichen.



Abbildung 7: Grafische Oberfläche EDU-OCT; im Bildfenster ist die Oberfläche einer Probe zu sehen.

- Stellen Sie zunächst unter „Stage Control“ für die „Step Size“ 10 μm und für die „Velocity“ 20 $\mu\text{m/s}$ ein. Diese Werte können je nach Aufgabenstellung geändert werden, haben sich aber als gut für generelle Messungen erwiesen. Sie können, falls gewünscht, mit Position und dem GO-Befehl zu spezifischen Positionen fahren. Abbildung 8 beschreibt die Symbole, um die sonstigen Aktionen durchzuführen. Von links nach rechts:



Abbildung 8: Symbolbeschreibung

1. „Home“-Button: sorgt für reproduzierbare Messergebnisse auch bei mehreren Messdurchläufen – zu Beginn einmal zu verwenden.
2. Schritt nach hinten: Die Stage entfernt sich um die als „Step Size“ angegebene Länge weg vom Strahlteiler-Würfel.
3. Schritt nach vorne: Die Stage fährt um die als „Step Size“ angegebene Länge näher an den Strahlteilerwürfel heran.

4. Stop: Kann geklickt werden, wenn die Stage mit „Go“ zur angegebenen Position fährt oder um die angegebene „Step Size“ nach hinten oder vorne fährt, um die Aktion zu stoppen.
 5. Bewegung zurück: Stage fährt konstant (Anfahrt und Stoppen nicht einbezogen) mit der Geschwindigkeit angegeben unter „Velocity“ nach hinten
 6. Bewegung vorwärts: Stage fährt konstant (Anfahrt und Stoppen nicht einbezogen) mit der Geschwindigkeit angegeben unter „Velocity“ nach vorne
- Mithilfe von „Exposure“ können Sie die Belichtungszeit variieren. EDU-OCT variiert gegebenenfalls die „Frames per second“ (aufgenommene Bilder pro Sekunde), um die Aufnahme zu ermöglichen. Es hat sich bisher als gut erwiesen, die Belichtungszeit auf 0.2ms zu belassen. In Aufgabe 1 haben Sie den Zusammenhang zwischen fps und Geschwindigkeit gelernt. Die Software EDU-OCT regelt die Scan-Geschwindigkeit automatisch selbst, sobald eine Messung gestartet wird.

Messung starten – Tomographie

Abb. 9 zeigt den Ausschnitt der Software-Oberfläche, mit dem Sie die 3D-Aufnahme steuern können.

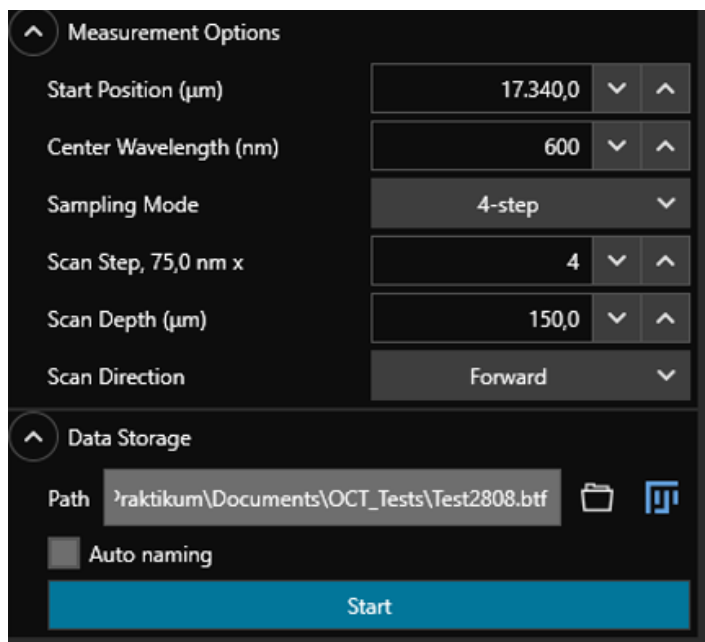


Abb. 9: Ausschnitt der Software-Oberfläche für die Kontrolle der Messung

- Stellen Sie zunächst sicher, dass Sie sich im Reiter „3D Image“ befinden.
- Stellen Sie als gewünschte „Start Position“ ca. die „Position Ihrer Interferenz“ ein. Dies ist wichtig, da die Stage erst einmal anfahren muss. Um Daten zu sparen, kann dieser Vorlauf später in einem gewissen Maße verkleinert werden, falls benötigt.
- Als „Center Wavelength“ ist bei der Aufnahme mit Gelblicht 600nm einzustellen. Wird der Grünfilter verwendet, muss dies entsprechend auf 532nm angepasst werden. Diese Einstellung wird benötigt, um das 4-Bild-Verfahren durchzuführen.
- Als „Sampling Mode“ gibt „4-step“ die beste Auflösung. Dieses Verfahren ist zwar rechnerintensiver als „2-step“, in dem hier verwendeten Versuch allerdings dennoch zu bevorzugen.
- Mit „Scan Depth“ legen Sie fest, wie bis zu welcher Probentiefe wird. Ist die „Scan Direction“ als „forward“ festgelegt, geht die Messung von der „Start Position“ bis „Start Position + Scan Depth“, bei „backward“ bis „Start Position - Scan Depth“. Mit der „Scan Depth“ Einstellung können Sie etwas spielen, bedenken Sie aber die lineare Zunahme an Daten. Scannen Sie einen zu großen Bereich, können die Daten nicht weiterverarbeitet werden.
- Ist die Dateigröße zu groß und kann nicht mehr verarbeitet werden, ist die beste Möglichkeit, diese zu reduzieren:
 Definieren Sie eine sogenannte „Region of Interest“ (kurz: ROI): Durch Auswahl der Region of Interest (Klicken auf den Button , s. Abb. 7, und Auswahl der Region durch Klicken+Ziehen über das kleine oder große Bild) sorgt dafür, dass die Kamera nur noch diesen Bereich aufnimmt. Somit werden weniger Daten generiert und können einfacher ausgewertet werden. Dies ist nur möglich, wenn kleinere Strukturen untersucht werden sollen. Hier ist zu beachten, dass nun zum Erstellen eines Querschnittsbildes (siehe Abschnitt ...) der Matlab-Code mit der Benennung „OCT_Querschnitt_andereLaengen“ verwendet werden muss, in welchem explizit die Bildgröße verändert werden muss. Für den VolumeViewer (s. später) ist keine Veränderung notwendig. Um wieder auf den ganzen Bildausschnitt zu kommen, muss auf den Knopf  geklickt werden.
- Wählen Sie als „Path“ den von Ihnen gewünschten Speicherort ein und klicken Sie auf „Start“, um die Messung zu starten.

- Nach beendeter Messung erscheint unter dem großen Bild folgende Leiste:



Mit dem Schieberegler kann man nun die Einzelbilder in die Tiefe hinein ansehen. Außerdem muss hier die Messung nochmal in einem geeigneten Format abgespeichert werden: Wählen Sie als Plot Mode „Linear“ und drücken Sie den Speicherknopf , den vorgeschlagenen Dateinamen können Sie übernehmen.

Achtung: Sie müssen nun die große, im .tid-Format gespeicherte Datei umbenennen in .tiff (Sie können ganz einfach die Endung des Dateinamens ändern). Diese Datei können Sie jetzt in den VolumeViewer von Matlab hineinladen und sich die Daten in einer 3D-Darstellung ansehen.

Interferogramm aufnehmen

- Wählen Sie als Modus „A-Scan“ aus. Ihre Stage befindet sich noch immer an gleicher Stelle, auch „Position“, „Step Size“, „Velocity“ sowie „Start Position“, „Scan Depth“ und „Scan Direction“ werden übernommen und behalten die gleichen Funktionen.
- Mit dem Stift können Sie auf dem großen oder dem kleinen Bild den Punkt auswählen, für welchen Sie ein Interferogramm aufnehmen wollen. Hier empfiehlt es sich, mehrere Messungen zu machen und diese zu vergleichen. Dies verhindert Fehler durch z.B. abweichende Pixel.
- Bei „Measurement Options“ ist im Vergleich zu „3D Image“ einiges weniger einzustellen, dafür aber „Points per 1 μ m“ hinzugekommen. Hiermit bestimmen Sie Ihre laterale Auflösung, indem Sie wählen wie viele Messungen pro 1 μ m Verfahrstrecke aufgenommen werden. Für eine schnelle Messung haben sich 250 als praktisch erwiesen, als Experimentatoren sollten Sie aber auch hier etwas ausprobieren um eine sehr gute Aufnahme zu erhalten.
- Stellen Sie wieder den „Path“ zum Speichern ein und klicken Sie auf Start.
- Im rechten Bild erhalten Sie das gesamte Interferogramm angezeigt, mit den weißen Balken in der unteren Leiste können Sie den Bereich variieren, welchen Sie im oberen, großen Bild sehen (S. Abb. 10).

- Ein Klick auf den Button „Markers“ links unter dem großen Bild liefert zwei verschiebbare blaue Balken sowie eine Anzeige über Position und Differenz der Balken. Dies können Sie für Ihre Auswertung nutzen. Sind Sie ein Liebhaber von Python/anderen Auswertmethoden, so können Sie die gespeicherte Datei verwenden und mit diesen Daten eine separate Auswertung durchführen. Wollen Sie sich eine Messung nochmals ansehen, so klicken Sie einfach auf den Knopf „Load CSV File“ neben „Markers“ und lesen Sie eine alte .csv Datei ein.

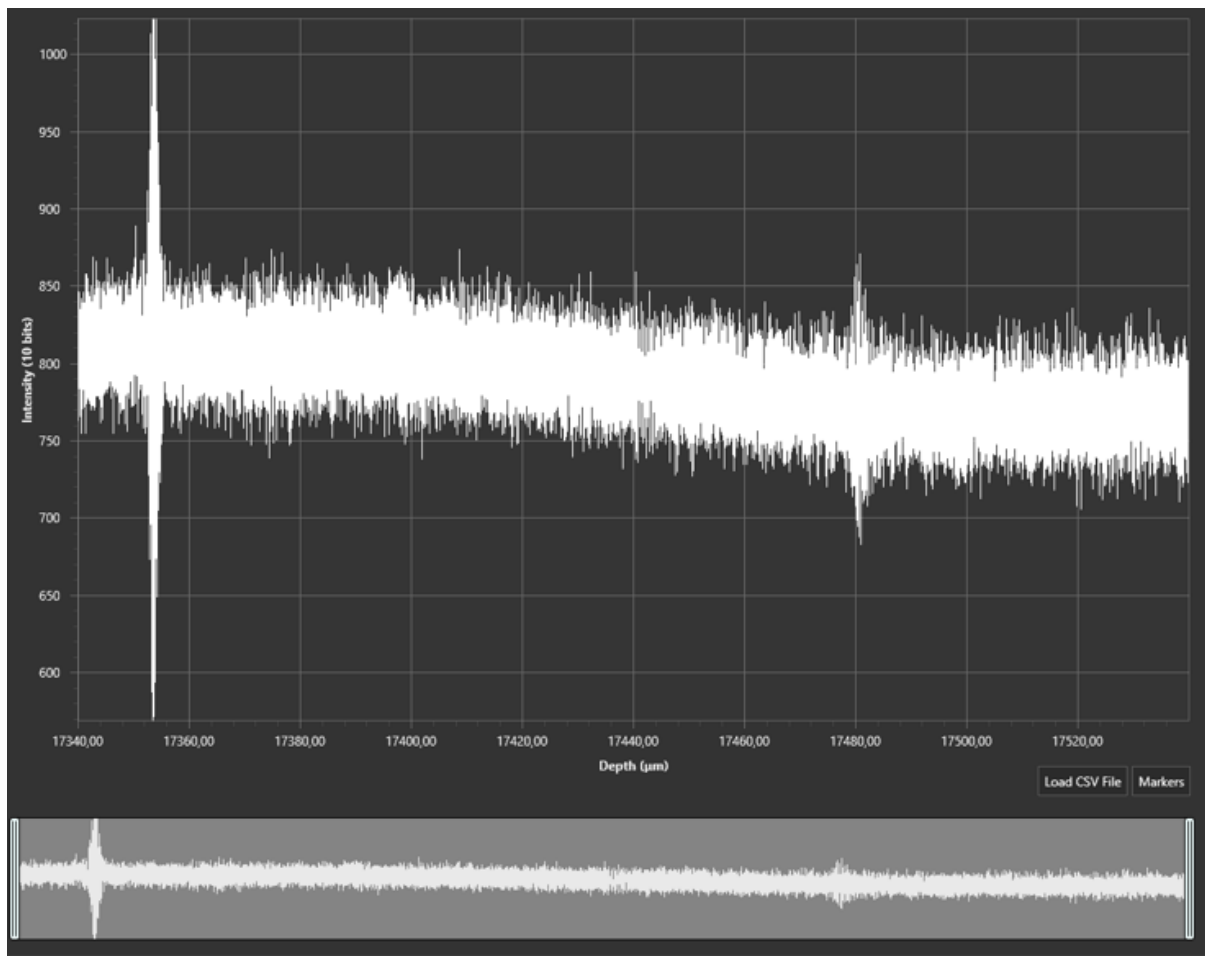


Abb. 10: Ausschnitt des Interferogramm-Fensters

3.2 Matlab

Software Starten

- Öffnen Sie Matlab und klicken Sie in das Textfeld. Nun erscheint der „Editor“-Reiter.

Darstellung mit VolumeViewer

- Zur Darstellung können Sie den Befehl **volumeViewer();** in die Kommandozeile von Matlab eingeben.
- Öffnen Sie im sich öffnenden Fenster die gewünschte .tiff Datei über den Button „Load Volume“ .

Darstellungsmöglichkeiten

- Im **Volume-Menu**  bietet sich, zur geeigneten Darstellung der Probe, die Einstellung „Isosurface“ an (s. rechts in Abb. 11). Dort kann durch Änderung des „Isovalue“ das Hintergrundrauschen bis zu einem beliebigen Graustufenwert unterdrückt werden.
- Im **Slice-Planes-Menu**  wird eine Ebene in jeder Dimension dargestellt. Durch Bewegen

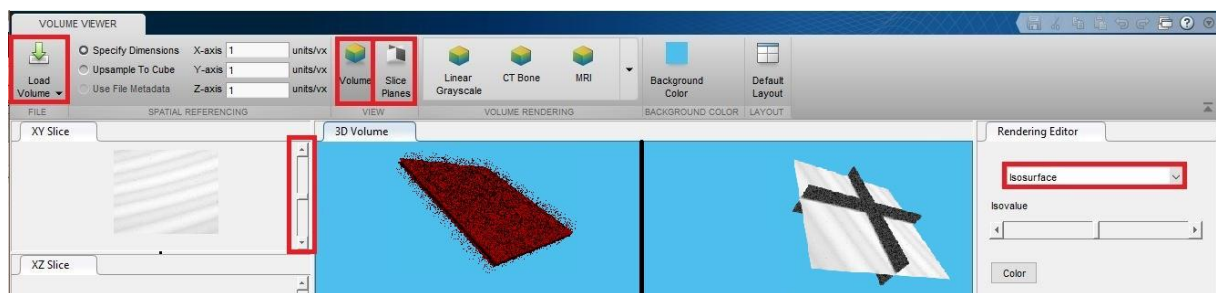


Abbildung 11: Oberfläche des VolumeViewer

der Schieberegler auf der linken Seite können diese Ebenen variiert werden.

Querschnittsbild

- Falls Matlab noch nicht geöffnet ist: Öffnen Sie Matlab und führen Sie das Programm „OCT_Querschnitt“ im Reiter „Editor“ über den „Run“-Button aus. Wählen Sie die Datei des auszuwerfenden Bilderstacks aus und geben Sie anschließend im sich öffnenden Dialogfenster den Namen der Probe ein. Das Querschnittsbild befindet sich anschließend im gleichen Ordner wie die verwendeten Daten.
Achtung: Wurde eine ROI (region of interest) gewählt, muss die Matlab-Datei „OCT_Querschnitt_AndereLaengen“ gewählt werden. Die Bildgröße kann darin angepasst werden (Pixelgröße wird in der OCT-Software links oben am kleinen Bildfenster angezeigt).