

Aus der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH
wissenschaftliche Einrichtung an der Universität zu Lübeck
Forschungsleiter und Geschäftsführer:
Prof. Dr. phil. nat. Reginald Birngruber

Mikroskopische Untersuchungen zur laser- induzierten Blasenbildung und -dynamik an absorbierenden Mikropartikeln

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
— Aus der Technisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät —

vorgelegt von
Jörg Neumann
aus Marne

Lübeck 2005

- | | |
|----------------------|-----------------------------------|
| 1. Berichterstatter: | Priv.-Doz. Dr. rer. nat. A. Vogel |
| 2. Berichterstatter: | Prof. Dr. rer. nat. E. Konecny |
| 3. Berichterstatter: | Prof. Dr.-Ing. F. Hillenkamp |

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Mai 2005

Zum Druck genehmigt, Lübeck den 06. Juli 2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Motivation	5
2.1	Biomedizinische Anwendungen	5
2.1.1	Selektive Retina-Therapie (SRT)	7
2.1.2	Selektive Laser-Trabekuloplastik (SLT)	17
2.1.3	Partikelbasierte Chirurgie auf zellulärer Ebene	18
2.1.4	Partikel als Kontrastmittel bei der optoakustischen Tomographie	19
2.1.5	Partikel als Mikroreaktoren	20
2.2	Transiente Siedevorgänge in technischen Anwendungen	21
2.2.1	Nichtlineare Lichttransmission infolge von Blasenbildung um Mikro- und Nanoabsorber	21
2.2.2	Mikrofluidik-Systeme	23
2.2.3	Steam Laser Cleaning	24
2.3	Ziele dieser Arbeit	25
3	Physikalische Grundlagen	29
3.1	Lichtabsorption in Mikropartikeln	29
3.1.1	Berechnung mittels Mie-Theorie	30
3.1.2	Berechnung mittels geometrischer Optik	31
3.2	Wärmeleitung	32
3.2.1	Halbanalytische Lösung der Wärmeleitungsgleichung	34
3.2.2	Numerische Lösung der Wärmeleitungsgleichung	35
3.3	Thermoelastische Druckentstehung	36
3.4	Der Phasenübergang flüssig – gasförmig	38
3.4.1	Die Thermodynamik des Phasenübergangs	38
3.4.2	Freie Enthalpie und spinodale Dekomposition	42
3.4.3	Klassische Nukleationstheorie	43
3.4.4	Inhomogene Nukleation	48
3.5	Blasendynamik bei Siedevorgängen	51
3.5.1	Rayleigh-Plesset-Modell	51

3.5.2	Blasendynamik in räumlich inhomogen erhitzten Flüssigkeiten	57
3.5.3	Blasendynamik um erhitzte Partikel	58
3.5.4	Druckentstehung infolge von Blasenbildung	61
4	Material und Methoden	63
4.1	Mikropartikel	63
4.1.1	RPE-Melanosomen	64
4.1.2	Goldpartikel (Chemicell MG-2/1)	66
4.1.3	Magnetische Silikatpartikel (Chemicell SiMAG-EP)	66
4.1.4	Probenpräparation	68
4.2	RPE-Zellfragmente	69
4.3	Ex vivo RPE-Modell	69
4.3.1	Probenpräparation	69
4.3.2	Vitalitäts-Assay	69
4.4	Versuchsaufbau und experimentelle Methoden zur Beobachtung von Blasenbildung um einzelne Mikropartikel	71
4.4.1	Lasersysteme	71
4.4.2	Bestrahlungsaufbau	74
4.4.3	Kurzzeit-Mikrophotographie	77
4.4.4	Transmissionsmessung mit einem Abfragelaser	78
4.4.5	Interferometrie	79
4.4.6	Datenaufnahme und -verarbeitung	80
4.5	Bestrahlung von RPE-Explantaten	81
4.5.1	Bestrahlungsaufbau	81
4.5.2	Druckmessungen	83
4.5.3	Interferometrie	84
5	Blasenbildung um einzelne Mikropartikel	85
5.1	Empfindlichkeit und Konsistenz der Meßmethoden für die Blasenbildungsschwelle	85
5.2	Blasennukleation	88
5.2.1	Photographische Beobachtung der Nukleation	88
5.2.2	Statistik der Blasenbildungsschwellen	90
5.2.3	Thermische Modellierung der Blasenbildungsschwellen	93
5.2.4	Temperaturabhängigkeit der Blasenbildungsschwellen	97
5.2.5	Abhängigkeit der Blasenbildungsschwellen von der Bestrahlungspulsdauer	100
5.2.6	Bestimmung des Absorptionskoeffizienten von Melanosomen	103
5.2.7	Beeinflussung der Blasenbildungsschwellen durch Abfragelaser und Belichtung	105
5.2.8	Zeitpunkt der Blasennukleation	106
5.3	Blasendynamik	109

5.3.1	Blasenlebensdauer	110
5.3.2	Blasengröße	113
5.3.3	Bildung stabiler Blasen nach Bestrahlung von Melanosomen	120
5.3.4	Blasenexpansionsgeschwindigkeit nach der Nukleation . . .	121
5.4	Diskussion	124
5.4.1	Blasenbildungsschwellen	124
5.4.2	Nukleationstemperaturen und Nukleationsmechanismen . .	128
5.4.3	Qualitatives Blasenmodell	145
5.4.4	Modellierung der Blasenbildung um lasererhitzte Mikropartikel	160
6	Blasenbildung im retinalen Pigmentepithel	165
6.1	Blasendynamik an RPE-Zellfragmenten	165
6.2	Blasendynamik in RPE-Explantaten	169
6.3	Laserinduzierte Zellschädigung	173
6.4	Interferometrische und optoakustische Detektion der Zellschädigung	176
6.5	Diskussion	180
6.5.1	Mechanismen der Zellschädigung	180
6.5.2	Bestrahlungsschwellen für Zellschädigung	183
6.5.3	Blasendynamik in RPE-Explantaten	184
6.5.4	Interferometrische Detektion der Zellschädigung	187
7	Folgerungen und Ausblick	189
8	Zusammenfassung	195
A	Anhang	199
A.1	Materialeigenschaften	200
A.1.1	Mikropartikel	200
A.1.2	Wasser	202
A.2	Temperaturabhängige Materialeigenschaften	203
A.2.1	Wasser	203
A.2.2	Gold	206
A.3	Berechnung der Partikelabsorption mit der Mie-Theorie	207
A.4	Geometrische Abschätzung des Strahlungstransports innerhalb einer kugelsymmetrischen Blase	209
A.5	Statistik binärer Ereignisse	211

Symbolverzeichnis

A	$W m^{-3}$	volumetrische Leistungsdichte
$D = \mu_{abs}^{-1}$	m	optische Eindringtiefe
E_B	J	Blasenenergie
E_{abs}	J	absorbierte Energie
G	J	freie Enthalpie (Gibbsches Potential)
$G_K = R_K^{-1}$	$W m^{-2} K^{-1}$	Wärmeübergangswiderstand
H	$J m^{-2}$	Bestrahlung
H_S	$J m^{-2}$	Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle
I	$W m^{-2}$	Intensität
J_{hom}	$m^{-3} s^{-1}$	volumetrische Keimbildungsrate für homogene Nukleation
J_{het}	$m^{-2} s^{-1}$	Keimbildungsrate für heterogene Nukleation an einer Grenzfläche
K	$W m^{-1} K^{-1}$	Wärmeleitfähigkeit
M	$kg kmol^{-1}$	Molmasse
$N = \rho/m$	m^{-3}	Moleküldichte
N_A	$kmol^{-1}$	Avogadro-Zahl mit $N_A = 6.022 \cdot 10^{26} kmol^{-1}$
$Q_{abs}, Q_{sca}, Q_{ext}$		Effizienzen für Absorption, Streuung, Extinktion
$R_g = k_B N_A$	$J K^{-1} kmol^{-1}$	universelle Gaskonstante
$R_x = R_g/M$	$J K^{-1} kg^{-1}$	spezifische Gaskonstante des Stoffes x mit der Molmasse M
$R_K = G_K^{-1}$	$m^2 K W^{-1}$	Wärmeübergangswiderstand (Kapitza-Widerstand)
R	m	Partikelradius
R_e	m	Blasenradius im thermodynamischen Gleichgewicht
$R_{B,max} = d_{Blase}/2$	m	maximaler während eines Blasenzyklus erreichter Blasenradius
R_B	m	Blasenradius
R_{cav}	m	Öffnungsradius einer Gastasche
S	$J K^{-1}$	Entropie
T, T_0	$^{\circ}C$	Temperatur, Umgebungstemperatur
T_{sp}	$^{\circ}C$	spinodale Temperatur (bei Normaldruck)
T_c	$^{\circ}C$	kritische Temperatur

$T_{sat}(p)$	$^{\circ}\text{C}$	Verdampfungstemperatur im thermodynamischen Gleichgewicht bei dem Druck p
T_{Nuk}	$^{\circ}\text{C}$	Nukleationstemperatur
ΔT_{Laser}	$^{\circ}\text{C}$	laserinduzierte Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche
T_v	$^{\circ}\text{C}$	Dampftemperatur in einer Blase
$T_e(r)$	$^{\circ}\text{C}$	Temperatur, bei der eine Blase mit dem Durchmesser r im thermodynamischen Gleichgewicht mit seiner Umgebung ist
V	m^3	Volumen
c	m s^{-1}	Lichtgeschwindigkeit
c_p	$\text{J kg}^{-1}\text{K}^{-1}$	isobare Wärmekapazität
c_l	m s^{-1}	Geschwindigkeit für longitudinale Schallwellen
c_t	m s^{-1}	Geschwindigkeit für transversale Schallwellen
d_{Blase}	m	Blasendurchmesser bei $\tau_{Blase}/2$
h_{fg}	J kg^{-1}	latente Verdampfungswärme
k_B	J K^{-1}	Boltzmann-Konstante $k_B = 1.381 \cdot 10^{-23} \text{J K}^{-1}$
$m = n - ik$		komplexer Brechungsindex (Der Imaginärteil k ist ein Maß für die Dämpfung der elektromagnetischen Welle [Lichtabsorption].)
$m = M/N_A$	kg	Molekülmasse
n		Realteil des komplexen Brechungsindex m
p, p_l, p_0	Pa	Druck, Flüssigkeitsdruck, Umgebungsdruck
p_{sat}	Pa	Sättigungsdampfdruck
p_v	Pa	Dampfdruck in einer Blase
$p_{ve} = \eta p_{sat}$	Pa	Dampfdruck in einer Blase im thermodynamischen Gleichgewicht mit $\eta = \exp((p_l - p_{sat})/\rho R_x T)$
q''	W m^{-2}	Wärmefluß
\mathbf{r}	m	Ortsvektor
r_{Laser}	m	Durchmesser des Bestrahlungsflecks (top hat)
$r_T = \sqrt{4\kappa_{H_2O}\tau_{Laser}}$	m	thermische Diffusionslänge
t	s	Zeit
t_{Nuk}	s	Zeitpunkt der Blasennukleation bezogen auf den Zeitpunkt des 1/2 Pulsenergieeintrags
t_{Photo}^B	s	Zeitpunkt der Photographie bezogen auf den Zeitpunkt der Blasennukleation
t_{Photo}^E	s	Zeitpunkt der Photographie bezogen auf den Zeitpunkt des 1/2 Pulsenergieeintrags

Γ		Grüneisen-Parameter
α	K^{-1}	linearer Wärmeausdehnungskoeffizient
β	K^{-1}	volumetrischer Wärmeausdehnungskoeffizient
θ	$^{\circ}$	Kontaktwinkel
$\theta_{Laser} \approx 0.6\tau_{Laser}$	s	Dauer eines gaußförmigen Laserpulses (halbe e^{-2} Breite)
$\kappa = K/\rho c_p$	$m^2 s^{-1}$	Wärmediffusivität
λ	m	Wellenlänge des Lichts
μ	$Pa s$	Viskosität
μ_{abs}	m^{-1}	Absorptionskoeffizient
$\nu = c/\lambda$	s^{-1}	Frequenz des Lichts
ρ	$kg m^{-3}$	Dichte
ρ_v	$kg m^{-3}$	Dampfdichte in einer Blase
σ	$N m^{-1}$	Oberflächenspannung
$\sigma_{abs}, \sigma_{sca}, \sigma_{ext}$	m^2	Wirkungsquerschnitt für Absorption, Streuung, Extinktion
τ_{Laser}	s	Laserpulsdauer (FWHM)
τ_{Blase}	s	Blasenlebensdauer
$\tau_{Kollaps}$	s	Dauer des Blasenkollaps
$\tau_T = R^2/4\kappa$	s	Thermalisierungszeit einer Kugel
$\tau_T^{H_2O} = R^2/4\kappa_{H_2O}$	s	thermische Einschlußzeit einer Kugel in H_2O
$\tau_p = 2R/c_l$	s	akustische Einschlußzeit einer Kugel
ω	m	Gaußscher Strahlradius

Kapitel 1

Einleitung

Laserlicht wird seit der Erfindung des Lasers für medizinische Zwecke verwendet. Vom Einsatz des Lasers verspricht man sich eine hohe räumliche Präzision bei der Gewebeablation bzw. -koagulation. Durch gepulste Laserstrahlung können stark absorbierende Zielstrukturen, die sich in schwach absorbierender Umgebung befinden, selektiv erhitzt werden. Dabei wählt man die Laserpulsdauer so kurz, daß während des Pulses kaum Wärme aus der Zielstruktur hinaus diffundiert. Man spricht in diesem Fall von einer Bestrahlung unter thermischem Einschluß. Im Anschluß an den Laserpuls verteilt sich die deponierte Energie aufgrund von Wärmeleitung in die Umgebung, so daß im räumlichen und zeitlichen Mittel meist nur eine vernachlässigbare Temperaturerhöhung aus der Laserbestrahlung resultiert. Dieses Prinzip zur räumlichen Begrenzung der laserinduzierten Effekte nennt man selektive Photothermolyse [13]. Bei diesem Verfahren kann die Laserstrahlung großflächig appliziert werden, ohne die räumliche Präzision zu verlieren, die hauptsächlich durch die Größe der absorbierenden Zielstruktur vorgegeben ist.

Die Zielstruktur im Gewebe kann dabei rein thermisch durch eine Denaturierung von Enzymen und Proteinen geschädigt werden (thermische Koagulation). Häufiger wird aber in der absorbierenden Struktur, die sich meist in wasserhaltiger zellulärer Umgebung befindet, die Phasenübergangstemperatur überschritten, so daß es zu Verdampfungsprozessen und damit zur transienten Blasenbildung kommt. Deshalb beobachtet man bei der selektiven Photothermolyse oft unerwünschte, durch Blasen verursachte Schädigungen, die über die absorbierende, oft nur wenige Mikrometer große Zielstruktur hinausgehen. Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind nur wenige experimentelle Untersuchungen der Nukleationsbedingungen an lasererhitzten Mikroabsorbern in wässriger Umgebung bei typischen Heizraten, die in der Größenordnung von $10^8 K/s$ bis $10^{10} K/s$ liegen, publiziert worden. In Modellen hierzu werden beispielsweise Temperaturen für eine Blasen-nukleation an der Grenzfläche des Absorbers angenommen, die von der Gleichgewichtsverdampfungs-temperatur des umgebenden Wassers ($100^\circ C$ [95]) über die Spinodale ($\approx 309^\circ C$ [189]) bis hin zur kritischen Temperatur ($\approx 374^\circ C$ [75]) rei-

chen. Zur Klärung der Nukleationstemperaturen sollen die Experimente dieser Arbeit einen Beitrag leisten.

Ebenso ist die Blasendynamik um einzelne lasererhitzte Mikroabsorber bisher noch nicht systematisch untersucht worden. Insbesondere die maximale Blasengröße könnte als Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe dienen. Modelle können aufgrund der bislang unbekanntenen Nukleationsbedingungen keine zuverlässigen Vorhersagen für die Blasendynamik liefern. Die experimentelle Untersuchung der Blasennukleation und -dynamik an absorbierenden Mikropartikeln bildet deshalb einen wesentlichen Bestandteil dieser Arbeit. Der zum Verständnis der Experimente erforderliche physikalische Hintergrund wird in Kap. 3 dargelegt: Es werden Modelle zur Lichtabsorption in Mikroabsorbern, zur Berechnung der Wärmeleitung bzw. thermoelastischen Druckentstehung um erhitzte Partikel sowie zu Nukleationsmechanismen vorgestellt. Es wird auch auf bereits vorhandene Modelle zur Blasendynamik eingegangen.

Die zur Untersuchung der Blasendynamik verwendeten Methoden werden in Kap. 4 erläutert. Als Mikroabsorber werden in den Experimenten neben Gold- und magnetischen Silikatpartikeln, die in zahlreichen biomedizinischen Verfahren (vgl. Kap. 2) Verwendung finden, auch Melanosomen benutzt, die als Pigmente des retinalen Pigmentepithels (RPE) die absorbierende Zielstruktur bei der weiter unten beschriebenen Selektiven Retina-Therapie (SRT) darstellen. Mittels Kurzzeit-Mikrophotographie wird die Blasengröße um isolierte Partikel bestimmt und mit einem optischen Verfahren, das auf der Messung des zeitlichen Verlaufs der Transmission der Strahlung eines Abfragelasers beruht, wird die Blasenlebensdauer ermittelt. Zusätzlich wird die Bewegung der reflektierenden Blasenrenzfläche interferometrisch gemessen. Somit ergibt sich ein vollständiges Bild der Blasendynamik.

Die experimentellen Ergebnisse zur Blasenbildung und -dynamik an isolierten Mikroabsorbern werden in Kap. 5 vorgestellt. Neben der Blasengröße in Abhängigkeit von der Bestrahlung und der Laserpulsdauer, die im Bereich von wenigen Nanosekunden bis zu wenigen Mikrosekunden liegt, liefern die Experimente zur Blasenbildung mit der zugehörigen thermischen Modellierung Erkenntnisse über die Partikelabsorption der Melanosomen. Außerdem wird die zur Blasennukleation notwendige Temperatur ermittelt, die – je nach Partikeltyp – weit oberhalb der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur der wässrigen Umgebung von 100°C liegen kann. Die Nukleationstemperaturen werden mit denen, die mit Hilfe der homogenen, der heterogenen und der inhomogenen Nukleationstheorie berechnet wurden, verglichen, um die bei der Nukleation in Frage kommenden Mechanismen zu identifizieren. Anhand der gemessenen Blasendynamik wird ein qualitatives Blasenmodell entwickelt.

Das Prinzip der selektiven Photothermolyse wird in der Lasermedizin bereits zur selektiven Gewebeschädigung ausgenutzt und beispielsweise zur Entfernung von Haaren, Tätowierungen oder vaskulärer Strukturen wie Besenreiser und Feurmale eingesetzt. Ein weiteres Verfahren, bei dem die Prinzipien der selektiven

Photothermolyse zur Anwendung kommen, ist die an der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH entwickelte Selektive Retina-Therapie (SRT) [201, 196], die in Kap. 2 beschrieben wird. Behandlungsziel bei der SRT ist es, mit Laserpulsdauern von wenigen Mikrosekunden eine Schädigung des retinalen Pigmentepithels (RPE), einer monozellulären Schicht am Augenhintergrund, zu erreichen, ohne die direkt benachbarten, für den Sehvorgang benötigten Photorezeptoren zu beeinträchtigen. Deshalb ist bei dieser Behandlungsmethode eine Präzision der Gewebeschädigung auf zellulärer Ebene notwendig. Die bisherigen Untersuchungen zur SRT zeigen, daß die therapeutisch erwünschte selektive Schädigung des RPE höchstwahrscheinlich durch Bildung mikroskopischer transienter Verdampfungsblasen an den etwa einen Mikrometer großen Pigmentpartikeln (Melanosomen) des RPE hervorgerufen wird [207]. Die Dynamik dieser Blasen im RPE und insbesondere ihre Ausdehnung sind bislang unbekannt. Laserinduzierte Blasen, die an einzelnen Melanosomen nukleieren, können im RPE zusammenwachsen. Deshalb unterscheidet sich die Blasendynamik im RPE vermutlich von der um isolierte Mikroabsorber. Um die Präzision der laserinduzierten Effekte auf mikroskopischer Skala in Abhängigkeit von den bei der SRT verwendeten Laserparametern abzuschätzen, wird in der vorliegenden Arbeit die Blasenbildung in RPE-Explantaten im Hinblick auf eine Optimierung der verwendeten Laserpulsdauer untersucht.

Bei der SRT kann der behandelnde Arzt aufgrund des minimalinvasiven Ansatzes zur Zeit nur mit Hilfe einer aufwendigen Fluoreszenzangiographie *nach* der Behandlung erkennen, ob die applizierte Laserpulsenergie adäquat dosiert war. Wäre es prinzipiell möglich eine thermomechanische Zellschädigung im RPE aufgrund von Blasenbildung *während* der Behandlung nachzuweisen, könnte ein solches Verfahren für eine Dosimetriekontrolle in Frage kommen. Auf diese Weise könnten eine Bestrahlung unterhalb der Schädigungsschwelle für das RPE, die keinen therapeutischen Nutzen hat, sowie eine Schädigung der Photorezeptoren durch eine zu hohe Bestrahlung, die bei etwa der doppelten Schwellenwert-Bestrahlung für eine selektive RPE-Schädigung auftritt [64], vermieden werden. Ein weiteres, hinsichtlich der klinischen Anwendbarkeit der SRT wesentliches Ziel dieser Arbeit ist deshalb die Untersuchung der prinzipiellen Eignung eines optischen Verfahrens zur berührungslosen Detektion der laserinduzierten Mikroblasen im RPE.

In Kap. 6 wird die Blasenbildung an RPE-Explantaten, die als Modellsystem dienen, mit Hilfe interferometrischer und optoakustischer Verfahren untersucht. Die Zellschädigung im RPE, die durch Vitalitäts-Assays nachweisbar ist, wird mit interferometrischen Messungen korreliert, um die Eignung des interferometrischen Verfahrens für eine berührungslose, *während* der Behandlung einsetzbare Dosimetriekontrolle für die SRT zu evaluieren. Zusätzlich erlauben die interferometrischen und optoakustischen Messungen eine Bestimmung der Blasendynamik im RPE in Abhängigkeit von den verwendeten Bestrahlungsparametern, was zur Optimierung der bei der SRT verwendeten Laserpulsdauer dienen kann.

In Kap. 7 werden abschließend die Folgerungen aus den experimentellen Un-

tersuchungen der vorliegenden Arbeit für die SRT und andere in Kap. 2 zur Motivation genannten Verfahren dargestellt.

Kapitel 2

Motivation

Untersuchungen zu mikroskopischen Verdampfungsvorgängen an transient erhitzten Oberflächen bilden einen zentralen Bestandteil dieser Arbeit. Daher werden in diesem Kapitel Verfahren vorgestellt, für deren tieferes Verständnis Kenntnisse über diese Art von Verdampfungsvorgängen eine Rolle spielen. Insbesondere wird dabei auf Verfahren eingegangen, die auf laserinduzierter Blasenbildung in Partikelsuspensionen beruhen. Zunächst werden biomedizinische Verfahren beschrieben, da diese Themengebiete an der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH bearbeitet werden. Im Anschluß werden weitere Anwendungen aus dem nicht-medizinischen Bereich vorgestellt.

2.1 Biomedizinische Anwendungen

Für viele in der Medizin angewandte Verfahren ist eine hohe räumliche Präzision erforderlich. Zur Realisierung dieses Ziels werden zwei unterschiedliche Strategien verfolgt:

Gewebestrukturen können durch fokussierte Laserstrahlung geschädigt werden. Die Präzision, die durch fokussierte Laserstrahlung erreicht werden kann, wird dabei durch den beugungsbegrenzten Fokusbereich des Lichts vorgegeben, der im sichtbaren Wellenlängenbereich bei großer numerischer Apertur etwa die Größe einer Lichtwellenlänge (im sichtbaren Wellenlängenbereich $\approx 500nm$) besitzt. Häufig wird der Schadensradius durch Plasmabildung, explosive Verdampfungsprozesse, starke akustische Transienten oder Wärmeleitung in die Umgebung noch vergrößert [256, 250, 176]. Durch nichtlineare Absorptionsprozesse können auch laserinduzierte Effekte erzeugt werden, die etwas unterhalb des beugungsbegrenzten Fokusbereichs liegen [124]. Das durch einen optischen Durchbruch (Plasmabildung) vermittelte Verfahren ist besonders für die Erzeugung lokalisierter laserinduzierter Effekte in transparenten Strukturen geeignet und wird daher beispielsweise zur intraokulären Mikrochirurgie eingesetzt [255, 251]. Ein weiteres Anwendungsgebiet ist die Zellchirurgie [124], die meist in

Verbindung mit einem Mikroskop in der Forschung eingesetzt wird. Der Vorteil der Gewebeschädigung mit fokussierter Laserstrahlung liegt in der Anwendbarkeit an beliebigen Orten. Ein Nachteil hierbei kann sein, daß die zu schädigende Struktur zunächst vom Anwender lokalisiert werden muß, um dann den Laserstrahl auf sie zu lenken.

Bei geeigneten Voraussetzungen kann man mit der selektive Photothermolyse [13, 10] diese Problematik umgehen und trotz großflächiger Bestrahlung präzise Lasereffekte bewirken. Hierfür ist es notwendig, daß die Zielstruktur stark absorbiert und sich in einer schwach absorbierenden Umgebung befindet. Die verwendete Laserwellenlänge wird dabei idealerweise so gewählt, daß die Absorptionsunterschiede zwischen der Zielstruktur und ihrer Umgebung maximal werden. Wählt man nun die Laserpulslänge für die Bestrahlung so, daß während des Pulses kaum Wärme aus dem Absorber in die Umgebung diffundiert, werden nur lokal innerhalb des Absorbers hohe Temperaturen erreicht. Es liegt also bei der Bestrahlung ein thermischer Einschluß vor. Diese Temperaturerhöhungen führen entweder direkt zu einer thermischen Gewebeschädigung oder indirekt zu einer lokalen thermomechanischen Schädigung durch Blasenbildung um den Absorber [13], falls die für einen Phasenübergang notwendige Temperatur erreicht wird. Die Präzision der laserinduzierten Effekte ist bei der selektiven Photothermolyse also nicht durch die Fokussierbarkeit des Lasers, sondern durch die Größe der absorbierenden Struktur vorgegeben. Unter Zuhilfenahme von Nanoabsorbern sollte sich sogar eine Präzision im Nanometerbereich erreichen lassen, so daß eine gezielte Beeinflussung subzellulärer Strukturen denkbar ist [103]. Allerdings können sekundäre Effekte wie die Bildung von Verdampfungsblasen zu einer unerwünschten Vergrößerung des Ausmaßes der Gewebeschädigung führen. Deshalb bildet die Untersuchung der Blasendynamik um Mikroabsorber einen zentralen Bestandteil dieser Arbeit.

Mit der selektiven Photothermolyse lassen sich durch großflächige Bestrahlung eine Vielzahl präziser, selektiver Lasereffekte gleichzeitig erreichen, was im Vergleich zum Einsatz fokussierter Laserstrahlung die Effizienz der Behandlungsdurchführung erhöht und dadurch einen klinischen Einsatz erleichtert. Das Verfahren der selektiven Photothermolyse wird klinisch zur Zeit hauptsächlich zur Haarentfernung [203] sowie zur Beseitigung von Tätowierungen [83] und vaskulärer Strukturen wie Feuermale und Besenreiser [181] eingesetzt. Während beispielsweise bei der Verödung vaskulärer Strukturen die erforderliche Präzision im Bereich von $50\mu\text{m}$ bis 1mm [181, 58] liegt und eine partielle Schädigung der benachbarten Strukturen tolerabel ist, befinden sich Behandlungsmethoden wie die im nächsten Abschnitt vorgestellte Selektive Retina-Therapie (SRT) in der Entwicklung, bei der eine erfolgreiche Behandlung eine Präzision der Lasereffekte auf zellulärer Ebene voraussetzt.

2.1.1 Selektive Retina-Therapie (SRT)

Die Selektive Retina-Therapie (SRT) [221, 202, 201, 198, 197, 199, 196] ist ein neuartiges, an der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH entwickeltes Verfahren zur Behandlung diverser Erkrankungen des Augenhintergrundes, die sich auf pathologische Veränderungen am retinalen Pigmentepithel (RPE) zurückführen lassen. Die SRT, deren therapeutischer Nutzen zur Zeit in einer klinischen Multicenter-Studie evaluiert wird [38], besitzt das Potential, die konventionelle Photokoagulation in vielen Fällen zu ersetzen. Im folgenden Unterabschnitt wird zunächst auf die Anatomie des Auges eingegangen, um dann das Therapiekonzept der SRT zu erläutern. Im Anschluß werden die dem Verfahren innewohnenden Schwierigkeiten hinsichtlich der Dosimetrie für die Laserbestrahlung dargelegt, zu deren Lösung diese Arbeit beitragen soll.

Anatomie des Auges

Licht, welches durch die Pupille fällt, wird optisch auf die Netzhaut (Retina) am Augenhintergrund abgebildet (Abb. 2.1). Die Retina (Abb. 2.2) besteht aus drei hintereinander geschalteten Zellschichten von Neuronen: den Photorezeptoren, den Bipolarzellen und den Ganglienzellen. In den Photorezeptoren wird das einfallende Licht in Nervenimpulse umgewandelt und über die Bipolar- und Ganglienzellen an den Sehnerv und das Gehirn geleitet. Bei den Photorezeptoren unterscheidet man zwischen Stäbchen und Zapfen. Letztere befinden sich hauptsächlich am Fleck des schärfsten Sehens (Fovea). Während die Zapfen für das Farbsehen (bei Tage) zuständig sind, sind die Stäbchen für das Dämmerungssehen und die Wahrnehmung von Bewegungen in der Peripherie verantwortlich [86]. Unterhalb der Photorezeptoren befindet sich das retinale Pigmentepithel (RPE), eine monozelluläre Schicht mit einer Dicke von etwa $10\mu m$ (Abb. 2.2 und 2.3). Das RPE hat mehrere wichtige Aufgaben: Eine Aufgabe liegt im Transport von Nährstoffen aus der stark durchbluteten Aderhaut (Chorioidea) zu den Photorezeptoren und der Aufnahme (Phagozytose) von Stoffwechselabbauprodukten der Photorezeptoren. Die Außensegmente der Photorezeptoren tauchen in die Ausstülpungen (Mikrovilli) der RPE-Zellen ein, um die gemeinsame Grenzfläche zu vergrößern [31]. Das RPE, welches anatomisch die Begrenzung der Retina darstellt, bildet außerdem zusammen mit der Bruchschens Membran, der obersten Schicht der benachbarten Aderhaut (Chorioidea), die Blut-Retina-Schranke zum darunter liegenden stark durchbluteten Bereich der Aderhaut (Choriokapillaris, Abb. 2.3). Das RPE ist stark pigmentiert, was dazu führt, daß es nur einen geringen Anteil des Lichts, das durch die Photorezeptoren transmittiert wird, passieren läßt. Auf diese Weise wird der Sehvorgang kaum durch störendes Streulicht aus dem RPE und der Chorioidea beeinflusst. Pathologische Veränderungen des RPE können daher auf vielfältige Weise zu einer Beeinträchtigung der Sehfähigkeit führen.

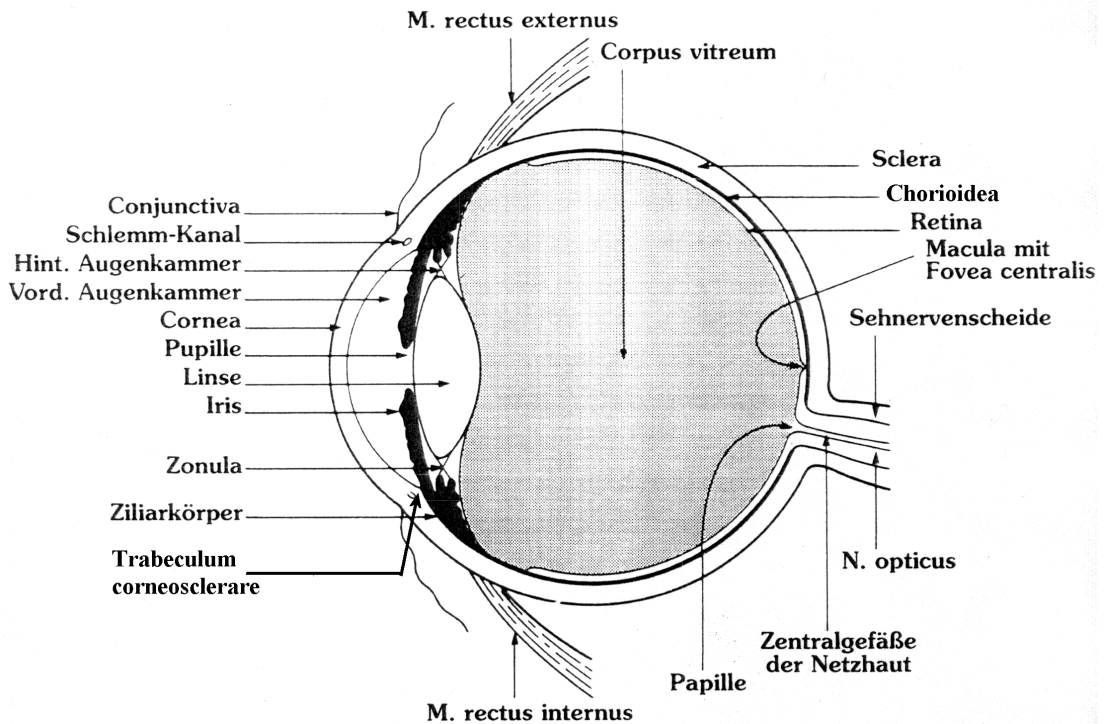


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des menschlichen Auges.

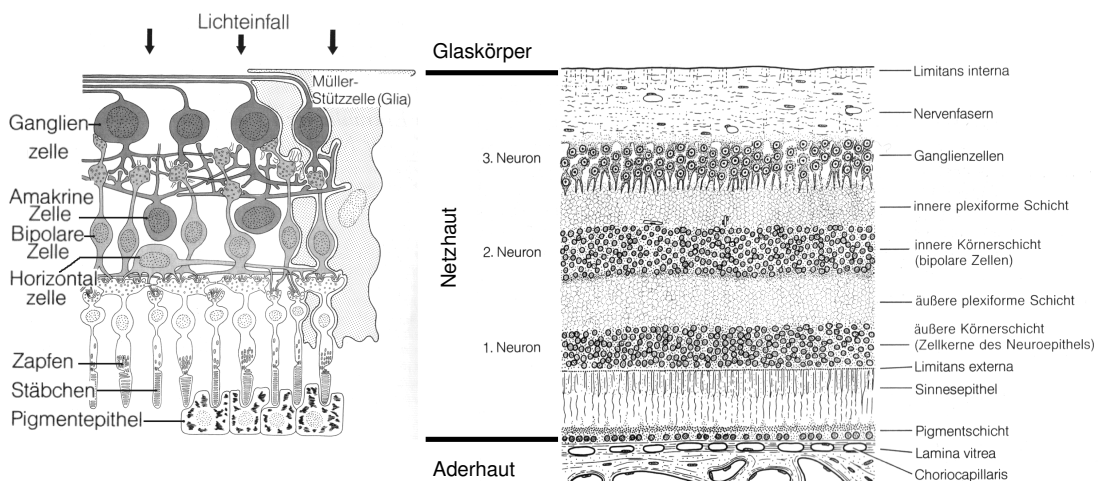


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung (links) und Zeichnung eines histologischen Schnitts durch die Retina (rechts) nach Leydhecker [140].

Das RPE weist im grünen Spektralbereich eine Absorption von etwa 50-60% auf [72], während in der darüberliegenden neuronalen Retina nur wenige Prozent des einfallenden Lichts absorbiert werden. Die Hauptchromophore des RPE sind

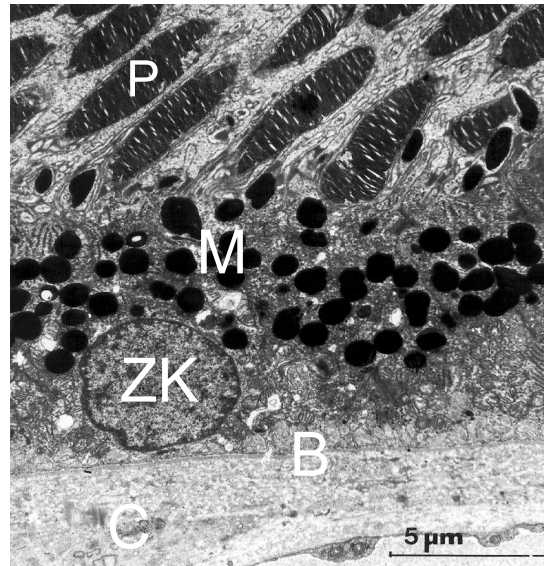


Abbildung 2.3: Die elektronenmikroskopische Aufnahme eines Gewebeschnittes durch das RPE eines Menschen zeigt die Außensegmente der Photorezeptoren (P), Melanosomen (M), den Zellkern einer RPE-Zelle (ZK), die Bruchsche Membran (B) und die Choriokapillaris (C) [71].

die sogenannten Melanosomen, deren Hauptbestandteil das organische Polymer Melanin ist [91]. Melanin besitzt ein breitbandiges Absorptionsspektrum, das im sichtbaren Bereich mit zunehmender Wellenlänge monoton abfällt [263, 35]. Eine RPE-Zelle (der Rhesusaffen *Macaca mulatta*) enthält etwa 100 Melanosomen [241]. Ihr Durchmesser beträgt etwa $1\mu\text{m}$ [241]. Die Entwicklung der Melanosomen durchläuft mehrere Stadien: Sie sind zunächst farblose Organellen, die entlang einer lamellenartigen Struktur durch enzymatische Umwandlung melanisiert werden [31]. Beim Menschen sind die Melanosomen im Alter von zwei Jahren meist vollständig melanisiert [31].

Therapiekonzept der SRT

Viele retinale Erkrankungen werden konventionell mit Hilfe einer Photokoagulation behandelt [86, 140]. Dabei werden kleine Bereiche der Retina, die je nach Krankheitsbild einen Durchmesser von $50\mu\text{m}$ bis $500\mu\text{m}$ besitzen, für etwa 100 – 200ms mit einem Laser im sichtbaren Wellenlängenbereich bestrahlt [173, 249]. Bei Verwendung eines Argon-Lasers ($\lambda = 514\text{nm}$) erreicht man typische Intensitäten von mehreren hundert Watt pro Quadratzentimeter auf der Retina [173].

Die Lichtabsorption findet größtenteils in den Melanosomen des RPE statt, so daß sich diese stark erhitzen. Aufgrund von Wärmeleitung während der Bestrahlung wird auch das umliegende Gewebe erwärmt und thermisch denaturiert [25]. Insbesondere werden die direkt an das RPE angrenzenden Photorezeptoren irreversibel geschädigt, was sich durch eine Weißfärbung der bestrahlten Bereiche bemerkbar macht (Abb. 2.4). Die Ursache für die in klinischen Studien festgestellten positiven therapeutischen Effekte der Photokoagulation ist in der biologischen Reaktion auf die laserinduzierte Schädigung zu suchen und noch nicht vollständig aufgeklärt [262, 49, 173]. Da das koagulierte Areal einschließlich der Photorezeptoren durch unspezifisches Narbengewebe ersetzt wird, besitzt die Photokoagulation den Nachteil, daß sie trotz ihrer insgesamt positiven therapeutischen Wirkung zu irreversiblen Gesichtsfeldausfällen (Skotomen) in den bestrahlten Bereichen führt. Aus diesem Grunde kann nahe der Fovea, die für das scharfe Sehen verantwortlich ist, nicht behandelt werden, da in diesem Bereich zusätzliche Skotome, die durch eine Photokoagulation verursacht werden, nicht tolerabel sind.

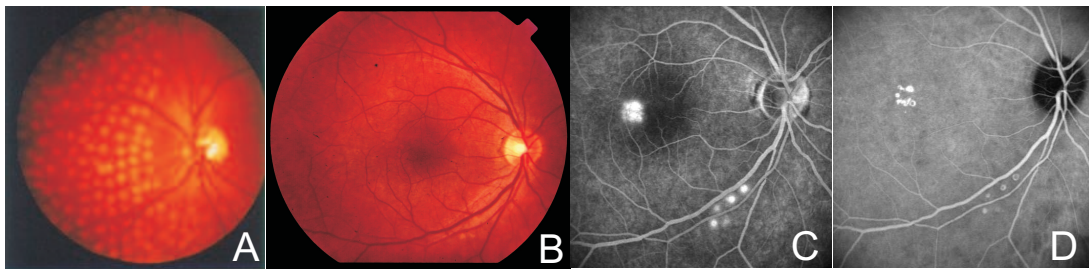


Abbildung 2.4: Das Fundusbild nach konventioneller Photokoagulation (A) zeigt eine Weißfärbung der Laserherde. Nach der SRT sind im Fundusbild (B) keine Laserherde zu erkennen. Diese können nur mit Hilfe von Fluorescein- (C) oder ICG-Angiogrammen (D) sichtbar gemacht werden (aus [207]).

Konzeptionell geht man davon aus, daß für einige Krankheitsbilder, die standardmäßig mit der Photokoagulation behandelt werden, eine selektive Schädigung des RPE hinreichend ist, um den gewünschten positiven therapeutischen Effekt zu erzielen [49, 221, 201, 195]. Bei der selektiven RPE-Therapie bestrahlt man den Augenhintergrund anstatt mit Pulsdauern von 100 – 200ms mit Mikrosekundenpulsen im grünen Spektralbereich, so daß man aufgrund des Prinzips der selektiven Photothermolyse eine selektive Schädigung des stark absorbierenden RPE erwarten kann. Dadurch soll eine Regeneration des geschädigten RPE-Bereiches und des benachbarten RPE stimuliert werden, in der Hoffnung, daß diese regenerierten Zellen die physiologische Funktion der RPE-Zellen wieder erfüllen können. Der Vorteil der SRT gegenüber der konventionellen Photokoagulation liegt somit in der Schonung der Photorezeptoren und der damit verbundenen Vermeidung von Skotomen. Deshalb sind im Gegensatz zur Photokoagulation bei der SRT Mehrfachbehandlungen am gleichen Ort durchführbar. Zudem wird auch

eine Behandlung in Bereichen nahe der Fovea möglich. Diese Areale sind mit der konventionellen Photokoagulation wegen der Skotombildung nicht zugänglich.

Mit der Selektiven Retina-Therapie (SRT) werden zur Zeit im Rahmen einer klinischen Pilotstudie [198, 197, 196] und einer klinischen Multicenter-Studie [65, 174, 122, 186] diverse retinale Krankheitsbilder behandelt, die mit einer Dysfunktion des RPE in Verbindung gebracht werden [195]. Bei diesen Krankheitsbildern handelt es sich um die Drusenmakulopathie als Vorstufe der trockenen Form der altersbedingten Makuladegeneration und der Retinopathia Centralis Serosa. Zusätzlich werden die diabetische Retinopathie bzw. Makulopathie behandelt. Auf diese Krankheitsbilder wird im Rahmen dieser Arbeit nicht näher eingegangen. Sie sind in Lehrbüchern zur Augenheilkunde ausführlich dargestellt [86, 140].

Das Konzept der SRT wurde in mehreren Studien verifiziert: In einer Tierstudie am Kaninchen konnte eine selektive Zerstörung und anschließende Regeneration des RPE anhand von Histologien nachgewiesen werden [201, 195]. In einer klinischen Pilotstudie zeigte sich ein positiver therapeutischer Effekt [199, 197]. Zudem konnten keine Skotome infolge der SRT nachgewiesen werden [198]. Klinisch erfolgt die Laserbestrahlung bei der SRT zur Zeit mit einem Pulszug, der aus 30 Einzelpulsen mit einer Pulsdauer von jeweils $1.7\mu s$ bei einer Wiederholfrequenz von $100Hz$ besteht. Die Wellenlänge des Lasers liegt bei $527nm$. In der Regel liegen die pro Einzelpuls verwendeten retinalen Bestrahlungswerte im Bereich von $450-800mJ/cm^2$ [38]. Der retinale Bestrahlungsfleckdurchmesser beträgt $176\mu m$. Die therapeutisch beabsichtigte RPE-Schädigung ist ophthalmoskopisch nicht sichtbar und kann mit Hilfe einer Fluoreszenzangiographie (FLA) nachgewiesen werden (Abb. 2.4). Dazu wird dem Patienten ein fluoreszierender Farbstoff, Fluorescein-Natrium oder Indocyanin-Grün (ICG), in die Blutbahn injiziert. Der Farbstoff kann dort, wo RPE-Defekte vorliegen, die Blut-Retina-Schranke passieren und im Fundus aufgrund seiner Fluoreszenz nachgewiesen werden [86].

Zusätzlich zu dem Ansatz, eine selektive Schädigung des RPE mit gepulster Laserstrahlung zu erzielen, existiert auch ein Verfahren, bei dem ein kontinuierlich emittierender Laser schnell über die Netzhaut gescannt wird, so daß sich für die bestrahlten Areale im RPE ebenfalls Expositionszeiten im Bereich von einigen Mikrosekunden ergeben [37, 8, 9].

Vorstellungen zum Wirkmechanismus der SRT

Ursprünglich wurde bei der SRT eine rein thermische Schädigung des RPE postuliert [201]. Um Disruptionseffekte und subretinale Blutungen, wie sie bei Bestrahlungen des Augenhintergrundes nahe der ophthalmoskopisch sichtbaren Schwelle (Weißfärbung der Retina) mit Pulsdauern von wenigen Nanosekunden beobachtet wurden [153, 30], möglichst zu vermeiden, wurden Mikrosekundenpulse verwendet, die immer noch eine selektive Erwärmung des absorbierenden RPE –

also eine Bestrahlung unter thermischen Einschlußbedingungen – gewährleisten. Eine Verringerung der Bestrahlungsschwelle (pro Puls) für eine selektive RPE Schädigung sollte durch die Verwendung von Mehrfachpulsen erzielt werden, da rein thermische Schädigungen, die oftmals mit der Arrhenius-Theorie beschrieben werden können, eine Additivität aufweisen [25]. Um ein Ansteigen der mittleren Temperatur im RPE und in den Photorezeptoren aufgrund von nicht vollständiger Abkühlung zwischen aufeinanderfolgenden Pulsen und somit einen Verlust der Selektivität zu verhindern, wurde eine Pulswiederholfrequenz von 100Hz gewählt [208, 207]. Bei dieser Frequenz ist es möglich, 30 aufeinanderfolgende Pulse am selben Ort während einer Dauer von 300ms zu applizieren. Für eine solche Zeitspanne spielen unwillkürliche Bewegungen des Patientenauges, wodurch der Bestrahlungsort geändert werden könnte, eine vernachlässigbare Rolle.

Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, daß die wahrscheinlichste Ursache für die therapeutisch beabsichtigte RPE-Schädigung die Bildung von Mikroblasen um die stark absorbierenden Melanosomen ist: Für Bestrahlungspulsdauern von wenigen Nanosekunden wurde an Zellen, die nur wenige Melanosomen enthielten, in vitro mit Hilfe der Kurzzeitphotographie die transiente, intrazelluläre Blasenbildung als Ursache für den Zelltod nachgewiesen [144]. Bei der Bestrahlung einer einzelnen Zelle in einem ex vivo RPE-Modell mit einem frequenzverdoppelten Nd:YAG Laser ($\lambda = 532\text{nm}$) fiel die anhand des rückgestreuten Bestrahlungslichts detektierte Blasenbildungsschwelle bis zu einer Pulsdauer von $20\mu\text{s}$ mit der Bestrahlungsschwelle für den Zelltod zusammen [9]. Die Bestrahlungsschwelle¹, bei der 50% der bestrahlten Zellen zugrunde gingen, lag für eine Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 20\mu\text{s}$ bei $ED_{50} = 350\text{mJ}/\text{cm}^2$. Bei einer Pulsdauer von $50\mu\text{s}$ war die mittlere zur Blasenbildung erforderliche Bestrahlung von $550\text{mJ}/\text{cm}^2$ hingegen signifikant höher als die für eine Zellschädigung benötigte Bestrahlung von $ED_{50} = 450\text{mJ}/\text{cm}^2$, was auf einen thermischen Schadensmechanismus hinweist. Es kann also davon ausgegangen werden, daß bei einer Pulsdauer von bis zu $20\mu\text{s}$ Verdampfungsblasen an der Zellschädigung im RPE beteiligt sind.

In der klinischen Pilotstudie zur SRT, bei der eine Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 1.7\mu\text{s}$ verwendet wird, stimmt die mittels Fluoreszenzangiographie (FLA, vgl. S. 11 und Abb. 2.4) detektierte Beschädigung der Blut-Retina-Schranke, gut mit dem Auftreten von transienten Verdampfungsblasen überein [207]. In diesem Fall wurden die Blasen nicht direkt beobachtet, sondern es wurden die akustischen Transienten infolge der Blasenbildung detektiert.

Zusätzlich wurde sowohl in vivo als auch ex vivo festgestellt, daß bei repetierender Bestrahlung mit Wiederholfrequenzen, deren mittlere Leistung eine vernachlässigbar geringe mittlere Temperaturerhöhung bewirkt, bei Pulsdauern von wenigen Mikrosekunden die Bestrahlungsschwelle für Zellschädigung mit steigender applizierter Pulsanzahl sinkt [195, 36, 70, 194]. Dieser Sachverhalt kann sowohl als Folge eines statistischen Prozesses, bei dem sich die Blasenbildungswahr-

¹effektive Dosis ED , vgl. Anhang A.5

scheinlichkeit pro Pulszug mit der während des Pulszuges applizierten Pulsanzahl erhöht [194], als auch als thermischer Schädigungseffekt, der eine Additivität aufweist, interpretiert werden [195, 36].

Zusammenfassend ist also bei der SRT eine primär durch Blasenbildung verursachte thermomechanische Zellschädigung sehr wahrscheinlich. Jedoch kann eine zusätzliche thermische Zellschädigung nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Wahl der Laserpulsdauer für die SRT

Ziel bei der SRT ist es, eine RPE-Schädigung zu erreichen, ohne die benachbarten Photorezeptoren und die Bruchsche Membran zu beschädigen (vgl. Abb. 2.1, 2.2 und 2.3). Dabei soll die Pulsdauer möglichst so gewählt werden, daß ein besonders großes therapeutisches Fenster TF erzielt wird. Das therapeutische Fenster ergibt sich aus dem Verhältnis der Bestrahlungsschwelle für eine nicht erwünschte irreversible Schädigung der Photorezeptorzellen zur Bestrahlungsschwelle für die therapeutisch beabsichtigte selektive RPE-Schädigung.

Die bislang für die SRT verwendeten Laserparameter wurden unter Annahme eines rein thermischen Schadensmechanismus gewählt [201, 195]. Da der SRT jedoch wahrscheinlich eine thermomechanische Schädigung des RPE zugrunde liegt, ist die optimale Laserpulsdauer, die zu einem möglichst großem therapeutischen Fenster führt, weitgehend unbekannt [142]. Deshalb wird in der vorliegenden Arbeit die Blasendynamik sowohl um einzelne Melanosomen als auch im RPE untersucht. Anhand der Abhängigkeit der maximalen Blasengröße, die als Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe dient [252, 255, 250], soll die für die SRT verwendete Laserpulsdauer optimiert werden.

Bisherige Untersuchungen zur Schadensreichweite bei der SRT stützen sich in den meisten Fällen auf Histologien, in denen die geschädigten Zellen direkt beobachtet werden können. Da Histologien *in vivo* für eine Dosimetriekontrolle nicht in Frage kommen, stützt man sich häufig auf Fundusbeobachtungen:

In vivo läßt sich ein therapeutisch erwünschter laserinduzierter RPE-Defekt, der mit einer Aufhebung der Blut-Retina-Schranke verbunden ist, zuverlässig mit Hilfe einer Fluoreszenzangiographie (vgl. S. 11 und Abb. 2.4 B-D) detektieren. Eine Fluoreszenzangiographie kann jedoch immer nur nach und nicht während der Behandlung durchgeführt werden.

Mit zunehmender Bestrahlung zeigt sich auch bei Verwendung gepulster Laserstrahlung eine Weißfärbung im Fundusbild (vergleichbar mit Abb. 2.4 A). An dieser ophthalmoskopisch sichtbaren Schwelle hat mit Sicherheit eine bei der SRT nicht erwünschte Schädigung der Photorezeptoren stattgefunden. Anhand von Histologien kann nachgewiesen werden, daß schon bei Bestrahlungen unterhalb der ophthalmoskopisch sichtbaren Schwelle einige Photorezeptorzellen absterben, also irreversible Schäden auftreten [195]. Wie groß das Ausmaß der Photorezeptorschädigung sein muß, um meßbare, permanente Skotome hervorzurufen, ist nicht bekannt.

Bei noch höheren Bestrahlungen kommt es zu subretinalen Blutungen, die meist mit größeren dauerhaften Gesichtsfeldausfällen (Skotomen) verbunden sind. Deshalb sind subretinale Blutungen bei der SRT unbedingt zu vermeiden.

Aus den Histologien bzw. Fundusbeobachtungen, die den Gewebezustand einige Zeit nach der Bestrahlung zeigen, lassen sich keine Aussagen zum Mechanismus der laserinduzierten Schädigung ableiten, so daß die in dieser Arbeit untersuchte Blasendynamik die histologischen Untersuchungen und Fundusbeobachtungen ergänzt.

Zu den für die SRT in Frage kommenden Pulsdauern, die eine Bestrahlung des RPE im thermischen Einschluß und somit eine gewisse Selektivität gewährleisten, gibt es zahlreiche Untersuchungen: Bei einer Retinabestrahlung von Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) in vivo mit Pulsdauern von $15ns$ ($\lambda = 1059nm$) bzw. $40ns$ ($\lambda = 694nm$) traten subretinale Blutungen für Bestrahlungen auf, die nur zwei- bis dreifach oberhalb der ophthalmoskopisch sichtbaren Schwelle für eine Weißfärbung lagen [30]. Wegen dieser Blutungsgefahr sind solch kurze Laserpulse vermutlich nicht für die SRT geeignet [201, 195].

In einer Studie von Roider et al. am Kaninchen nahm das anhand von Histologien bestimmte therapeutische Fenster bei repetierender Bestrahlung (100 Pulse bei $500Hz$) mit Laserpulsdauern von $200ns$ ($\lambda = 532nm$) und $5\mu s$ ($\lambda = 514nm$) einen Wert von etwa $TF \approx 2$ an [195]. Bei einer Einzelpulsdauer von $200ns$ traten nach einer Applikation von 500 Pulsen mit einer Repetitionsrate von $500Hz$ subretinale Blutungen erst bei einer Bestrahlung auf, die 30-fach oberhalb der fluoreszenzangiographischen Schwelle lag [195, 200], so daß die Gefahr von subretinalen Blutungen während der SRT mit dieser Pulslänge als gering einzustufen ist. Für Mikrosekundenpulse konnte aufgrund der begrenzten zur Verfügung stehenden Pulsenergie kein Schwellenwert für subretinale Blutungen bestimmt werden. Jedoch wurde eine Bestrahlung, die ähnlich stark über der angiographischen Schwelle liegt wie bei den $200ns$, erwartet [195].

In einer anderen Tierstudie am Kaninchenmodell (*Chinchilla*) haben Framme et al. das therapeutische Fenster (TF) durch das Verhältnis von ophthalmoskopisch sichtbarer Bestrahlungsschwelle zur fluoreszenzangiographischen Schwelle abgeschätzt [70]. Dabei stimmt die Schwelle für eine RPE-Schädigung, die auch immer eine Beschädigung der Blut-Retina Schranke darstellt, etwa mit der fluoreszenzangiographischen Schwelle überein. Da ein irreversibler Photorezeptorschaden schon bei einer niedrigeren Bestrahlung als bei der ophthalmoskopisch sichtbaren Schwelle auftritt [195], liefert das Verhältnis von ophthalmoskopisch sichtbarer Bestrahlungsschwelle zur fluoreszenzangiographischen Schwelle lediglich eine obere Abschätzung für das therapeutische Fenster. Bei Einzelpulsbestrahlung ($\lambda = 527nm$) mit $200ns$ ($TF \leq 2.9$) ergaben sich nach Framme et al. größere obere Grenzen für das therapeutische Fenster als bei Pulslängen von $1.7\mu s$ ($TF \leq 1.6$). Bei repetierender Bestrahlung mit 100 Pulsen bei $100Hz$ wurde eine obere Grenze für das therapeutische Fenster von $TF \leq 5.9$ bei $200ns$ Pulsen und $TF \leq 2.7$ bei $1.7\mu s$ Pulsen ermittelt.

Eine direkte Übertragbarkeit dieser Tierstudien auf den Menschen ist aufgrund physiologischer Unterschiede zwischen Mensch und Tier nicht vollständig gewährleistet. So sind bei Verwendung typischer SRT-Bestrahlungsparameter ($\lambda = 527nm$, $\tau_{Laser} = 1.7\mu s$, 30 repetierende Pulse bei $100Hz$) die Bestrahlungsschwellenwerte für eine RPE-Schädigung beim Menschen ($ED_{50} \gtrsim 450mJ/cm^2$ [38]) etwa vierfach höher als beim Kaninchen ($ED_{50} \approx 125mJ/cm^2$ [70]). Es wird dennoch aufgrund dieser Studien vermutet, daß Pulsdauern von wenigen Nanosekunden wegen der Gefahr von subretinalen Blutungen (im Affenmodell) nicht für die SRT geeignet sind [201]. Bei längeren Pulsdauern im Bereich $200ns$ und $5\mu s$ traten am Kaninchen erst bei sehr hohen Bestrahlungen Blutungen auf, so daß dieser Pulslängenbereich vermutlich geeigneter für die SRT ist. In der Studie von Roider wurden in den Histologien keine gravierenden Unterschiede hinsichtlich des therapeutischen Fensters zwischen Pulsdauern von $200ns$ und $5\mu s$ festgestellt [195], während die Ergebnisse von Framme et al. [70] darauf hindeuten, daß Pulsdauern von $200ns$ besser geeignet sind als $1.7\mu s$.

Die bislang für die SRT verwendete Pulsdauer von $1.7\mu s$, die unter Annahme eines rein thermischen Schadensmechanismus gewählt wurde [201, 195], wird zur Zeit aufgrund der klinischen Erfahrung, die mit diesem Parameter gewonnen wurde, weiter verwendet. Jedoch sollen die in dieser Arbeit gesammelten Ergebnisse zur Blasendynamik um isolierte Melanosomen und im RPE zur Klärung beitragen, in welcher Weise die Blasendynamik und damit der Schadensradius von den Bestrahlungsparametern abhängt.

Dosimetrieontrolle für die SRT in Echtzeit

Die ophthalmoskopische Unsichtbarkeit der SRT-Läsion am Augenhintergrund erschwert die Dosimetrie für den behandelnden Arzt (vgl. Abb. 2.4). Die für die therapeutisch beabsichtigte RPE-Schädigung notwendige Laserbestrahlung kann aufgrund inter- und intraindividuelle Pigmentierungsunterschiede oder Linsentrübungen bei Katarakt bis zu einem Faktor von etwa 2 schwanken [64], was nach Roider in etwa dem Wert für das histologisch bestimmte therapeutische Fenster in den Tierstudien entspricht [195]. Zugleich darf aber keine Überdosierung der Laserstrahlung, die eine Photorezeptorschädigung beinhaltet, stattfinden. Eine Dosimetrie mittels Fluoreszenzangiographie ist technisch sehr aufwendig [196] und kann nicht während der Behandlung durchgeführt werden, so daß nach wenigen Testexpositionen zur Dosisermittlung eine Behandlungsunterbrechung für eine Fluoreszenzangiographie notwendig sein würde. Aufgrund des gerätetechnischen Aufwands kann eine Fluoreszenzangiographie zudem nur in speziell ausgerüsteten Kliniken durchgeführt werden, was die klinische Verbreitung der SRT stark einschränken würde.

Eine Methodik zur sofortigen Dosimetrieontrolle stellt die Optoakustik dar [207]. Akustische Transienten, die infolge der Laserbestrahlung entstehen, werden mit Hilfe eines in einem Kontaktglas integrierten Schallaufnehmers detektiert.

Das Kontaktglas dient bei der Behandlung zur Kompensation der Brechkraft des Auges. Die akustische Antwort der Laserbestrahlung besteht aus einem thermoelastischen Anteil, der aufgrund der Volumenausdehnung infolge der Erwärmung des Gewebes durch die Lichtabsorption entsteht. Die thermoelastische Antwort besitzt für alle 30 applizierten Pulse die gleiche Form (Abb. 2.5 A). Zusätzlich kann man oberhalb einer gewissen Bestrahlung kleine Abweichungen vom mittleren thermoelastischen Signal beobachten (Abb. 2.5 B), die der Bildung von transienten Verdampfungsblasen zugeschrieben werden [207, 209, 211, 210]. Zur

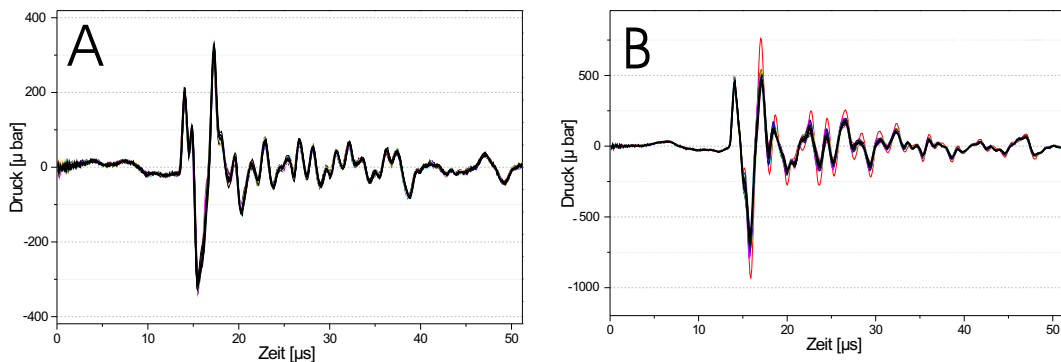


Abbildung 2.5: Überlagerung von 30 optoakustischen Transienten unterhalb (links: $H = 510 \text{ mJ/cm}^2$) und oberhalb (rechts: $H = 740 \text{ mJ/cm}^2$) der angiographischen Schwelle für Zellschädigung nach Schüle [207]. Oberhalb der Bestrahlungsschwelle für Zellschädigung erkennt man zwischen den einzelnen Transienten kleine Abweichungen, die auf transiente Mikroblasen zurückgeführt werden.

Quantifizierung dieser Abweichung für die Dosimetriekontrolle wird für jede akustische Transiente das Zeitintegral der Abweichung der jeweiligen Transiente von der mittleren akustischen Antwort berechnet. Das Maximum dieser Werte wird als optoakustischer Wert definiert und dient als Anhaltspunkt für die Dosimetrie [207]: Nach Applikation des Pulszuges von 30 Pulsen (bei 100 Hz) kann der behandelnde Arzt anhand der Relation von optoakustischem Wert zu Erfahrungswerten, die durch den Vergleich mit der Fluoreszenzangiographie gewonnen wurden, die Pulsenergie für den nächsten Pulszug wählen. Dieses optoakustische Verfahren zur Dosimetriekontrolle in Echtzeit befindet sich zur Zeit in der klinischen Erprobung. Da an unterschiedlichen Bestrahlungsorten nicht dieselbe akustische Signalform gemessen wird (vgl. Abb. 2.5 A und B), müssen für die Berechnung eines optoakustischen Wertes immer die Drucksignale des Pulszuges miteinander verglichen werden. Deshalb kann das optoakustische Verfahren zur Dosimetriekontrolle nur bei repetierender Bestrahlung eingesetzt werden [207]. Ein weiterer Nachteil dieses Verfahrens ist, daß es ein spezielles Kontaktglas erfordert, in das ein Ultraschallabnehmer integriert ist.

Ein anderes Verfahren, das zur Dosimetriekontrolle in Frage kommt, beruht auf der Messung der transienten Reflexionsänderung des bestrahlten Areals am

Augenhintergrund. Dazu wird entweder das zu behandelnde Areal zusätzlich mit einem Abfragelaser geringer Leistung bestrahlt [194, 207] oder man mißt direkt die Reflexionsänderung des mit dem Behandlungslaser eingestrahlt Lichts [8, 9, 207]. Die transiente Reflexionserhöhung wird dabei durch die Bildung von Mikroblasen erklärt, da an der Grenzfläche der mit Wasserdampf gefüllten Blase das Laserlicht des Abfragelasers aufgrund des Brechungsindexunterschieds zur Umgebung stärker reflektiert wird. Dieses berührungslos arbeitende Verfahren wurde bislang nur an RPE-Explantaten vom Schwein erfolgreich erprobt [194, 9, 207].

In dieser Arbeit wird ein weiteres optisches Verfahren für die SRT-Dosimetrie entwickelt. Dieses soll die Bewegung der reflektierenden Blasengrenzfläche im RPE interferometrisch detektieren [164]. Ein interferometrisches Verfahren hat den Vorteil, das man auch Informationen über die Bewegung der Blasengrenzfläche und damit über die Blasendynamik erhält.

Die optischen Verfahren zur Detektion transienter Blasen im RPE sollten im Gegensatz zur Optoakustik auch für die Blasendetektion bei der Bestrahlung mit Einzelpulsen geeignet sein. Berührunglos arbeitende Verfahren für die Dosimetriekontrolle sind im Gegensatz zum optoakustischen Verfahren auch für eine SRT-Behandlung geeignet, bei der die Bestrahlung ohne Verwendung eines Kontaktglases erfolgt. Bei Verwendung eines Scanning Digital Ophthalmoskop (SDO) wird beispielsweise der Augenhintergrund mit einem konfokalen Laserscanning-Verfahren abgetastet und in Echtzeit auf einem Bildschirm dargestellt. Die Laserbehandlung erfolgt mit einem zusätzlichen Laser, der in das SDO eingekoppelt wird, und kann indirekt vom Bildschirm aus gesteuert werden. Ein Kontaktglas wird in diesem Fall nicht benötigt [84].

2.1.2 Selektive Laser-Trabekuloplastik (SLT)

Die selektive Laser-Trabekuloplastik (SLT) [133] ist ein Verfahren zur Behandlung des Weitwinkelglaukoms, das durch einen dauerhaft erhöhten Augeninnendruck verursacht wird. Bei Patienten, die auf eine medikamentöse Behandlung zur Senkung des Augeninnendrucks nicht ansprechen, kann häufig der Augeninnendruck durch ein chirurgisches Verfahren gesenkt werden. Bei der SLT werden mit Hilfe eines frequenzverdoppelten Nd:YAG Lasers, der eine Pulsdauer von wenigen Nanosekunden besitzt, selektiv die pigmentierten Zellen des Trabekelwerks (Trabeculum corneosclerare, Abb. 2.1) im Kammerwinkel des Auges durch transiente Mikroblasen geschädigt, um den Abfluß des Kammerwassers über das schwammähnliche Trabekel in den Schlemm-Kanal (Abb. 2.1) zu verbessern. Diese Methode wurde in mehreren klinischen Studien [134, 135] erfolgreich verifiziert. Allerdings gibt es für die SLT nur wenige – jedoch nicht systematische – Untersuchungen zur laserinduzierten Mikroblasenbildung [118, 143, 144, 142], die letztlich die therapeutisch beabsichtigte Schädigung der pigmentierten Zellen verursacht. Deshalb könnten die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zur laserinduzierten

Blasendynamik auch für das Verständnis der Laser-Gewebe-Wechselwirkung bei der SLT hilfreich sein. Aufgrund der kurzen Laserpulsdauer erfolgt die Bestrahlung der pigmentierten Zellen im thermischen Einschluß, so daß die laserinduzierte Schädigung deutlich selektiver erfolgt als bei der Koagulation des Trabekelwerks mit einem kontinuierlich emittierenden Argon-Laser. Die Vorteile der SLT gegenüber der konventionellen Koagulation des Trabekelwerks sind bei einer ähnlichen Erfolgsquote sowohl eine geringere Komplikationsrate als auch die Möglichkeit zur Wiederholung der Behandlung, denn bei der SLT findet im Gegensatz zur Laserkoagulation eine vollständige Regeneration des Trabekelwerks statt [135].

2.1.3 Partikelbasierte Chirurgie auf zellulärer Ebene

Das Konzept der selektiven Photothermolyse kann auch mit Hilfe exogener absorbierender Partikel realisiert werden. Diese Partikel werden beispielsweise von bestimmten Zellarten aufgenommen (Phagozytose). Die Zellen, die diese Partikel enthalten, können durch Laserbestrahlung selektiv abgetötet werden, ohne benachbarte Zellen, die keine Partikel enthalten, zu beschädigen [133]. Bei Bestrahlungsdauern von wenigen Nanosekunden stellten Lin et al. und Kelly für Zellen, die phagozytierte Melanosomen [144, 118] oder Mikropartikel [139, 184] enthielten, mittels Kurzzeit-Mikrophotographie fest, daß das Auftreten von transienten Mikroblasen in der Zelle notwendige Bedingung für den Zelltod ist. In diesen Experimenten wurde nur das Auftreten von Blasen photographisch dokumentiert. Es fand bisher keine systematische Untersuchung der Blasendynamik statt. Diese soll in dieser Arbeit durchgeführt werden.

In neueren Experimenten werden vorzugsweise biokonjugierte Nanopartikel aus Gold eingesetzt, die sich durch ihre Beschichtung mit Antikörpern spezifisch an bestimmte Rezeptorproteine auf der Zellmembran binden. Mit dieser Methode ist es je nach Partikelgröße und Partikelanzahl auf der Membran und Partikelabstand zur Membran möglich, Zellen selektiv abzutöten [184, 190, 103] oder ihre Membran vorübergehend zu permeabilisieren [184]. Eine Membranpermeabilisierung ist Voraussetzung dafür, bestimmte Stoffe wie Medikamente oder Gene, für die die Zellmembran undurchlässig ist, in die Zelle einzuschleusen. Die spezifische Inaktivierung von Zellen könnte zur Krebsbekämpfung dienen [139]. Für klinische Anwendungen muß der Inaktivierungsort allerdings mit dem Laserlicht erreichbar sein.

Es ist auch denkbar, spezifisch an bestimmte Proteine bindende Nanopartikel während einer transienten Membranpermeabilisierung in die Zelle einzubringen, um danach die an die Nanoabsorber gebundenen Proteine mit Hilfe von Laserstrahlung innerhalb der vitalen Zelle zu inaktivieren (Nanoparticle assisted laser inactivation = NALI). Diese Protein-Knock-Out-Experimente dienen dazu, die Funktion des jeweiligen Protein aufzuklären und werden deshalb oft im Vorfeld der Medikamentenentwicklung eingesetzt, um das Zielprotein für die Bekämpfung einer bestimmten Krankheit zu identifizieren. Nach Identifikation dieses Prote-

ins können dann gezielt Wirkstoffe (bzw. Antikörper) entwickelt werden, die die Funktion des Proteins in gewünschter Weise beeinflussen.

Auch für diese Verfahren, die unter dem Begriff der Nanopartikelzellchirurgie zusammengefaßt werden, kann die Kenntnis der laserinduzierten Blasendynamik Anhaltspunkte für den Schadensradius geben. Da die für die Nanopartikelzellchirurgie verwendeten Partikel typischerweise Durchmesser von einigen zehn Nanometern besitzen, ist eine experimentelle Quantifizierung der Blasendynamik in der Regel schwierig. Deshalb muß auf zuverlässige Blasenmodelle zurückgegriffen werden. Die in dieser Arbeit durchgeführte experimentelle Untersuchung der laserinduzierten Blasenbildung um Mikropartikel könnte zur Entwicklung bzw. Verifizierung von Blasenmodellen genutzt werden. Diese könnten nach entsprechender Skalierung zum Verständnis der thermomechanischen Mechanismen bei der Nanopartikelzellchirurgie beitragen.

2.1.4 Partikel als Kontrastmittel bei der optoakustischen Tomographie

Laserbestrahlte Mikro- und Nanopartikel werden nicht nur zu therapeutischen Zwecken genutzt, sondern sollen auch zu diagnostischen Zwecken eingesetzt werden. Bei der optoakustischen Tomographie² wird Gewebe mit Laserpulsen von wenigen Nanosekunden Dauer bestrahlt. Aufgrund der schnellen thermischen Ausdehnung des Gewebes infolge der Lichtabsorption, entstehen je nach den lokalen Gewebeeigenschaften Schallwellen unterschiedlicher Amplitude. Mit Hilfe der Schallaufzeiten zu den Detektoren kann auf den Ort der Schallentstehung zurückgeschlossen werden, so daß es sich bei der optoakustischen Tomographie um ein bildgebendes Verfahren handelt. Die optoakustische Tomographie, die zur Zeit in Tierstudien erprobt wird [258], soll langfristig z. B. zur Erkennung von Brustkrebs eingesetzt werden [117]. Eine Möglichkeit, den Kontrast bei der optoakustischen Tomographie zu erhöhen, ist der Einsatz von Nanoabsorbern (z. B. Goldpartikeln), die bei Laserbestrahlungen unterhalb der maximal zulässigen Bestrahlung so stark erhitzt werden, daß es infolge einer stark lokalisierten Verdampfung der Flüssigkeit in der Umgebung des Partikels zur Bildung von transienten Blasen kommt [117, 63]. Die Schallamplituden, die mit dieser Blasenbildung einhergehen, sind bei hinreichender Partikelanzahl stärker als die thermoelastisch erzeugten Schallamplituden. Die Partikel lassen sich durch Biokonjugation wieder spezifisch an bestimmte Zellarten binden, so daß gewisse Gewebestrukturen erst mit Hilfe dieser sich selektiv bindenden Nanopartikel in der optoakustischen Tomographie sichtbar gemacht werden können. Allerdings wird sich bei diesem Verfahren nicht vermeiden lassen, daß Zellen wie bei der auf Partikel basierenden Chirurgie in Abschnitt 2.1.3 aufgrund der Blasenbildung zerstört werden. Dieser Nebeneffekt kann aber bei der Detektion von Krebs mit optoakustischer Tomo-

²auch: laserinduzierte photoakustische Tomographie

graphie durchaus erwünscht sein. Wie bei der partikelbasierten Zellchirurgie aus Abschnitt 2.1.3 kann die Blasengröße, die im Rahmen dieser Arbeit systematisch als Funktion der Laserparameter untersucht wird, wieder als Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe dienen.

2.1.5 Partikel als Mikroreaktoren

Bei der Bestrahlung von absorbierenden Partikeln mit kurzgepulster Laserstrahlung können so hohe Partikeltemperaturen erreicht werden, daß chemische Reaktionen initiiert werden. So wurden von McGrath et al. [156] nach Bestrahlung von Kohlenstoffpartikeln, die sich in Toluol bzw. Benzol befanden, Wasserstoff und diverse Kohlenwasserstoffe nachgewiesen. Bei Bestrahlung von wäßrigen Kohlenstoffsuspensionen erhielt man hauptsächlich Kohlenmonoxid und Wasserstoff. Die Besonderheit dieser laserinduzierten Reaktionen ist, daß sie lokal in der Partikelumgebung ablaufen, ohne daß die mittlere Suspensionstemperatur nennenswert erhöht wird.

Diese chemischen Reaktionen weisen aufgrund ihrer lokalen Begrenzung bei extremen Reaktionstemperaturen Ähnlichkeiten zur Sonochemie auf, bei der die Reaktionen durch Kavitationsblasen hervorgerufen werden, die durch Ultraschallwellen erzeugt werden [232]. Sonochemische Reaktionen finden während des Blaskollapses statt, der mit hohen Drücken von typischerweise 10kbar und Temperaturen von 5000K bei Heiz- und Kühlraten von 10^{10}K/s innerhalb der Blasen einhergeht [266]. Die Sonochemie wird beispielsweise zur Oberflächenmodifizierung, zur Nano- und Mikropartikelsynthese und zur Zersetzung von organischen Verunreinigungen in Wasser eingesetzt [233]. Möglicherweise könnten laserinduzierte chemische Reaktionen in Partikelsuspensionen in einigen Fällen eine Alternative zur Sonochemie darstellen.

Laserinduzierte Reaktionen an Partikeloberflächen ermöglichen auch die Durchführung von Nachweisverfahren in der analytischen Chemie. Bei dem SALDI-Verfahren (*Surface Assisted Laser Desorption Ionization*) befinden sich Biomoleküle in einem Flüssigkeitsfilm auf absorbierenden Mikro- oder Nanopartikeln [235, 214]. Die Bestrahlung mit kurzen Laserpulsen, die eine Dauer von wenigen Nanosekunden oder kürzer besitzen, führen während des explosiven Verdampfungsprozesses der Flüssigkeit zu einer Ionisation der Biomoleküle [55]. Die ionisierten Moleküle in der Gasphase können dann massenspektroskopisch untersucht werden. Dieses Verfahren hat – wie das artverwandte MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization*) – den Vorteil, daß relativ große ionisierte Moleküle in die Gasphase gelangen und damit nachgewiesen werden können, so daß das SALDI ein äußerst empfindliches Verfahren zum analytischen Nachweis von Biomolekülen darstellt [214]. Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Kenntnisse über Temperatur und Druck beim Phasenübergang an der Partikeloberfläche können möglicherweise zum besseren Verständnis des SALDI-Verfahrens beitragen.

Da bei kurz gepulster Laserstrahlung nach dem Prinzip der selektiven Photo-

thermolyse hohe Temperaturen nur in der Partikelumgebung erreicht werden, ist auch vorstellbar, daß an das Partikel gebundene Proteine denaturiert werden können, ohne die weiter entfernte Umgebung der Partikel zu beeinflussen. Auf diese Weise könnte mit Hilfe von Nanopartikeln eine selektive Zerstörung subzellulärer Strukturen ermöglicht werden [103]. Die Machbarkeit eines solchen Konzeptes wurde anhand von Experimenten zur Proteindenaturierung auf Oberflächen von Mikro- und Nanopartikeln untersucht [105, 104, 190]. Bei verschiedenen Laserpulsdauern im Bereich von Pikosekunden bis hin zu einigen Mikrosekunden, die jeweils der thermischen Einschlußzeit des Partikels angepaßt waren, konnte eine Inaktivierung von Proteinen festgestellt werden. Allerdings waren die Proteindenaturierungsraten deutlich niedriger als die Reaktionsraten, die mit Hilfe des Arrhenius-Formalismus aus den Denaturierungsexperimenten mit Heizdauern im Bereich von Minuten extrapoliert wurden [190]. Bei den untersuchten Proteinen lag die Bestrahlungsschwelle für die Inaktivierung sogar oberhalb der Blasenbildungsschwelle. Hier könnte die Kenntnis der für die Blasenbildung notwendigen Temperatur auf der Partikeloberfläche, die in dieser Arbeit ermittelt werden soll, hilfreich für eine untere Abschätzung der Denaturierungsraten sein. Eine genauere Kenntnis der Temperaturen auf der Partikeloberfläche könnte also zu einer exakteren Bestimmung der für eine Proteindenaturierung notwendigen Bedingungen führen. Eine Temperaturberechnung anhand der applizierten Bestrahlung war bei den bisher durchgeführten Experimenten oftmals aufgrund der inhomogenen Zusammensetzung der Partikel nur mit großer Unsicherheit möglich [105, 104, 190].

2.2 Transiente Siedevorgänge in technischen Anwendungen

Nach den Verfahren aus dem biomedizinischen Umfeld sollen in diesem Abschnitt weitere technische Anwendungen, die auf mikroskopischen Siedevorgängen an transient geheizten Oberflächen beruhen, vorgestellt werden. Es sind Gemeinsamkeiten mit den Blasenbildungsprozessen an transient geheizten Mikropartikeln, die in dieser Arbeit untersucht werden, zu erwarten. Deshalb sind sowohl experimentelle Ergebnisse als auch Modellvorstellungen jener Verfahren auf die in dieser Arbeit untersuchten Phänomene übertragbar und können somit zum tieferen Verständnis der Blasenbildungsprozesse beitragen.

2.2.1 Nichtlineare Lichttransmission infolge von Blasenbildung um Mikro- und Nanoabsorber

Zum Schutz der Augen oder elektronischer Lichtsensoren vor intensiver Lichtstrahlung, die zu einer irreversiblen Schädigung führt, werden oftmals Filtergläser

eingesetzt, die das Licht in einem bestimmten Wellenlängenbereich stark absorbieren. Ist jedoch die eingestrahlte Wellenlänge unbekannt, was beim Einsatz im militärischen Umfeld oftmals der Fall ist, oder benötigt man eine Lichtabschwächung für besonders viele optische Wellenlängen, so sind Filtergläser nicht geeignet, da sie auch das zu detektierende Licht stark abschwächen. So können Laserschutzbrillen, die auf linear absorbierenden Filtergläsern beruhen, nur gegen ausgewählte Lichtwellenlängen schützen, da sie ansonsten eine zu hohe Gesamtaborption für den sichtbaren Wellenlängenbereich besäßen, so daß man durch eine solche Laserschutzbrille nicht mehr sehen könnte.

Die Lösung dieses Problems liegt im Einsatz eines breitbandigen nichtlinearen Absorbers, dessen Extinktion sich bei zunehmender eingestrahelter Intensität in möglichst kurzer Zeit in nichtlinearer Weise erhöht (Optical Limiting). Für die Realisierung dieser invers sättigbaren Absorber haben sich zwei verschiedene Lösungsansätze herauskristallisiert [98], die entweder auf photochemischen Mechanismen spezieller Moleküle beruhen oder Verdampfungsvorgänge an breitbandig absorbierenden Mikro- und Nanopartikeln aus Graphit oder Metallen in Suspension nutzen [150]. Letzteres Verfahren beruht zum großen Teil auf laserinduzierter Blasenbildung um die Absorber, was in Abb. 2.6 veranschaulicht wird. Die Blasen

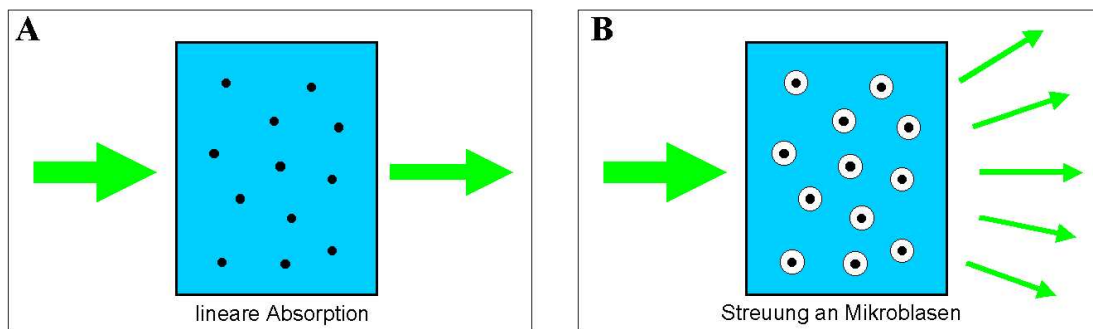


Abbildung 2.6: *Prinzip des Optical-Limiting-Effektes: Bei hinreichend großer Bestrahlung der Partikelsuspension steigt die Extinktion ausgehend von linearer Absorption (A) aufgrund von transienter Blasenbildung (B).*

haben aufgrund ihres geringen Brechungsindex im Vergleich zur Flüssigkeit eine stark brechende Wirkung, so daß die Extinktion der Suspension oberhalb der Blasenbildungsschwelle stark ansteigt. Experimentell wurde gezeigt, daß für eine Bestrahlung mit Pulsdauern von Nanosekunden im Gegensatz zu Pikosekunden eine signifikante Abschwächung der transmittierten Pulsenergie erreicht wurde [59, 60]. Bisherige Untersuchungen zum Optical Limiting beschränken sich meist auf die Messung der transmittierten Laserpulsenergie. Experimentelle Untersuchungen zur Blasendynamik in der Partikelsuspension, die den Optical Limiting Effekt maßgeblich bestimmt, finden sich in der Literatur nur sporadisch. Hierbei wurden die Blasen entweder mit Hilfe eines Abfragelasers [154, 248] oder

auf makroskopischer Skala photographisch [81] untersucht. Eine experimentelle Untersuchung zur Blasendynamik auf mikroskopischer Ebene hat in diesem Zusammenhang noch nicht stattgefunden. Für eine Abschätzung der Stärke des Optical-Limiting-Effektes in Abhängigkeit von der applizierten Laserstrahlung ist besonders die in dieser Arbeit untersuchte anfängliche Blasenausdehnungsgeschwindigkeit von Interesse.

Der Effekt des Optical Limiting in Partikelsuspensionen wurde auch zum schnellen optischen Schalten und zur Verkürzung von Laserpulsen vorgeschlagen [138, 158].

2.2.2 Mikrofluidik-Systeme

MEMS (*Micro-Electro-Mechanical Systems*) sind elektromechanische Mikrosysteme, bei denen mechanische Komponenten zusammen mit elektrischen Schaltkreisen auf einem Siliziumchip kombiniert werden. Eine spezielle Unterform der MEMS sind Mikrofluidik-Systeme. Sie werden für die verschiedensten Zwecke eingesetzt. So werden Mikrofluidik-Systeme in der Bioanalytik und -chemie ("Lab on a Chip") benutzt [192, 18], wo sie den Vorteil haben, daß im Vergleich zu konventionellen Verfahren kleinere Flüssigkeitsvolumen benötigt werden, was die Parallelisierung der Verfahren und Kostensenkungen begünstigt. Um den Flüssigkeitsfluß in Mikrofluidik-Systemen zu kontrollieren, werden oftmals Pumpen und Ventile eingesetzt, die auf Blasenbildung in einem Mikrokanal beruhen [145, 192]. Ebenso werden Blasen unter Ausnutzung des Brechungsindexsprunges an ihrer Grenzfläche zur umgebenden Flüssigkeit zum schnellen optischen Schalten zwischen verschiedenen Glasfasern benutzt (Agilent Bubble Switch [245]). Die Blasenbildung beruht in sämtlichen Fällen auf einer zeitlich begrenzten Temperaturerhöhung eines elektrisch betriebenen Mikroheizelements.

Das wohl bekannteste Mikrofluidik-System befindet sich in den Schreibwerken von Tintenstrahl-Druckern [7]. Bei den sogenannten thermischen Tintenstrahl-Druckern³ wird mit elektrisch betriebenen Mikroheizelementen eine Blase mit einer Lebensdauer von wenigen Mikrosekunden erzeugt [16, 15, 204, 171]. Aufgrund der Volumenausdehnung infolge der Blasenbildung wird Tinte, die sich in einem Reservoir befindet, durch eine Düse herausgedrückt (Abb. 2.7). Der resultierende Flüssigkeits-Jet gelangt dann auf das zu beschreibende Material. In der Biotechnologie wird die Tintenstrahltechnologie auch zum Erstellen von DNA Mikroarrays benutzt [172]. Diese spielen eine große Rolle bei parallelisierten Untersuchungen von einzelnen Genen (Gene chips). Für diese Anwendungen ist es notwendig, kleine Flüssigkeitsmengen von wenigen Pikolitern reproduzierbar auf einem Trägermaterial aus Quarzglas zu plazieren. In diesen Flüssigkeitstropfen befinden sich Oligonukleotide, die sich spezifisch an DNA-Fragmente aus der zu untersuchenden Probe binden. Eine Anlagerung von DNA-Fragmenten an einem

³engl.: thermal ink jet, bubble jet

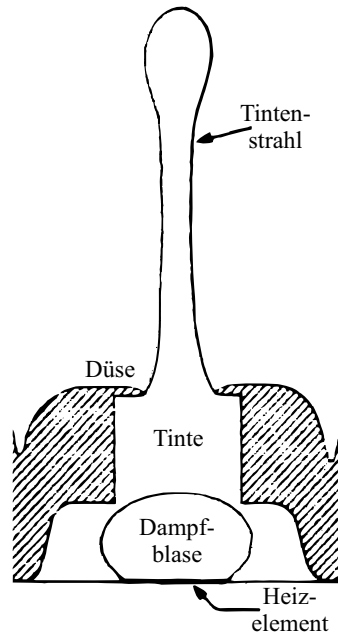


Abbildung 2.7: Funktionsprinzip eines thermisch induzierten Tintenstrahls nach Allen et al. [7]: Das Aufschwingen einer transienten Verdampfungsblase im Tintenreservoir führt zu einer Volumenvergrößerung und drückt Tinte durch eine Düse, so daß ein Tintenstrahl entsteht.

gewissen Ort kann dann im weiteren Ablauf des Verfahrens mit Hilfe von Fluoreszenzmarkern detektiert werden.

In den hier beschriebenen Mikrofluidik-Systemen finden Siedevorgänge an Festkörperoberflächen statt, die für eine Dauer von wenigen Mikrosekunden geheizt werden. Daher sollten die Siedevorgänge Gemeinsamkeiten mit den in dieser Arbeit behandelten Phasenübergängen an lasererhitzten Mikropartikeln in Suspension aufweisen, so daß die an dieser Stelle beschriebenen Mikrofluidik-Systeme oft zum Vergleich der in dieser Arbeit untersuchten Vorgänge herangezogen werden.

2.2.3 Steam Laser Cleaning

Durch die stetige Verkleinerung der Strukturen auf Halbleitern spielen Verunreinigungen in der Mikroelektronik eine immer größere Rolle. Verschmutzungen durch Partikel im Größenbereich von Mikro- und Nanometern können bei der Herstellung von integrierten Schaltungen in der Halbleiterindustrie zu fehlerhaften Schaltkreisen führen, so daß die Wafer, aus denen die Schaltungen gefertigt werden, möglichst frei von Verunreinigungen sein müssen. Jedoch lassen sich Verunreinigungen in diesen Größenordnungen wegen der großen Adhäsionskräfte zur Waferoberfläche mit konventionellen Reinigungsmethoden kaum von der

Oberfläche entfernen. Ein Verfahren zur berührungslosen Reinigung, das zudem keine Reinigungskemikalien benötigt, ist das sogenannte Steam Laser Cleaning [66, 268, 269, 53]. Bei diesem Verfahren wird ein dünner Flüssigkeitsfilm durch Kondensation aus der Gasphase auf den Wafer gebracht. Eine anschließende großflächige Bestrahlung mit Laserpulsdauern von einigen Nanosekunden bei Bestrahlungsfleckgrößen von etwa einem Quadratzentimeter und einer Wellenlänge, die vom Wafermaterial absorbiert wird, führt zu einer transienten Blasenbildung im Flüssigkeitsfilm sowie zur Entstehung von Druckwellen, was zur Folge hat, daß die Adhäsionskräfte zwischen Partikel und Wafer überwunden werden können. Unter weiterer Zugabe von Flüssigkeit können diese abgelösten Verunreinigungen dann vom Wafer gespült werden.

Da das Steam Laser Cleaning – ebenso wie die in dieser Arbeit untersuchten Vorgänge zur laserinduzierten Blasenbildung an Mikropartikeln – auf Siedevorgängen an schnell erhitzten Festkörperoberflächen beruht, sind für beide Phänomene Gemeinsamkeiten zu erwarten. Deshalb werden die Experimente zum Steam Laser Cleaning zum Vergleich mit den in dieser Arbeit untersuchten Vorgängen herangezogen.

2.3 Ziele dieser Arbeit

Aus den in diesem Kapitel dargestellten Verfahren ergeben sich Fragestellungen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit beantwortet werden sollen. Es werden insbesondere Themenkreise behandelt, die für die biomedizinischen Anwendungen aus Abschnitt 2.1 von Bedeutung sind. Die in Abschnitt 2.2 vorgestellten Verfahren aus dem nicht-medizinischen Bereich werden hauptsächlich zum Vergleich mit den Ergebnissen dieser Arbeit herangezogen, da sie gewisse Gemeinsamkeiten mit der in dieser Arbeit bearbeiteten Fragestellungen zur Blasenbildung und -dynamik an schnell erhitzten Oberflächen aufweisen.

Zunächst wird die laserinduzierte Blasenbildung an isolierten Mikroabsorbern in wäßriger Suspension untersucht. Es ergeben sich folgende Fragestellungen:

Blasenbildung an isolierten Mikropartikeln

- *Ist die Blasendynamik, insbesondere die Blasengröße infolge der Laserbestrahlung reproduzierbar?*

Eine reproduzierbare Blasendynamik ist Voraussetzung für eine systematische Untersuchung der Blasendynamik in Abhängigkeit von den Bestrahlungsparametern. In der Literatur finden sich nur wenige exemplarische Messungen zu Blasengrößen um Mikropartikel [118, 143, 193]. Eine systematische Erfassung der Blasendynamik hat bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht stattgefunden. Deshalb ist nicht bekannt, ob die Irregularität zwischen

Partikeln der gleichen Sorte (z. B. bei Melanosomen) die Reproduzierbarkeit der Experimente zur Blasendynamik beeinflusst.

- *Wie groß werden die Blasen in Abhängigkeit von Laserpulslänge und Bestrahlung?*

Die Blasengröße liefert in erster Näherung eine Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe [252, 255, 250]. Die Kenntnis des Schadensradius in Abhängigkeit von den Bestrahlungsparametern ist eine wichtige Größe bei medizinischen Verfahren wie der SRT, die eine hohe räumliche Präzision der laserinduzierten Effekte erfordern. Eine Kontrolle der Blasengröße durch die verwendeten Laserparameter könnte dazu dienen, die für die Anwendung gewünschten Schadensradien zu erzielen.

- *Wie schnell schwingt die Blase während des Laserpulses auf?*

Die Geschwindigkeit der Blasenexpansion kann beim Optical Limiting zur Abschätzung dienen, ob die Blase schnell genug aufschwingt, um die Transmission des in die Suspension eingestrahlten Laserpulses wirksam zu begrenzen.

- *Bei welcher Temperatur findet die Blasennukleation statt?*

Die Kenntnis der Temperatur, bei der eine Verdampfung der wässrigen Umgebung eintritt, ist für eine Abschätzung der chemischen Vorgänge auf und in dem Partikel notwendig, da die Kinetik einer chemischen Reaktion maßgeblich von der Temperatur beeinflusst wird. Deshalb stellt die Nukleationstemperatur die maximale Temperatur dar, bis zu der nur rein thermisch verursachte Effekte ablaufen. Oberhalb der Nukleationstemperatur müssen zusätzlich immer ein Phasenübergang auf der Partikelfläche und die damit verbundenen mechanischen Effekte berücksichtigt werden.

Die experimentelle Beantwortung dieser Fragen liefert auch notwendige Parameter wie die Nukleationstemperatur für eine Modellierung der Blasendynamik. Die experimentelle Beobachtung der Blasendynamik ermöglicht eine Entwicklung bzw. Überprüfung von Blasenmodellen. Da bei der Nanopartikel-Zellchirurgie, für die vorzugsweise Partikel mit Durchmessern von einigen 10nm verwendet werden, die experimentelle Quantifizierung der laserinduzierten Blasenbildung in der Regel nur schwer möglich ist, müssen zuverlässige Blasenmodelle zur Abschätzung der Blasengröße entwickelt werden.

Speziell im Hinblick auf die an der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH entwickelte Selektive Retina-Therapie wird neben der Blasendynamik um isolierte Mikropartikel auch die Blasenbildung im retinalen Pigmentepithel (RPE) mit optischen und optoakustischen Methoden untersucht. In diesem Zusammenhang sind folgende Fragestellungen von Bedeutung:

Blasendetektion im RPE

- *Ist die Detektion von Blasen im RPE nahe der Schwellenwertbestrahlung für Zelltod prinzipiell möglich?*

Da bei den für die SRT in Frage kommenden Laserpulsdauern die Bestrahlungsschwelle für die Blasenbildung mit der Bestrahlungsschwelle für den Zelltod übereinstimmt, könnte eine zuverlässige optische Methode zur Blasendetektion zu einer berührungslosen Dosimetriekontrolle in Echtzeit für die SRT weiterentwickelt werden. Eine optisch basierte Dosimetriekontrolle würde im Vergleich zur optoakustischen Dosimetriekontrolle kein speziell modifiziertes Kontaktglas benötigen und wäre somit auch bei Bestrahlungsprozeduren, die kein Kontaktglas erfordern (z. B. bei Verwendung eines Scanning Digital Ophthalmoskops, vgl. S. 17), einsetzbar. Eine optische Blasendetektion funktioniert möglicherweise auch bei Bestrahlung mit Einzelpulsen anstelle von Pulszügen, die für die optoakustische Dosimetriekontrolle erforderlich sind (vgl. Abb. 2.5) [207, 209].

- *Ist es mit optischen und optoakustischen Verfahren möglich, zusätzliche Informationen über die thermomechanische Wirkung der Laserstrahlung auf das RPE zu gewinnen?*

Die Blasendynamik im RPE unterscheidet sich möglicherweise von der Blasendynamik um isolierte Mikropartikel, da im RPE Blasen, die um einzelne Melanosomen entstehen, zusammenwachsen können. Informationen über die maximale Größe der im RPE auftretenden transienten Blasen können zur Abschätzung der Schadenreichweite bei der SRT dienen, da eine irreversible Schädigung der dem RPE benachbarten Photorezeptoren unbedingt vermieden werden soll. Insbesondere die Untersuchung der Blasengröße in Abhängigkeit von der Laserpulsdauer kann dazu verwendet werden, die bei der SRT eingesetzte Pulsdauer zu optimieren.

Kapitel 3

Physikalische Grundlagen

In diesem Kapitel werden die wesentlichen physikalischen Aspekte, die zum Verständnis der Blasenbildung um lasererhitzte Partikel in wässriger Umgebung nötig sind, dargestellt. In Abschnitt 3.1.1 wird auf die Lichtabsorption von Mikropartikeln eingegangen, die zu einer Erwärmung der Partikel führt. Danach wird die Wärmeausbreitung mit Hilfe der Wärmeleitungsgleichung beschrieben (Abschnitt 3.2). Eine schnelle Erwärmung der Partikel durch die absorbierte Laserstrahlung führt aufgrund der thermischen Ausdehnung der Partikel zur thermoelastischen Entstehung von Druckwellen, die in Abschnitt 3.3 dargestellt wird. Eine hinreichende Temperaturerhöhung kann zur Verdampfung des Wassers an der Partikeloberfläche führen. Die für den Phasenübergang notwendigen Bedingungen werden in Abschnitt 3.4 im Rahmen der Nukleationstheorie erläutert. Abschließend wird in Abschnitt 3.5 die sich an die Nukleation anschließende Blasendynamik in einer instationären, inhomogenen Temperaturverteilung in der Umgebung des Partikels beschrieben.

3.1 Lichtabsorption in Mikropartikeln

Ein Teil der eingestrahnten Laserenergie wird aufgrund der Lichtabsorption in den Mikropartikeln in Wärme umgewandelt und führt somit zur Temperaturerhöhung im Partikel. Dabei werden durch das eingestrahlte Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich elektronische Übergänge angeregt, die bei strahlungsloser Relaxation typischerweise innerhalb einiger Pikosekunden auf Gitter- bzw. Molekülschwingungen übertragen werden. Diese werden dann makroskopisch als Wärme interpretiert. Möchte man die Partikelabsorption exakt berechnen, so muß auf die Mie-Theorie zurückgegriffen werden, die aus der exakten Lösung der Maxwell'schen Gleichungen für das elektromagnetische Feld resultiert [106]. Für Partikel, die deutlich größer sind als die Lichtwellenlänge, kann der Strahlungstransport im Partikel durch die geometrische Optik genähert werden. Diese Näherung wird in der Literatur oft auch für kleine absorbierende Mikropartikel wie Melanoso-

men verwendet [260, 109, 78, 36]. Sie ist hier ebenfalls dargestellt, um die in der Literatur vorhandenen Daten besser mit den experimentellen Ergebnissen dieser Arbeit vergleichen zu können. Allerdings ist die Gültigkeit dieser Abschätzung wegen der geringen Partikelgröße, die in derselben Größenordnung wie die Bestrahlungswellenlänge liegt, fragwürdig.

3.1.1 Berechnung mittels Mie-Theorie

Im Rahmen der Mie-Theorie werden die Streu- und Absorptionseigenschaften von Partikeln mit Hilfe der Maxwell'schen Gleichungen bestimmt [106]: Für ein kugelförmiges Partikel mit bekanntem komplexen Brechungsindex wird die Lösung der Maxwell'schen Gleichungen in sphärischer Geometrie durch eine Multipolentwicklung approximiert, so daß die elektrischen und magnetischen Felder innerhalb und außerhalb der Kugel bekannt sind. Mit Hilfe der berechneten Felder kann dann auf die Absorptions- und Streueigenschaften des Partikels geschlossen werden, d. h. die Mie-Theorie beschreibt die Lichtabsorption des Partikels exakt. In der Praxis wird die Multipolentwicklung allerdings immer nur bis zu der erforderlichen Genauigkeit durchgeführt.

Die Absorption eines Partikels ist durch folgende Größen gekennzeichnet: Der Absorptionsquerschnitt eines Partikels σ_{abs} ergibt sich aus dem Quotienten der absorbierten Energie E_{abs} und der applizierten Bestrahlung H

$$\sigma_{abs} = \frac{E_{abs}}{H}. \quad (3.1)$$

Die Absorptionseffizienz

$$Q_{abs}(m, R, \lambda) = \frac{\sigma_{abs}}{\pi R^2} \quad (3.2)$$

ist dann das Verhältnis von Absorptionsquerschnitt zur Querschnittsfläche des Partikels. Sie ist abhängig vom Partikelradius R , der Wellenlänge λ des einstrahlten Lichts und dem komplexen Brechungsindex $m = n - ik$ des Materials, aus dem das Partikel besteht. Die detaillierte Berechnung der Absorptionseffizienzen Q_{abs} im Rahmen der Mie-Theorie ist im Anhang A.3 dargestellt. Hierbei ist anzumerken, daß bei Partikeln mit Durchmessern unterhalb bzw. in der Größenordnung der Lichtwellenlänge der Absorptionsquerschnitt σ_{abs} größer werden kann als die geometrische Querschnittsfläche πR^2 des Partikels [106]. Dann ergeben sich Absorptionseffizienzen mit $Q_{abs} > 1$. Auf eine Berechnung der Ortsverteilung der absorbierten Energie innerhalb des Partikels wird dabei aufgrund seiner mathematischen Komplexität in der vorliegenden Arbeit verzichtet [61]. Es wird stattdessen eine homogene Wärmezufuhr innerhalb des Partikels angenommen. Inwieweit die Näherung der homogenen Wärmezufuhr für die verwendeten Partikelarten gerechtfertigt ist, wird in den Abschnitten 4.1 und 5.2.3 diskutiert. Die Berechnung der Absorptionseffizienzen erfolgt – wie im Anhang A.3 dargestellt – nach van de Hulst [106] mit Hilfe einer an der Medizinischen Laserzentrum

Lübeck GmbH entwickelten Mathematica-Bibliothek (Mathematica 4, Wolfram Research).

In Abb. 3.1 ist die Absorptionseffizienz und die auf die Bestrahlung normalisierte, mittlere absorbierte volumetrische Energie beispielhaft für Goldpartikel in Abhängigkeit vom Partikelradius dargestellt.

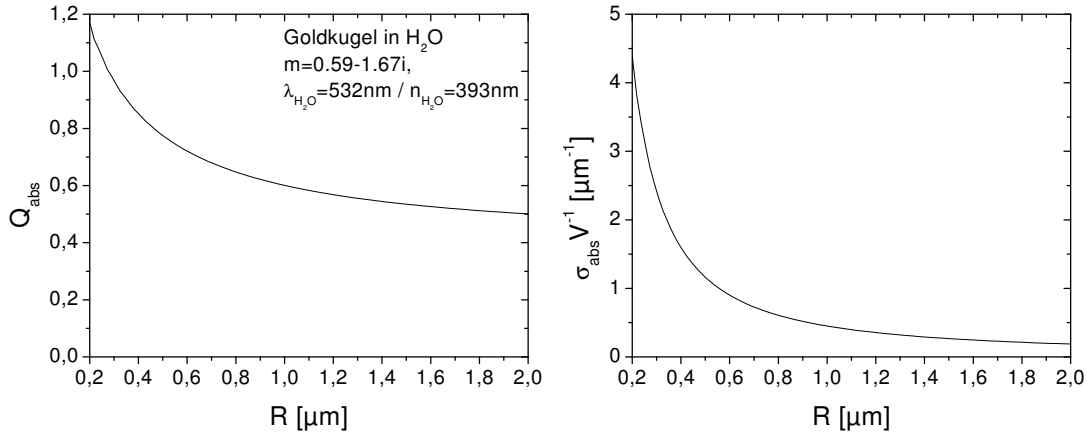


Abbildung 3.1: Absorptionseffizienz Q_{abs} (links) und mittlere absorbierte volumetrische Energie pro Bestrahlung $\sigma_{abs}/V = E_{abs}/(V \cdot H)$ (rechts) in Abhängigkeit vom Partikelradius R für kugelförmige Goldpartikel, die sich in wässriger Umgebung befinden.

3.1.2 Berechnung mittels geometrischer Optik

Für Partikel, die größer als die Wellenlänge des Lichts sind ($\lambda \ll R$), kann die Reflexion an der Partikeloberfläche und die Absorption im Partikel mit Hilfe der geometrischen Optik beschrieben werden [106]. Vernachlässigt man also alle Effekte der Mie-Theorie und modelliert die Absorption ohne Berücksichtigung der Reflexion an der Partikelgrenzfläche mit dem Lambert-Beerschen Absorptionsgesetz, erhält man nach Gerstman [75] für einen kugelförmigen Absorber mit dem Radius R den folgenden Zusammenhang von Absorptionseffizienz Q_{abs} und Absorptionskoeffizienten μ_{abs}

$$\begin{aligned} Q_{abs} = \frac{E_{abs}}{H \pi R^2} &= 1 - \frac{1}{2(\mu_{abs}R)^2} (1 - e^{-2(\mu_{abs}R)} (1 + 2(\mu_{abs}R))) \\ &= \frac{4}{3}(\mu_{abs}R) + \mathcal{O}(\mu_{abs}^2 R^2). \end{aligned} \quad (3.3)$$

Die Potenzreihen-Entwicklung in $\mu_{abs}R$ bis zur ersten Ordnung entspricht dem Fall eines optisch dünnen Partikels, für das $\mu_{abs}R \ll 1$ gilt. In diesem Fall findet näherungsweise eine homogene Lichtabsorption im gesamten Partikelvolumen

statt, denn die optische Eindringtiefe des Lichts $D = \mu_{abs}^{-1}$ ist größer als der Partikelradius R

$$D \gg R.$$

Diese mit Hilfe der geometrischen Optik durchgeführte Näherung erlaubt es, aus der Absorptionseffizienz Q_{abs} einen Absorptionskoeffizienten μ_{abs} zu extrahieren. Es wird damit möglich, die in dieser Arbeit gemessenen Absorptionseffizienzen für Melanosomen mit Absorptionskoeffizienten aus der Literatur zu vergleichen.

3.2 Wärmeleitung

Nachdem der Wärmeeintrag in ein kugelförmiges Partikel durch Lichtabsorption im vorherigen Abschnitt beschrieben wurde, soll in diesem Abschnitt die Wärmeausbreitung vom Partikel in seine wässrige Umgebung modelliert werden. Die Wärmeausbreitung wird durch die Wärmeleitungsgleichung

$$\frac{\partial T}{\partial t}(\mathbf{r}, t) - \kappa \nabla^2 T(\mathbf{r}, t) = \frac{A(\mathbf{r}, t)}{\rho c_p} \quad (3.4)$$

beschrieben [42]. Zur Vereinfachung der Modellierung wird die Temperaturabhängigkeit der volumetrischen Wärmekapazität ρc_p und der Wärmediffusivität κ vernachlässigt, da diese für die verwendeten Materialien unbekannt sind oder nach Anhang A.1 und A.2 nur eine schwache Temperaturabhängigkeit aufweisen.

An der Grenzfläche zwischen zwei verschiedenen Materialien entsteht ein Wärmeübergangswiderstand R_K (Kapitza-Widerstand) infolge der Quantisierung der Wärmeleitung im Partikel durch Phononen und deren Streuung an der Materialgrenzfläche [44]. Dieser Wärmeübergangswiderstand ist nur bei Nanopartikeln, bei denen die freie Weglänge der Phononen größer ist als die Partikelabmessungen, oder bei sehr großen Wärmeflüssen q'' durch die Materialgrenzfläche F relevant. Experimentell ergeben sich an Metall-Wasser Grenzflächen typische Wärmeübergangsfähigkeiten von

$$G_K = \frac{1}{R_K} = \frac{q''}{\Delta T} \approx 100 \frac{MW}{m^2 K} \quad \text{mit} \quad q'' = \frac{1}{F} \frac{dQ}{dt} \quad (3.5)$$

[261, 77]. Außerdem kann an der Partikelgrenzfläche bei nicht perfekter Benetzung des Partikels durch die umgebende Flüssigkeit der Kontaktwiderstand zum Wärmeübergangswiderstand beitragen. Dabei wird der Wärmetransport aus dem Partikel durch Gasanlagerungen analog zu einem Partikel, das sich in einer Gasblase befindet, behindert, denn die durch eine Gasschicht transportierte Wärmemenge ist im Vergleich zur Flüssigkeit meistens deutlich geringer. Die durch Wärmeübergangswiderstände verursachten Temperatursprünge ΔT an der Partikeloberfläche werden bei den weiteren Rechnungen zunächst vernachlässigt.

Für eine kugelsymmetrische Geometrie ergibt sich bei Benutzung des Quellterms $\frac{1}{\rho c_p} \delta(r) \delta(t)$ als Lösung der Wärmeleitungsgleichung 3.4 die Greensche Funktion

$$g(r, t) = \frac{1}{8\rho c_p (\pi \kappa t)^{\frac{3}{2}}} \exp\left(-\frac{r^2}{4\kappa t}\right) \quad (3.6)$$

[42]. Die Greensche Funktion stellt die auf die volumetrische Leistungsdichte ($A = 1$) normierte Temperaturantwort auf eine punktförmige infinitesimal kurze Erwärmung dar. Im homogenen Medium gilt für die Temperatur aufgrund der Linearität der Wärmeleitungsgleichung das zeitliche und räumliche Superpositionsprinzip. Deshalb läßt sich die Wärmeleitungsgleichung 3.4 für eine beliebige kugelsymmetrische volumetrische Leistungsdichte $A(r, t)$ durch Faltung mit der Greenschen Funktion

$$T(r, t) = g(r, t) \otimes A(r, t) = \int_0^t \int_V g(r - r', t - t') A(r', t') d^3 r' dt'$$

lösen.

Zur Abschätzung der Zeitspanne, die für thermische Ausgleichsprozesse innerhalb eines inhomogen erwärmten Partikels benötigt werden, zieht man die Zeitkonstante im Exponenten der Greenschen Funktion 3.6 heran, denn die Exponentialfunktion in der Greenschen Funktion bestimmt die Wärmeausbreitung maßgeblich. Man erhält somit bei einem Partikelradius R mit der Wärmediffusivität κ des Partikelmaterials eine Thermalisierungszeit von

$$\tau_T = \frac{R^2}{4\kappa}. \quad (3.7)$$

Die Zeitkonstante, die eine Abschätzung für die Dauer der thermischen Ausgleichsprozesse des Partikels mit der wäßrigen Umgebung liefert, ist die thermische Einschlußzeit. Sie wird im Gegensatz zu der Thermalisierungszeit nicht durch die Wärmediffusivität des Partikelmaterials, sondern die des Wassers in der Partikelumgebung bestimmt. Die thermische Einschlußzeit ist bei Karabutov et al. [116] analog zur Thermalisierungszeit durch

$$\tau_T^{H_2O} = \frac{R^2}{4\kappa_{H_2O}} \quad (3.8)$$

definiert. Die Thermalisierungszeit τ_T stellt also die charakteristische Zeitskala für die thermische Relaxation innerhalb des Partikels dar, während die thermische Einschlußzeit $\tau_T^{H_2O}$ die Zeitkonstante für die thermischen Ausgleichsprozesse des Partikels mit seiner Umgebung ist [116]. Bei Verwendung von Laserpulsdauern mit $\tau_{Laser} \ll \tau_T^{H_2O}$ findet die Bestrahlung des Partikels also unter thermischen Einschlußbedingungen statt. Mit der thermischen Diffusionslänge

$$r_T = \sqrt{4\kappa_{H_2O} \tau_{Laser}} \quad (3.9)$$

wird der Radius des erwärmten Gebiets in der Umgebung eines für eine Dauer von τ_{Laser} erwärmten Partikels am Ende des Laserpulses abgeschätzt. Nach der Darstellung der charakteristischen Zeit- und Längenkennkonstanten der Wärmeleitungsgleichung, sollen nun Lösungen der Wärmeleitungsgleichung vorgestellt werden, die zur Modellierung der Partikelerwärmung und Wärmediffusion benutzt werden.

3.2.1 Halbanalytische Lösung der Wärmeleitungsgleichung

Eine analytische Lösung der Wärmeleitungsgleichung für ein kugelförmiges Partikel, das in ein Medium eingebettet ist, dessen thermische Eigenschaften sich vom Partikel unterscheiden, wurde unter der Annahme konstanter, räumlich homogener Leistungszufuhr A im Partikelvolumen von Goldenberg hergeleitet [82, 237]:

$$\begin{aligned}
T_1(r, t) &= R^2 \frac{A}{K_1} \left(\frac{K_1}{3K_2} + \frac{1}{6} \left(1 - \frac{r^2}{R^2} \right) - \right. \\
&\quad \left. \frac{2Rb}{r\pi} \int_0^\infty \frac{\exp\left(-\frac{y^2}{R^2} \kappa_1 t\right)}{y} \frac{(\sin y - y \cos y) \sin\left(\frac{r}{R} y\right)}{(c \sin y - y \cos y)^2 + b^2 y^2 \sin^2 y} dy \right) \\
T_2(r, t) &= \frac{R^3}{r} \frac{A}{K_1} \left(\frac{K_1}{3K_2} - \frac{2}{\pi} \int_0^\infty \frac{\exp\left(-\frac{y^2}{R^2} \kappa_1 t\right)}{y^3} \right. \\
&\quad \left. \frac{(\sin y - y \cos y) (by \sin y \cdot \cos \delta y - (c \sin y - y \cos y) \sin \delta y)}{(c \sin y - y \cos y)^2 + b^2 y^2 \sin^2 y} dy \right) \\
\text{mit } b &= \frac{K_2}{K_1} \sqrt{\frac{\kappa_1}{\kappa_2}}, \quad c = 1 - \frac{K_2}{K_1}, \quad \delta = \left(\frac{r}{R} - 1 \right) \sqrt{\frac{\kappa_1}{\kappa_2}}
\end{aligned} \tag{3.10}$$

Der Index 1 kennzeichnet die physikalischen Größen innerhalb der Kugel und der Index 2 die Eigenschaften des umgebenden Mediums, d. h. diese Lösung erlaubt es, der Kugel andere thermische Eigenschaften zuzuordnen als dem umgebenden Medium. In diesem Fall verliert das Superpositionsprinzip im Ortsbereich seine Gültigkeit. Mit Hilfe dieser Lösung der Wärmeleitungsgleichung läßt sich aufgrund des weiterhin geltenden Superpositionsprinzips im Zeitbereich der zeitliche und örtliche Temperaturverlauf infolge eines zeitlichen Rechteckpulses der Dauer τ_{Laser} durch

$$\begin{aligned}
T_{\square}(r, t, \tau_{Laser}) &= T_i(r, t) - T_i(r, t - \tau_{Laser}) \\
&\text{mit } i = 1 \text{ bei } r \leq R, i = 2 \text{ bei } r > R
\end{aligned} \tag{3.11}$$

berechnen. Dabei wird in Gl. 3.10 zur Berechnung von T_i die volumetrische Leistungsdichte

$$A = \frac{HQ_{abs} \pi R^2}{\tau_{Laser} \frac{4}{3} \pi R^3} \tag{3.12}$$

benutzt. Verkürzt man das Zeitintervall, in dem die Wärmezufuhr stattfindet, weiter, so erhält man für einen gegebenen Radius r eine numerische Näherung der Temperaturantwort auf eine infinitesimal kurze Erwärmung

$$T_\delta(r, t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} T_\square(r, t, \Delta t) \quad \text{mit } A = \frac{HQ_{abs} \pi R^2}{\Delta t \frac{4}{3} \pi R^3}. \quad (3.13)$$

Mit Hilfe von T_δ läßt sich der zeitabhängige Temperaturverlauf für eine Bestrahlung mit beliebiger Laserpulsform an einem Ort berechnen. Dafür wird der Verlauf des Laserpulses $f(t)$, der auf

$$\int f(t) dt = 1$$

normiert ist, im Zeitbereich numerisch mit T_δ gefaltet

$$T(r, t) = T_\delta(r, t) \otimes f(t). \quad (3.14)$$

Zusammenfassend läßt sich also nach Gl. 3.14 unter Zuhilfenahme der numerischen Näherung der Temperaturantwort auf eine infinitesimal kurze Erwärmung der zeitliche Temperaturverlauf an einem bestimmten Ort für ein Partikel mit räumlich homogener Leistungszufuhr berechnen. Möchte man allerdings radiale Temperaturverläufe zu einem bestimmten Zeitpunkt berechnen, so muß man die Temperaturantwort auf eine infinitesimal kurze Erwärmung für jeden Ort neu berechnen. Letzteres Verfahren ist für Standard-PCs so aufwendig, daß für die Modellierung radialer Temperaturverläufe der Bestrahlungspuls oftmals durch einen zeitlich rechteckigen Laserpuls genähert wird. Für diese Pulsform existiert mit Gleichung 3.11 eine exakte analytische Lösung der Wärmeleitungsgleichung.

3.2.2 Numerische Lösung der Wärmeleitungsgleichung

Eine weitere Möglichkeit zur Berechnung der Partikeltemperatur ergab sich in Zusammenarbeit mit dem Institut für technische Informatik der Universität zu Lübeck. Dort wurde ein explizites Finite-Differenzen-Schema zur Lösung der Wärmeleitungsgleichung auf einem PC-Cluster (Störtebeker-PC-Cluster: 48 Knoten mit Dualprozessoren, 32 GFlops/s) implementiert [166, 92]. Die Wärmeleitungsgleichung 3.4 wurde in kartesischen Koordinaten $\mathbf{r} = \sum_{i=1,2,3} x_i \mathbf{e}_i$ bei äquidistanter Partitionierung ($\Delta x = \Delta x_1 = \Delta x_2 = \Delta x_3$) mit Hilfe des expliziten Finite-Differenzen-Schemas

$$T(\mathbf{r}, t + \Delta t) = \frac{1}{7} \left(T(\mathbf{r}, t) + \sum_{\substack{i=1,2,3 \\ j=\pm 1}} T(\mathbf{r} + j\Delta x_i \mathbf{e}_i, t) \right) + \frac{A(\mathbf{r}, t)}{\rho c_p} \quad (3.15)$$

diskretisiert. Physikalisch bedeutet dieses Schema, daß nach jedem Zeitschritt Δt ein finites Volumen (Voxel) die Temperatur annimmt, die sich aus der Mittelwertbildung mit seinen direkten Nachbarn ergibt. Zusätzlich kann dem Voxel

auch Wärme aufgrund von Lichtabsorption zugeführt werden. Der Zeitschritt für die diskretisierte Wärmeleitungsgleichung 3.4 ergibt sich aus der thermischen Relaxationszeit eines Würfels mit der Kantenlänge eines Voxels, für die

$$\Delta t = \frac{1}{6\kappa}(\Delta x)^2 \quad (3.16)$$

gilt [76]. Die Lichtabsorption erfolgt in x_1 -Richtung nach dem Lambert-Beerschen Absorptionsgesetz

$$\begin{aligned} I(x_1, x_2, x_3, t) &= I(x_1 - \Delta x_1, x_2, x_3, t) (1 - \mu_{abs}(x_1, x_2, x_3) \Delta x_1) \\ A(x_1, x_2, x_3, t) &= \mu_{abs}(x_1, x_2, x_3) I(x_1 - \Delta x_1, x_2, x_3, t). \end{aligned} \quad (3.17)$$

Als Randbedingungen des Simulationsvolumens können eine Wärmesenke ($T = const.$), Wärmeisolation oder periodische Randbedingungen modelliert werden.

Diese Implementation der Wärmeleitungsgleichung hat gegenüber der halb-analytischen Lösung aus dem letzten Abschnitt den Vorteil, daß Absorber mit beliebiger Form im Simulationsvolumen, das typischerweise 150^3 Voxel beträgt, realisiert werden können. Aufgrund der Absorptionsmodellierung durch das Lambert-Beer-Gesetz kann auch ein inhomogener Wärmeeintrag in das Partikel modelliert werden. Allerdings werden Effekte der Mie-Theorie nicht berücksichtigt. Ein Nachteil des Finite-Differenzen-Schemas ist, daß der Zeitschritt über Gl. 3.16 mit den thermischen Eigenschaften des Mediums verbunden ist, was bedeutet, daß Absorber und Umgebung die gleiche Wärmediffusivität κ aufweisen müssen. Diese Bedingung ist zwar nach Tab. A.1 des Anhangs für Melanosomen, aber nicht für Goldpartikel erfüllt. Außerdem ist zur Zeit nur eine Laserbestrahlung mit zeitlichen Rechteckpulsen modellierbar.

3.3 Thermoelastische Druckentstehung

Wird die Temperatur eines Körpers variiert, so verändert sich sein Volumen. Dadurch entstehen sogenannte thermoelastische Druckwellen, d. h. longitudinale Dichtewellen. In einem Festkörper können im Gegensatz zu einer Flüssigkeit zusätzlich auch (transversale) Scherwellen¹ auftreten. Um die Amplituden der thermoelastischen Druckwellen, die bei der laserinduzierten Partikelerwärmung in der Flüssigkeit entstehen, abzuschätzen, wird auf ein Modell von Kahn und Diebold [114] für die Druckentstehung in kugelförmigen lasererhitzten Partikeln, die sich in einer Flüssigkeit befinden, zurückgegriffen. Im Rahmen dieser Lösung wird auf eine simultane Modellierung der Wärmeleitung verzichtet. Die Viskosität der Flüssigkeit wird ebenfalls vernachlässigt. Rechnungen unter Berücksichtigung der Wärmeleitung und der Viskosität zeigen, daß sich die maximalen Druckamplituden durch eine Berücksichtigung dieser beiden Effekte verringern [40]. Deshalb

¹auch: Torsionswellen

stellen die in dieser Arbeit berechneten Druckamplituden, insbesondere bei Bestrahlung außerhalb des thermischen Einschusses, eine obere Grenze dar.

Kahn und Diebold [114] geben für eine Kugel, die mit einem zeitlich gaußförmigen Laserpuls

$$I(t) = \frac{H}{\Theta_{Laser}\sqrt{\pi}} \exp\left(-\frac{t^2}{\Theta_{Laser}^2}\right) \quad (3.18)$$

der Dauer $\Theta_{Laser} = 2\tau_{Laser}/\sqrt{4\ln 2} \approx 0.6\tau_{Laser}$ bestrahlt wird, einen resultierenden Druckverlauf in der flüssigen Umgebung des Partikels ($r \geq R$) von

$$p(r, t) = \mu_{abs} H \frac{\beta_1 c_{1l}^2}{c_p} \frac{2}{3\sqrt{\pi}} \frac{\rho_2}{\rho_1} \left(\frac{\tau_p}{2\Theta_{Laser}}\right)^3 \frac{\left(\frac{c_{1l}}{c_{2l}} - c_{1l} \frac{t}{r}\right)}{1 - \left(\frac{2c_{1t}}{c_{1l}}\right)^{\frac{2}{3}}} \exp\left(-\frac{\left(t - \frac{r}{c_{2l}}\right)^2}{\Theta_{Laser}^2}\right) \quad (3.19)$$

an. Der Index 1 beschreibt die Materialeigenschaften innerhalb der Kugel und der Index 2 die Eigenschaften im umgebenden Medium. Dabei sind c_l und c_t die longitudinale und die transversale Schallgeschwindigkeit im jeweiligen Medium. β ist der volumetrische Wärmeausdehnungskoeffizient. Die Gültigkeit dieser Lösung beschränkt sich auf Pulsdauern außerhalb der akustischen Einschlußzeit. Diese wird durch die Laufzeit einer (longitudinalen) Schallwelle durch die Kugel

$$\tau_p = \frac{2R}{c_{1l}} \quad (3.20)$$

definiert. In sämtlichen Experimenten dieser Arbeit werden die verwendeten Mikroabsorber mit Laserpulsen bestrahlt, deren Dauern außerhalb der akustischen Einschlußzeit liegen. Deshalb wird im folgenden auf die thermoelastische Druckentstehung für Bestrahlungen innerhalb des akustischen Einschusses nicht näher eingegangen. Bei einer Bestrahlung mit Laserpulsdauern, die außerhalb des akustischen Einschusses liegen ($\tau_{Laser} \gg \tau_p$), läuft die thermoelastische Welle schon während des Bestrahlungspulses aus dem Partikel heraus, so daß sich bei gleicher Bestrahlung geringere Druckamplituden als im akustischen Einschluß ergeben. Aus Gl. 3.19 läßt sich wegen der Abhängigkeit

$$p \propto \left(\frac{\tau_p}{\Theta_{Laser}}\right)^3$$

entnehmen, daß für eine Bestrahlung außerhalb des akustischen Einschusses die Druckamplituden mit zunehmender Laserpulsdauer abnehmen.

Unter Vernachlässigung der transversalen Schallgeschwindigkeit ($c_{1t} = 0$) gilt für den Grüneisen-Parameter $\Gamma = \frac{\beta c_{1l}^2}{c_p}$ und man erhält unter Substitution des Absorptionskoeffizienten mit $\mu_{abs} = \frac{3Q_{abs}}{4R}$ nach Gl. 3.3

$$p(r, t) = \frac{3Q_{abs}}{4R} H \Gamma \frac{2}{3\sqrt{\pi}} \frac{\rho_2}{\rho_1} \left(\frac{\tau_p}{2\Theta_{Laser}}\right)^3 \left(\frac{c_{1l}}{c_{2l}} - c_{1l} \frac{t}{r}\right) \exp\left(-\frac{\left(t - \frac{r}{c_{2l}}\right)^2}{\Theta_{Laser}^2}\right). \quad (3.21)$$

Diese Gleichung ist konsistent mit der Lösung für die thermoelastische Druckentstehung in einem kugelförmigen Flüssigkeitstropfen [52], da in einer Flüssigkeit keine Scherwellen auftreten ($c_{1t} = 0$).

Durch die Laserbestrahlung wird das Partikel zwar erwärmt, aber es wird kein nennenswerter Impuls auf das Partikel übertragen [88]. Qualitativ kann damit gezeigt werden, daß bei der thermoelastischen Druckentstehung in einem räumlich begrenzten Absorber an jedem Ort \mathbf{r}_0 außerhalb des Absorbers ein bipolares Drucksignal mit

$$\int p(t, \mathbf{r}_0) dt = 0$$

resultiert [180]. Bei der Bestrahlung von Partikeln außerhalb des akustischen Einschusses ($\tau_{Laser} \gg \tau_p$) läßt sich zudem mathematisch zeigen, daß bei kugelsymmetrischer Absorbergeometrie unter Vernachlässigung der Temperaturabhängigkeit der Materialeigenschaften und der Wärmeleitung der Druck denselben zeitlichen Verlauf wie die Ableitung des Laserpulses besitzt [51].

Im akustischen Einschluß, bei dem bei gleicher Bestrahlung deutlich höhere Druckamplituden als außerhalb des akustischen Einschusses entstehen, führt die im Partikel radial nach innen laufende Zugwelle aufgrund des Fokussierungseffektes oftmals zu einer von der Partikelmitte ausgehenden Fragmentierung des Partikels. Dieses Phänomen wurde sowohl experimentell [180] als auch in molekulardynamischen Simulationen [273, 274] beobachtet.

3.4 Der Phasenübergang flüssig – gasförmig

Da in dieser Arbeit laserinduzierte Verdampfungsvorgänge an Mikropartikeln in wässriger Suspension untersucht werden, sollen in diesem Abschnitt die theoretischen Aspekte des Phasenübergangs flüssig – gasförmig von Wasser erläutert werden. Es werden zunächst thermodynamische Aspekte des Phasenübergangs vorgestellt. Die Anwendung thermodynamischer Stabilitätskriterien auf die flüssige Phase zeigt, daß auch ein Überhitzen dieser Phase jenseits der Siedetemperatur im thermodynamischen Gleichgewicht T_{sat} möglich ist. Das Konzept des Phasenübergangs dieser metastabilen Flüssigkeit wird zunächst qualitativ anhand der Landau-Theorie bzw. Dichtefunktionaltheorie beschrieben. Anschließend wird im Rahmen der klassischen Nukleationstheorie auf die Kinetik des Phasenübergangs eingegangen. Im Gegensatz zur Dichtefunktionaltheorie des Phasenübergangs erlaubt die klassische Nukleationstheorie einfach durchführbare Abschätzungen zur Phasenübergangstemperatur.

3.4.1 Die Thermodynamik des Phasenübergangs

In der Thermodynamik werden Systeme durch thermodynamische Potentiale beschrieben [128]. Die thermodynamischen Größen des Systems wie Entropie S ,

Wärmekapazitäten c_p , c_V usw. lassen sich aus den Ableitungen dieser thermodynamischen Potentiale nach den Zustandsvariablen V , p , T bestimmen. Das thermodynamische Potential der Zustandsgrößen Druck p und Temperatur T ist für ein abgeschlossenes System die freie Enthalpie² $G(T, p)$. Unter isobaren und isothermen Bedingungen ist sie im thermodynamischen Gleichgewicht extremal, wobei ein stabiles Gleichgewicht durch ein Minimum gekennzeichnet ist, während ein Maximum ein instabiles Gleichgewicht darstellt.

Bei Phasenübergängen unterscheidet man zwischen diskontinuierlichen Phasenübergängen (Phasenübergang 1. Ordnung) und kontinuierlichen Phasenübergängen (Phasenübergang 2. Ordnung). Findet bei der Temperatur T_{12} ein Phasenübergang der Phase 1 nach Phase 2 statt, so sind für Phasenübergänge 1. Ordnung die partiellen Ableitungen der freien Enthalpie an dieser Stelle nicht stetig, was einem Entropiesprung

$$\Delta S_{12} = \left(\frac{\partial G_1}{\partial T} \right)_p - \left(\frac{\partial G_2}{\partial T} \right)_p$$

entspricht und zur Folge hat, daß der Phasenübergang eine Umwandlungswärme

$$\Delta Q = T_{12} \Delta S_{12}$$

erfordert. Für Phasenübergänge 2. Ordnung verschwindet diese Umwandlungswärme [128]. Bei dem Phasenübergang flüssig-gasförmig von Wasser handelt es sich um einen Phasenübergang 1. Ordnung. Es muß also für einen solchen Phasenübergang zusätzliche Energie in Form der Umwandlungswärme aufgebracht werden. In diesem Fall spricht man bei der (pro Masse) benötigten Umwandlungsenergie von latenter Verdampfungswärme. Da für den Phasenübergang das Überwinden dieser Energiebarriere erforderlich ist, kann das Wasser jenseits der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur, die durch die Binodale $T_{sat}(p)$ beschrieben wird, überhitzt werden, ohne daß der Phasenübergang stattfindet. Die Gleichgewichtsverdampfungstemperatur hat bei Normaldruck einen Wert von $T_{sat}(p_0) = 100^\circ\text{C}$. Die Spinodale $T_{sp}(p)$ beschreibt bei gegebenem Druck, die maximal mögliche Überhitzungstemperatur der flüssigen Phase. Sie wird durch

$$\left(\frac{\partial p}{\partial V} \right)_T = 0$$

definiert [41].

In Abb. 3.2 sind Binodale und Spinodale im Druck-Temperaturdiagramm für Wasser dargestellt. Ausgehend vom flüssigen Zustand erkennt man, daß der Phasenübergang bei Überschreiten der Binodalen bzw. der Spinodalen sowohl durch eine Temperaturerhöhung als auch durch eine Druckverringerung verursacht werden kann. Bei einem Phasenübergang unter isobaren Bedingungen spricht man

²auch: Gibbsche freie Energie

vom Sieden, während bei einem isothermen, durch Zugspannung verursachten Phasenübergang Kavitation vorliegt [34]. In der Realität treten beim Phasenübergang oftmals Mischformen zwischen Kavitation und Siedevorgängen auf, insbesondere dann, wenn die Erwärmung unter Druckeinschluß (vgl. Gl. 3.20) erfolgt, so daß thermoelastische Zugwellen entstehen.

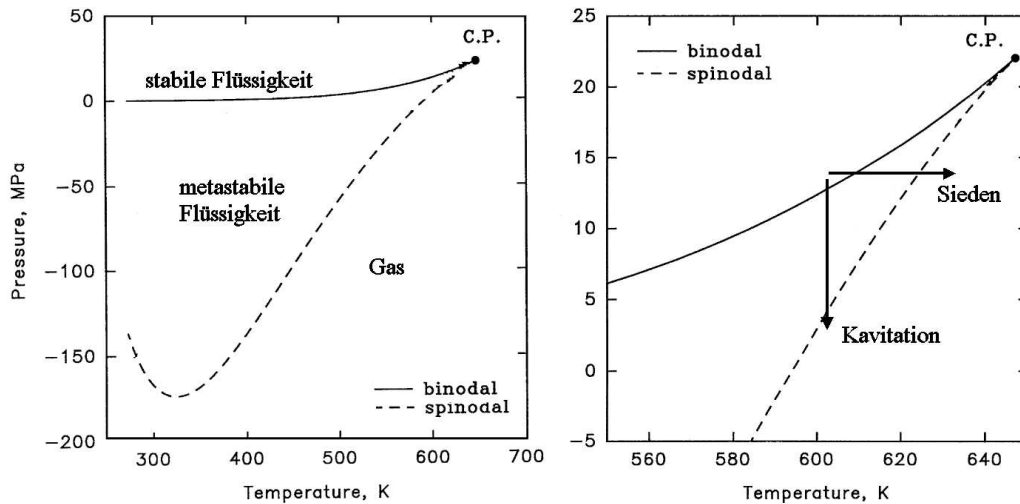


Abbildung 3.2: Druck-Temperatur-Diagramm für Wasser (verändert nach Kiselev [120], C. P. ist der kritische Punkt). Die Spinodale, die der Bedingung 3.22 entspricht, wurde mit Hilfe der Zustandsgleichung von Saul und Wagner [206] berechnet. Findet der Phasenübergang ausgehend vom flüssigen Zustand durch Temperaturerhöhung bei einem isobaren Überschreiten der Binodalen bzw. Spinodalen statt, spricht man vom Sieden, während beim isothermen, durch Zugspannung verursachten Phasenübergang Kavitation vorliegt.

Überhitztes Wasser ist metastabil, weil erst ein Überwinden der Energiebarriere durch thermodynamische Fluktuationen den Phasenübergang ablaufen läßt. Die Energiebarriere in der freien Enthalpie, die für den Phasenübergang überwunden werden muß, und das damit verbundene lokale Minimum der freien Enthalpie für metastabiles Wasser verschwinden an der Spinodalen, was in Abb. 3.3 schematisch dargestellt ist.

Insgesamt erhält man für die Stabilität der Flüssigkeit die Bedingung

$$\left(\frac{\partial p}{\partial V}\right)_T \begin{cases} < 0 & \text{stabil} \\ = 0 & \text{Spinodale} \\ > 0 & \text{instabil} \end{cases} \quad (3.22)$$

Die Spinodale kann mit Hilfe der Bedingung 3.22 aus den thermodynamischen Zustandsgleichungen, z. B. aus der Van-der-Waals-Gleichung, berechnet werden [238]. Bei dieser Extrapolation der thermodynamischen Zustandsgleichungen in

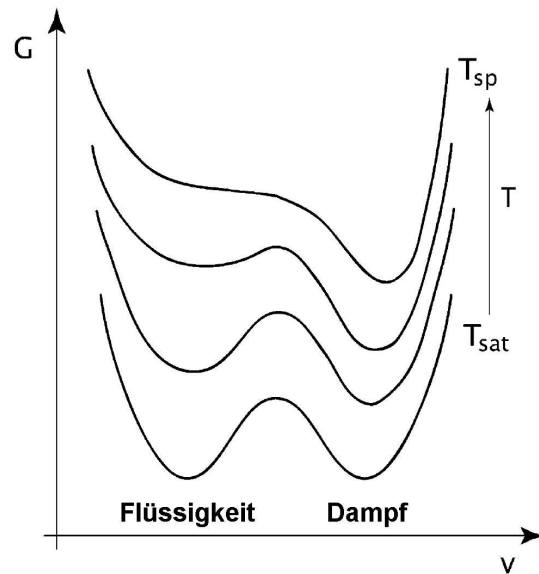


Abbildung 3.3: Qualitativer Verlauf der freien Enthalpie als Funktion des spezifischen Volumens $v = 1/\rho$ bei verschiedenen Temperaturen und konstantem Druck nach Vogel und Venugopalan [256]. Bei Temperaturen, die zwischen der Binodalen T_{sat} und der Spinodalen T_{sp} liegen, besitzen sowohl der flüssige als auch der gasförmige Zustand ein relatives Enthalpieminimum, so daß zwei stabile Zustände existieren. Erst nach Überwinden der Energiebarriere kann der metastabile flüssige Zustand in den energetisch günstigeren gasförmigen Zustand umgewandelt werden. An der Spinodalen verschwindet das relative Minimum für den flüssigen Zustand. Er wird instabil.

den metastabilen Bereich stellt sich die Frage nach ihrer Gültigkeit, denn dieser Bereich ist aufgrund der Metastabilität experimentell nur schwer zugänglich. Man erhält jedoch unter Verwendung verschiedener Zustandsgleichungen ähnliche Werte für die Spinodale [238, 220]. Bei Normaldruck gilt nach Blander und Katz [26] für in Kelvin angegebene Temperaturen die Abschätzung

$$T_{sp}(p_0) \approx 0.9T_c, \quad (3.23)$$

so daß für Wasser, das nach Anhang A.1.2 eine kritische Temperatur von $T_c = 647K$ besitzt, bei Normaldruck eine spinodale Temperatur von etwa $T_{sp}(p_0) \approx 309^\circ C$ zu erwarten ist [238, 41]. Diese Temperatur stimmt etwa mit den gemessenen Werten für die maximalen Temperaturen, die für flüssiges Wasser bei Normaldruck erreicht wurden, überein. So sind Wassertropfen, die in flüssigem Benzylbenzoat eingebettet wurden, bei $279.5^\circ C$ für mehrere Minuten im flüssigen Zustand stabil [14]. Bei transienten Siedevorgängen auf erhitzten Platindrähten wurde bei einer Heizrate von $86 \cdot 10^6 K/s$ eine Nukleationstemperatur von $303^\circ C$ gemessen [80].

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß der Phasenübergang flüssig – gasförmig für Wasser aus energetischen Gesichtspunkten und Stabilitätsgründen nur im Bereich zwischen Binodaler und Spinodaler ablaufen kann, was bei Normaldruck dem Temperaturbereich von 100°C bis 309°C entspricht. Unter welchen Bedingungen ein Überwinden der Energiebarriere für den Phasenübergang möglich ist, wird in den beiden folgenden Abschnitten analysiert.

3.4.2 Freie Enthalpie und spinodale Dekomposition

Da an der Spinodalen die Energiebarriere der freien Enthalpie für den Phasenübergang verschwindet³ (Abb. 3.3), wird die Flüssigkeit bei der spinodalen Temperatur T_{sp} instabil gegenüber beliebig kleinen Dichtefluktuationen. Das Verschwinden der Energiebarriere an der Spinodalen weist trotz endlicher Entropiediskontinuität⁴ ΔS Ähnlichkeiten zu einem Phasenübergang 2. Ordnung auf, so daß nach aus der Wiese eine Modellierung des Phasenübergangs mit Hilfe der Landau-Theorie möglich ist [259], die strenggenommen nur für Phasenübergänge 2. Ordnung gilt [128]. Im Rahmen dieser Theorie divergiert bei Erreichen der Spinodalen die Korrelationslänge von Dichteschwankungen in der Flüssigkeit, was physikalisch bedeutet, daß die Ausbreitung von Dichteschwankungen, die wiederum durch statistische Fluktuationen entstehen, nicht ausreichend gedämpft wird. Aus diesem Grund zerfällt die Flüssigkeit an der Spinodalen aufgrund wachsender Dichteschwankungen in zwei Phasen. Diesen Vorgang der Phasenseparation eines thermodynamisch instabilen Zustands nennt man spinodale Dekomposition oder auch spinodale Entmischung.

Formal wird der Phasenübergang an der Spinodalen mit Hilfe einer Dichtefunktionaltheorie beschrieben, so daß Dichtefluktuationen beliebiger Form berücksichtigt werden [128, 24], d. h. es kann sich sowohl um räumlich ausgedehnte Fluktuationen mit kleiner Dichteänderung als auch um stark lokalisierte Fluktuationen mit großer Dichteschwankung handeln, die dann zum Phasenübergang führen [259]. Dieses sehr allgemeine Konzept zur Beschreibung des Phasenübergangs läßt sich nur mit Hilfe molekuldynamischer Modelle simulieren [219]. Molekuldynamische Simulationen zeigen, daß der Phasenübergang an der Spinodalen typischerweise auf Zeitskalen in der Größenordnung von $\lesssim 100\text{ps}$ abläuft [47, 73, 57, 56]. Für eine umfassende Darstellung der theoretischen Aspekte der spinodalen Dekomposition im Rahmen der Dichtefunktionaltheorie sei auf die Darstellung von Onuki [175] verwiesen.

Da molekuldynamische Simulationen mathematisch sehr aufwendig sind, wird häufig auf die klassische Nukleationstheorie zurückgegriffen. Die klassische Nukleationstheorie, die im folgenden Abschnitt vorgestellt wird, ist mathematisch

³Dabei wird die restliche Verdampfungswärme durch die chemische Potentialdifferenz zwischen flüssiger und gasförmiger Phase kompensiert.

⁴Die Entropiediskontinuität ΔS verschwindet erst am kritischen Punkt.

einfacher zu handhaben als die Dichtefunktionaltheorie oder molekulardynamische Modelle, weil nur stark lokalisierte Dichtestörungen in Form von sphärischen Dampfblasen berücksichtigt werden. Dieses mikroheterogene System, das aus Flüssigkeit und Dampfblasen besteht, wird dann mit Hilfe der klassischen Gleichgewichtsthermodynamik beschrieben.

3.4.3 Klassische Nukleationstheorie

Der Vorteil der klassischen Nukleationstheorie [238, 220, 47, 41], bei der Dichtefluktuationen innerhalb der flüssigen Phase als sphärische Dampfblasen modelliert werden, liegt darin, daß man analytische Gleichungen für die Kinetik des Phasenübergangs erhält. Außerdem läßt sich das im folgenden beschriebene Konzept der homogenen Nukleation im Flüssigkeitsvolumen innerhalb der klassischen Nukleationstheorie mit wenig Aufwand auf Nukleationsvorgänge an Partikeloberflächen übertragen. Bei Nukleationsvorgängen an Grenzflächen unterscheidet man zwischen heterogener Nukleation, bei der die Keimblasen, die zum Phasenübergang führen, allein aufgrund thermodynamischer Fluktuationen entstehen, und inhomogener Nukleation, bei der stabile Dampf- bzw. Gastaschen auf der angrenzenden Festkörperoberfläche als Keime für den Phasenübergang fungieren. Insbesondere ermöglicht die klassische Theorie für heterogene und inhomogene Nukleation eine Abschätzung der erwarteten Nukleationstemperatur in Abhängigkeit von der Oberflächenbeschaffenheit, so daß die im Verlauf dieser Arbeit erbrachten experimentellen Ergebnisse zur Nukleation an lasererhitzten Mikropartikeln mit der klassischen Nukleationstheorie verglichen werden können.

Homogene Nukleation

Bei der homogenen Nukleation geht man davon aus, daß Dampfblasen im Flüssigkeitsvolumen, die aufgrund thermodynamischer Fluktuationen entstehen, den Phasenübergang bewirken. Die freie Enthalpie einer Dampfblase ist in Abb. 3.4 dargestellt. Das temperaturabhängige Enthalpiemaximum für die Dampfblase stellt ein instabiles thermodynamisches Gleichgewicht dar. Ist die Blase geringfügig kleiner als ihr Gleichgewichtsradius R_e , kollabiert sie vollständig. Bei einer geringfügigen Vergrößerung wächst sie über alle Grenzen, was makroskopisch als Phasenübergang gedeutet wird. Eine Keimblase, die aufgrund thermodynamischer Fluktuationen entsteht, muß also das in Abb. 3.4 dargestellte Enthalpiemaximum überwinden, um unbegrenzt wachsen zu können. Der temperaturabhängige (instabile) Gleichgewichtsradius R_e für eine Dampfblase ist nach Carey [41] durch

$$R_e(T, p_l) = \frac{2\sigma(T)}{\eta(T) p_{sat}(T) - p_l} \quad (3.24)$$

mit $\eta(T_l) = \exp\left(\frac{p_l - p_{sat}(T)}{\rho(T) R_x T}\right)$

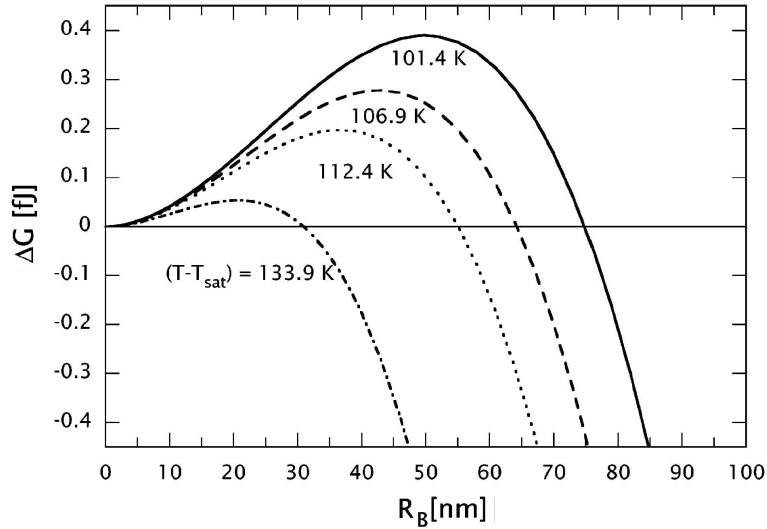


Abbildung 3.4: Freie Enthalpie als Funktion des Blasenradius in Wasser nach Vogel und Venugopalan [256]. Die für den Phasenübergang zu überwindende Energiebarriere des Blasenkeims mit dem Radius R_B nimmt mit steigender Temperatur ab. $T_{sat} = 100^\circ\text{C}$ ist die Gleichgewichtsverdampfungstemperatur bei Normaldruck. Der Blasenradius im Maximum der Kurven entspricht jeweils dem (instabilen) Gleichgewichtsradius $R_e(T, p_l)$ aus Gl. 3.24.

mit der spezifischen Gaskonstante R_x gegeben. Physikalisch bedeutet der Enthalpieverlauf aus Abb. 3.4 für Blasen mit $R_B < R_e$, daß der Gleichgewichtsdampfdruck im Inneren der Blase $p_{ve} = \eta p_{sat}$ abzüglich des statischen Umgebungsdrucks p_l nicht ausreicht, um die Oberflächenspannung σ der Flüssigkeit zu überwinden. In diesem Fall kollabiert die Blase. Die Energiebarriere für die Nukleation ist also in der klassischen Nukleationstheorie durch die Oberflächenspannung der Keimblase begründet.

Der temperaturabhängige Gleichgewichtsradius R_e bei Normaldruck wurde nach Gl. 3.24 unter Zuhilfenahme der temperaturabhängigen Flüssigkeitseigenschaften von Wasser aus dem Anhang A.2.1 mit der Mathematik-Software Mathematica 4 berechnet und ist in Abb. 3.5 dargestellt. Der Gleichgewichtsradius R_e nimmt mit steigender Temperatur ab, was bedeutet, daß die Keimblasen, die für eine Initiierung des Phasenübergangs notwendig sind, mit steigender Temperatur kleiner werden. Dieser Sachverhalt geht mit der Abnahme der Energiebarriere für den Phasenübergang bei steigender Temperatur einher, die in den Abb. 3.3 und 3.4 veranschaulicht wird.

Die Anzahl der kritischen Blasen, die aufgrund thermodynamischer Energiefluktuationen die Energiebarriere ($R_B > R_e$) für die Nukleation überwinden können, wird mit Hilfe einer Boltzmann-Verteilung der zur Nukleation benötigten

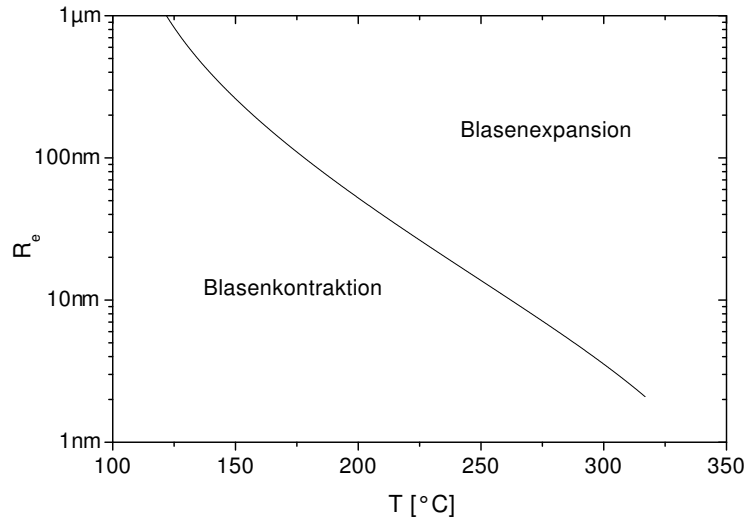


Abbildung 3.5: Nach Gl. 3.24 berechneter Blasenradius R_e im instabilen thermodynamischen Gleichgewicht bei Normaldruck $p_0 = 0.1013 \text{ MPa}$. R_e trennt die Instabilitätsgebiete der Blase, in der eine Blasenkontraktion bzw. eine Blasenexpansion stattfindet.

freien Enthalpie ($\propto \exp(-\Delta G(R_e)/k_B T)$) abgeschätzt. Man erhält nach Carey [41] für die volumetrische Keimbildungsrate in der Flüssigkeit

$$J_{hom}(T, p) = N \sqrt{\frac{3\sigma(T, p)}{\pi m}} \exp\left(\frac{-16\pi\sigma(T, p)^3}{3k_B T (\eta p_{sat}(T) - p)^2}\right). \quad (3.25)$$

Die bei Normaldruck nach Gl. 3.25 berechnete temperaturabhängige volumetrische Keimbildungsrate $J_{hom}(T, p_0)$ ist in Abb. 3.6 dargestellt. Sie zeigt eine sehr starke Temperaturabhängigkeit. Die Keimbildungsrate ändert sich um mehrere Größenordnungen bei einer Temperaturänderung von nur wenigen Grad Celsius.

Um herauszufinden, ob eine homogene Nukleation in einem Volumen V bei einer gegebenen zeitabhängigen Temperaturverteilung $T(\mathbf{r}, t)$ und konstantem Druck p wahrscheinlich ist, muß der Erwartungswert für die Keimanzahl bestimmt werden, der sich durch

$$n = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_V J_{hom}(T(\mathbf{r}, t), p) dV dt \quad (3.26)$$

berechnen läßt. Die Schwelle für Nukleation wird bei einem Erwartungswert für die Keimanzahl von

$$n = 0.5 \quad (3.27)$$

festgelegt. Bei diesem Wert besteht eine Wahrscheinlichkeit von 50% für die Existenz eines kritischen Nukleationskeims, der die Energiebarriere überwinden kann

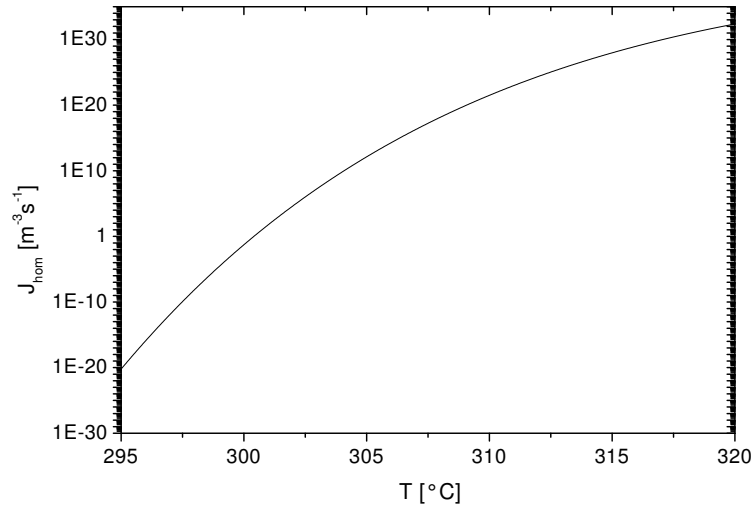


Abbildung 3.6: Nach Gl. 3.25 bei Normaldruck $p_0 = 0.1013\text{MPa}$ berechnete volumetrische Keimbildungsrate $J_{hom}(T, p_0)$ für kritische Blasenkeime, die zur homogenen Nukleation führen.

und somit unbegrenzt wächst. Je nach erhitztem Volumen und Dauer der Erhitzung erhält man bei Normaldruck p_0 Nukleationstemperaturen, die typischerweise im Bereich von $305^{\circ}\text{C} - 320^{\circ}\text{C}$ liegen. Dabei ist aus Gl. 3.26 zu entnehmen, daß mit zunehmendem Flüssigkeitsvolumen und längerer Dauer der Temperaturerhöhung eine niedrigere Keimbildungsrate J_{hom} für das Erreichen der Nukleationsbedingung $n = 0.5$ erforderlich ist. Deshalb nimmt die Nukleationstemperatur mit zunehmenden Volumen und längerer Erhitzungsdauer ab. Dieser mit Hilfe der homogenen Nukleationstheorie berechnete Bereich für die Nukleationstemperaturen von $305^{\circ}\text{C} - 320^{\circ}\text{C}$ stimmt mit der nach Gl. 3.23 abgeschätzten spinodalen Temperatur von $T_{sp} \approx 309^{\circ}\text{C}$, die die thermodynamische Stabilitätsgrenze von Wasser darstellt, gut überein [238].

Es ist an dieser Stelle allerdings anzumerken, daß die klassische Nukleationstheorie thermodynamisch inkonsistent ist, weil im Vergleich zur Dichtefunktionaltheorie in Abschnitt 3.4.2 nur eine bestimmte Klasse von Dichtefluktuationen, nämlich Dampfblasen, berücksichtigt werden. Wie in Abbildung A.4 des Anhangs dargestellt ist, verschwindet die Oberflächenspannung von Wasser erst bei der kritischen Temperatur T_c und nicht bei der spinodalen Temperatur T_{sp} , was zur Folge hat, daß die Energiebarriere $\Delta G(R_e)$ für den Phasenübergang im Gegensatz zur exakten Dichtefunktionaltheorie bei der klassischen Nukleationstheorie an der Spinodalen nicht verschwindet [219]. Es handelt sich also bei der klassischen Nukleation immer um einen durch thermodynamische Fluktuationen aktivierten Vorgang. Die Dichtefunktionaltheorie beinhaltet hingegen auch die spinodale Dekomposition, bei der aufgrund des Verschwindens der Energiebarriere

re für den Phasenübergang an der Spinodalen auch ein nicht aktiviertes, spontanes Relaxieren des überhitzten Wassers in zwei Phasen möglich ist.

Heterogene Nukleation

Die Keimbildungsraten für die heterogene Nukleation werden analog zur homogenen Nukleation ermittelt. Da die heterogene Nukleation durch thermodynamische Fluktuationen an Grenzflächen verursacht wird, muß hierfür das Modell der homogenen Nukleation um den Einfluß der Grenzfläche eines Festkörpers erweitert werden. Analog zur homogenen Nukleation wird die freie Enthalpie für die Blasenbildung an Oberflächen berechnet [41]. Hierbei muß die Benetzbarkeit der Festkörperoberfläche in Form des Kontaktwinkels Θ berücksichtigt werden, den die Oberfläche mit dem Wasserdampf in der Blase und der umliegenden Flüssigkeit im thermodynamischen Gleichgewicht bildet (Abb. 3.7). Krümmungen der

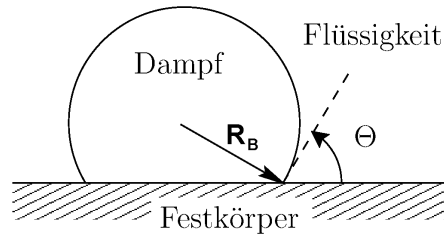


Abbildung 3.7: Definition des Kontaktwinkels.

Oberfläche werden vernachlässigt. Kontaktwinkel besitzen oftmals eine Temperaturabhängigkeit und zeigen zusätzlich Hysterese-Effekte [4]. Diese Effekte sowie zusätzliche Verschmutzungen der Oberfläche erschweren oftmals die exakte Bestimmung von Kontaktwinkeln [4]. Jedoch besitzen trotz dieser Meßunsicherheiten die Kontaktwinkel für fast alle Materialien Werte unterhalb von 110° [4]. Nach Carey [41] erhält man für die Keimbildungsrate einer Flüssigkeit an einer Grenzfläche zu einem Festkörper

$$J_{het}(T, p, \Theta) = N^{\frac{2}{3}} \frac{1 + \cos \Theta}{F(\Theta)} \sqrt{\frac{3F(\Theta)\sigma}{\pi m}} \exp\left(\frac{-16\pi F(\Theta)\sigma^3}{3k_B T (\eta p_{sat} - p)^2}\right) \quad (3.28)$$

mit $F(\Theta) = \frac{1}{4}(1 + \cos^2 \Theta)(2 - \cos \Theta)$.

In Abb. 3.8 ist die nach Gl. 3.28 berechnete Keimbildungsrate für heterogene Nukleation J_{het} bei diversen Kontaktwinkeln dargestellt. Sie zeigt qualitativ ein ähnliches Verhalten wie die homogene Keimbildungsrate in Abb. 3.6. Jedoch nimmt bei der heterogenen Nukleation die Keimbildungsrate mit steigendem Kontaktwinkel zu, so daß sich die Kurve für die Keimbildungsraten bei der heterogenen

Nukleation mit zunehmendem Kontaktwinkel zu niedrigeren Temperaturen verschiebt.

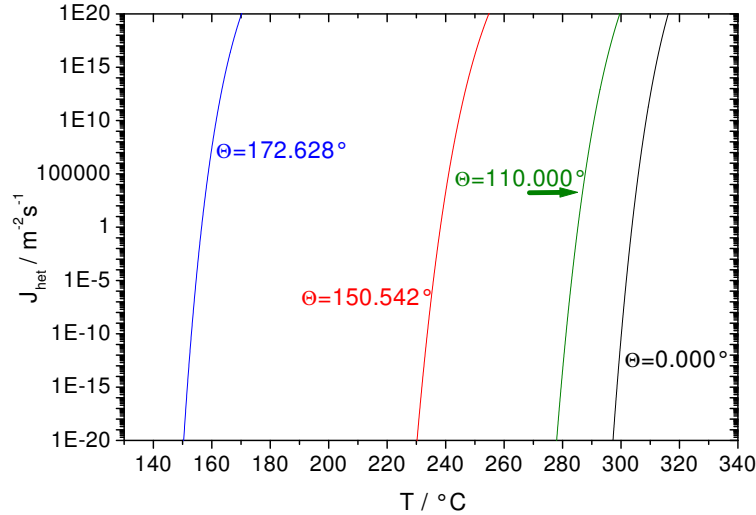


Abbildung 3.8: Nach Gl. 3.28 bei Normaldruck $p_0 = 0.1013 \text{ MPa}$ berechnete Keimbildungsraten $J_{het}(T, p_0, \Theta)$ für die heterogene Nukleation bei unterschiedlichen Kontaktwinkeln.

Der Erwartungswert für die Keimanzahl in einem durch Festkörper begrenzten Flüssigkeitsvolumen setzt sich aus dem Erwartungswert für die Keimanzahl bei heterogener Nukleation an der Grenzfläche und den Erwartungswert für die Keimanzahl bei homogener Nukleation im Volumen zusammen. Für eine homogen geheizte Kugel mit dem Radius R in einem unendlich ausgedehnten Flüssigkeitsvolumen erhält man bei konstantem Druck einen Erwartungswert für die Keimanzahl von

$$n = \int_{-\infty}^{\infty} \int_R^{\infty} J_{hom}(T(r, t), p) 4\pi r^2 dr + J_{het}(T(R, t), p, \Theta) 4\pi R^2 dt. \quad (3.29)$$

3.4.4 Inhomogene Nukleation

Im Gegensatz zu den homogenen und heterogenen Nukleationsmechanismen, bei denen die Blasenkeime allein aufgrund thermodynamischer Fluktuationen entstehen, nimmt man bei der inhomogenen Nukleation an, daß sich Keime aus nicht kondensierbarem Gas oder Dampf an der Festkörperoberfläche, die das Flüssigkeitsvolumen begrenzt, stabilisieren können (Abb. 3.9). An rauen Oberflächen kann die Anlagerung von Gas geometrisch begünstigt sein, so daß Wasserdampf unter bestimmten Geometrien auch bei Normaltemperatur und Normaldruck an der Festkörperoberfläche existieren kann [238]. Andere Modelle nehmen an, daß die Grenzfläche dieser Keimblasen zum Wasser durch Ionen oder organische Substanzen stabilisiert wird [45], so daß keine Diffusion von Gas aus der Blase in die

umliegende Flüssigkeit stattfinden kann. Zusätzlich zu den stabilisierten Keimblasen werden durch hochenergetische Teilchen aus der kosmischen Strahlung ständig neue Keimblasen erzeugt [45].

In der Praxis ist es kaum möglich, eine Oberfläche vollständig von gasförmigen Nukleationskeimen zu befreien. Experimentell wurden grenzflächenstabilisierte Nanoblasen im Wasser auch auf ultraflachen (relativ gut benetzbaren) Goldoberflächen mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie nachgewiesen [100]. Diese Keime verschwanden zwar während einer Ethanolspülung aufgrund der besseren Benetzungsfähigkeit des Ethanols, aber sie tauchten bei erneutem Kontakt der Oberfläche mit Wasser wieder auf, ohne daß die Oberfläche zwischenzeitlich der Umgebungsluft ausgesetzt war. In diesem Fall wird vermutet, daß das Gas für die oberflächenstabilisierten Nanoblasen zuvor im Wasser gelöst war [100]. Diese These wird dadurch gestützt, daß die Blasendichte von der Gaskonzentration im Wasser abhängt und mit steigender Temperatur stark zunimmt [270]. Auf hydrophilen Glimmeroberflächen wurde bei Raumtemperatur für nicht entgastes Wasser eine Blasendichte von etwa 3 Blasen pro Quadratmikrometer ermittelt. Die typische laterale Blasenausdehnung lag bei etwa 50nm [270]. Auf hydrophoben Oberflächen ($\Theta = 101^\circ$) wurden etwas größere Blasen mit typischen lateralen Durchmessern von etwa 100nm und Höhen von etwa 20nm beobachtet [244, 17]. Diese bedeckten fast die gesamte Oberfläche.

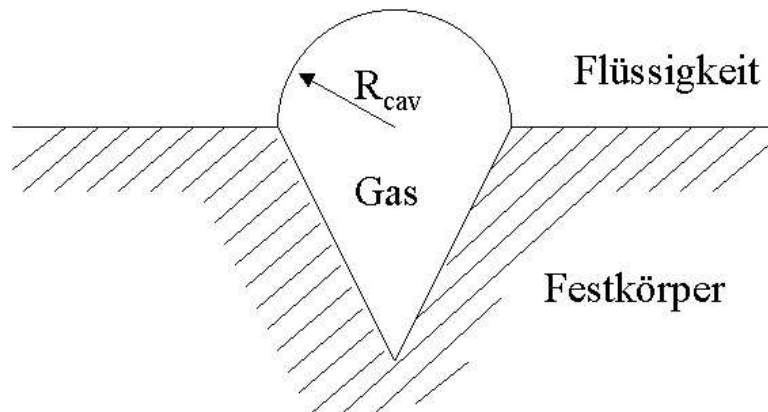


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung einer Gasblase an einer mit Flüssigkeit benetzten Festkörperoberfläche.

Wird die Flüssigkeit durch die Festkörperoberfläche geheizt, stellt sich ein Temperaturgradient in der angrenzenden Flüssigkeit ein. Vernachlässigt man die Oberflächenrauigkeit des Festkörpers und geht davon aus, daß sich in den Gasblasen auf der Festkörperoberfläche nur Wasserdampf befindet, läßt sich der Größenbereich der aktiven Keime, die als halbkugelförmig angenommen werden (Abb. 3.9), mit Hilfe der inhomogenen Nukleationstheorie von Hsu [102] abschätzen. Bei dieser Abschätzung nimmt man an, daß an der Festkörpergrenzfläche stabilisierte Blasenkeime bei einer inhomogenen Temperaturverteilung nur dann

aktiviert werden können, wenn der Blasenkeim mit dem Radius r zu irgendeinem Zeitpunkt vollständig von Flüssigkeit umgeben ist, die wärmer ist als die Temperatur $T_e(r)$, bei der sich der Blasenkeim mit dem Radius r nach Gl. 3.24 im thermodynamischen Gleichgewicht befindet. Für ein kugelförmiges Partikel mit dem Radius R erhält man die Bedingung

$$T_e(r) < \max_t \{T(t, R+r)\}. \quad (3.30)$$

Dieses Kriterium von Hsu schränkt den Größenbereich der aktiven Keime für eine inhomogene Nukleation an einer (transient) geheizten Oberfläche ein, d. h. es gibt für Siedeprozesse, bei dem der Heizvorgang über eine Grenzfläche erfolgt, sowohl einen unteren Schwellenwert für die Keimgröße, oberhalb dessen Keime aktiviert werden, als auch einen oberen Schwellenwert für die Keimgröße. Dieser Sachverhalt ist in Abb. 3.10 schematisch dargestellt.

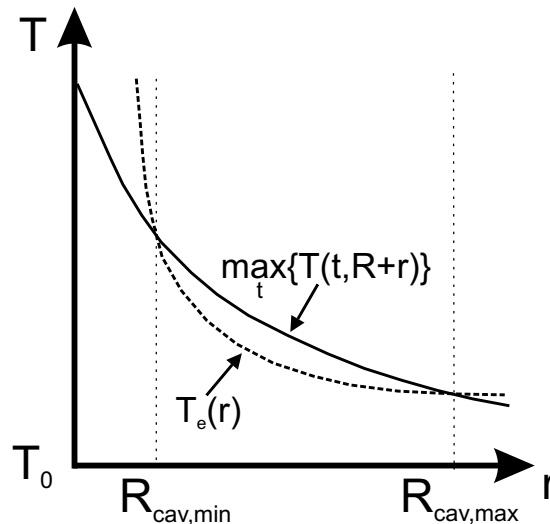


Abbildung 3.10: Schematische Darstellung des Kriteriums von Hsu (Gl. 3.30) in der wässrigen Umgebung eines kugelförmigen Partikels mit dem Radius R . Sobald die Temperatur zu irgendeinem Zeitpunkt oberhalb der Keimaktivierungstemperatur $T_e(r)$ liegt ($\max\{T(t, R+r), t\}$), kann eine Nukleation stattfinden – sofern Blasenkeime mit dem Radius r vorhanden sind. Man erkennt in dem Graphen, daß das Kriterium von Hsu den kritischen Keimblasenradius für eine inhomogene Nukleation auf den Bereich zwischen $R_{cav,min}$ und $R_{cav,max}$ einschränkt.

3.5 Blasendynamik bei Siedevorgängen

Nachdem im vorherigen Abschnitt die Nukleationsmechanismen vorgestellt wurden, welche die notwendigen Bedingungen für den Phasenübergang vorgeben, soll in diesem Abschnitt die Blasendynamik beschrieben werden, die im Anschluß an die Nukleation stattfindet [167, 168, 226, 227, 34, 123, 137, 41]. Zunächst wird das Rayleigh-Plesset-Modell vorgestellt, das als einfaches Modell zur Beschreibung der Bewegung der Blasengrenzfläche dient. Als Grenzfälle des Rayleigh-Plesset-Modells werden die trägheitsbegrenzte und die wärmediffusionsbegrenzte Blasendynamik betrachtet. Im weiteren wird das Blasenwachstum bei inhomogenen Temperaturverteilungen, wie sie bei der Partikelbestrahlung aufgrund von Wärmeleitung in die Flüssigkeit entstehen, qualitativ beschrieben. Danach werden Modelle, die speziell für das Blasenwachstum um lasererhitzte Partikel entwickelt wurden, vorgestellt. Abschließend wird auf die Entstehung von Drucktransienten in der umliegenden Flüssigkeit infolge der Blasendynamik eingegangen.

3.5.1 Rayleigh-Plesset-Modell

Das Rayleigh-Plesset-Modell beschreibt die Dynamik einer sphärischen Blase, deren Phasengrenzfläche zwischen Flüssigkeit und Gas sich im Abstand R_B vom Blasenmittelpunkt befindet. Die zugehörige Differentialgleichung des Rayleigh-Plesset-Modells⁵ läßt sich aus der Navier-Stokes-Gleichung unter Zuhilfenahme der Massenerhaltung herleiten [34]. Man erhält

$$R_B \ddot{R}_B + \frac{3}{2} \dot{R}_B^2 = \frac{1}{\rho} \left(p_v - \frac{2\sigma}{R_B} - 4\mu \frac{\dot{R}_B}{R_B} - p_0 \right) \quad (3.31)$$

$$\approx \frac{1}{\rho} (p_v(t) - p_0) = \frac{\Delta p}{\rho}. \quad (3.32)$$

Im Rayleigh-Plesset-Modell wird der Druck in der Blase als homobar, d. h. nicht ortsabhängig, angenommen. Da sich Druckstörungen mit Schallgeschwindigkeit ausbreiten, ist die homobare Näherung nur dann gültig, wenn bei der radialen Bewegung der Phasengrenzfläche die Gasgeschwindigkeit u in der Blase klein gegenüber der Schallgeschwindigkeit im Gas $c_s^{(g)}$ bleibt. In der Literatur wird eine homobare Näherung bei Machzahlen von

$$M_g = \frac{u}{c_s^{(g)}} \leq 0.3$$

verwendet [6]. Außerdem wird im Rayleigh-Plesset-Modell die Flüssigkeit in der Umgebung der Blase als inkompressibel angenommen, so daß der Energieverlust der Blase durch die Schallabstrahlung vernachlässigt wird. Diese Näherung ist nur

⁵ *auch*: RPNNP (Rayleigh-Plesset-Noltingk-Neppiras-Poritsky) Modell

dann erfüllt, wenn die Geschwindigkeit der Blasengrenzfläche klein gegenüber der Schallgeschwindigkeit in der Flüssigkeit $c_s^{(l)}$ ist

$$M_l = \frac{\dot{R}_B}{c_s^{(l)}} \ll 1.$$

Die zusätzliche Berücksichtigung der Schallabstrahlung, die die Modellierung einer kompressiblen Flüssigkeit voraussetzt, führt auf das Gilmore-Modell für die Blasendynamik [185].

Im Rayleigh-Plesset-Modell wird auf eine explizite Modellierung des latenten Wärmeflusses durch den Phasenübergang an der Blasengrenzfläche verzichtet. Dieser beeinflusst durch Verdampfung oder Kondensation an der Blasengrenzfläche die Bewegung der Phasengrenzfläche zusätzlich geringfügig [188]. Allerdings kann wegen des Verzichts auf die explizite Modellierung des Phasenübergangs im Rayleigh-Plesset-Modell der starke Einfluß des Phasenübergangs auf den Dampfdruck in der Blase $p_v(t)$ nur anhand von Grenzfällen abgeschätzt werden.

Zur vereinfachten Beschreibung der Vorgänge bei der Blasenexpansion bzw. -kontraktion vernachlässigt man oftmals den Einfluß von Viskosität μ und Oberflächenspannung der Flüssigkeit σ , so daß man die (einfache) Rayleigh-Gleichung (Gl. 3.32) erhält. Im folgenden werden zwei asymptotische Grenzfälle der Rayleigh-Gleichung betrachtet: die trägheitsbegrenzte und die wärmediffusionsbegrenzte Blasendynamik.

Trägheitsbegrenzte Blasendynamik

Bei der trägheitsbegrenzten Blasendynamik geht man davon aus, daß die Temperatur in der Blase den Wert der Umgebungstemperatur annimmt ($T_v = T_0$) und der Blaseninnendruck dem Sättigungsdampfdruck $p_v = p_{sat}(T_0)$, der sich aus der Umgebungstemperatur ergibt, entspricht. Der Blaseninnendruck wird als zeitlich konstant angenommen. Es herrschen also mit $\Delta p = p_v - p_0 = const.$ isobare Bedingungen in der Blase. Nach Plesset [185] erhält man unter der Voraussetzung $\Delta p = const.$ aus der Rayleigh-Plesset-Gleichung 3.31 mit den Anfangsbedingungen $R_B = R_{B0}$ und $\dot{R}_B = 0$ unter Vernachlässigung der Viskosität μ für die Bewegung der Blasengrenzfläche

$$\dot{R}_B^{in} = \text{sgn}(\Delta p) \sqrt{\frac{2}{3} \frac{\Delta p}{\rho} \left(1 - \left(\frac{R_{B0}}{R_B} \right)^3 \right) - \frac{2\sigma}{\rho R_B} \left(1 - \left(\frac{R_{B0}}{R_B} \right)^2 \right)}. \quad (3.33)$$

Man kann aus Gl. 3.33 entnehmen, daß die Druckdifferenz Δp zwischen Blaseninnerem und Umgebung – korrigiert um Oberflächenspannungseffekte – die Blasendynamik maßgeblich bestimmt. Man spricht von trägheitsbegrenzter Blasendynamik.

Bei der trägheitsbegrenzten Blasenexpansion bedeutet ein konstanter Blaseninnendruck anschaulich, daß der Massetransport in die Blase durch Verdampfung

von Flüssigkeit an der Blasengrenzfläche die Druckerniedrigung, die durch Expansion des Blasen Volumens entsteht, kompensiert. Mit $p_v = p_{sat}(T_0)$ herrscht bei der Blasenexpansion der maximal mögliche Druck in der Blase. Diese Bedingung ist bei Siedevorgängen in stark überhitztem Wasser gegeben, bei der der latente Wärmefluß, d. h. die Abkühlung der Blasengrenzfläche durch die latente Verdampfungswärme wegen der starken Überhitzung des umgebenden Wassers vernachlässigbar ist ($\Delta p \gg 0$).

Analog liegt eine trägheitsbegrenzte Blasenkontraktion vor, wenn der Masse-transport aus der Blase durch Kondensation an der Blasengrenzfläche die Druck-erhöhung, die durch die Kontraktion des Blasen Volumens entsteht, ausgleicht. Es herrscht mit $p_v = p_{sat}(T_0)$ der minimal mögliche Druck in der Blase. Diese Bedingung liegt beim Blasen kollaps von Dampfblasen in Flüssigkeiten mit Tem-peraturen weit unterhalb der Siedetemperatur vor ($\Delta p \ll 0$).

Unter Vernachlässigung der Oberflächenspannung σ erhält man aus Gl. 3.33 für die trägheitsbegrenzte Blasenexpansion ($\Delta p \gg 0$) in stark überhitzten Flüssigkeiten mit räumlich homogener Temperaturverteilung eine asymptotische Ex-pansionsgeschwindigkeit der Blasengrenzfläche von

$$\left(\frac{dR_B}{dt}\right)_{in,\infty} = \lim_{\substack{R_B \rightarrow \infty \\ \sigma \rightarrow 0}} \dot{R}_B^{in} \approx \sqrt{\frac{2\Delta p}{3\rho}}. \quad (3.34)$$

Diese asymptotische Blasenexpansionsgeschwindigkeit hängt nur von der Druck-differenz Δp zwischen Blaseninnerem und Umgebungsdruck ab. Nach Integration dieser Blasenexpansionsgeschwindigkeit im Zeitbereich folgt, daß der Blasenradi-us im asymptotischen Grenzfall linear mit der Zeit wächst

$$R_B \propto t.$$

Die asymptotische Blasenexpansionsgeschwindigkeit in überhitztem Wasser nach Gl. 3.34 ist in Abb. 3.11 aufgetragen. Unter Vernachlässigung der Oberflächen-spannung und der Viskosität der Flüssigkeit läßt sich die mechanische Energie der Blase anhand der verrichteten Volumenarbeit durch

$$E_B = V \Delta p = \frac{4}{3}\pi R_{B,max}^3 (p_0 - p_v) \quad (3.35)$$

abschätzen. Beim trägheitsbegrenzten Blasenwachstum wächst die Blasenenergie mit $E_B \propto t^3$. Weil der Blase irgendwann nicht mehr genügend schnell Energie aus der Flüssigkeit zugeführt werden kann, verlangsamt sich das trägheitsbegrenzte Blasenwachstum während der Blasenexpansion. Dieses Phänomen wird im Ab-schnitt zur wärmediffusionsbegrenzten Blasendynamik detaillierter dargestellt.

Betrachtet man ausgehend von der Bewegungsgleichung für die Blasenwand-geschwindigkeit (Gl. 3.33) den Blasen kollaps, so zeigt sich hier mit dem Grenz-fall $\lim_{R_B \rightarrow 0} \left| \dot{R}_B^{in} \right| = \infty$ ein unphysikalisches asymptotisches Verhalten. In der

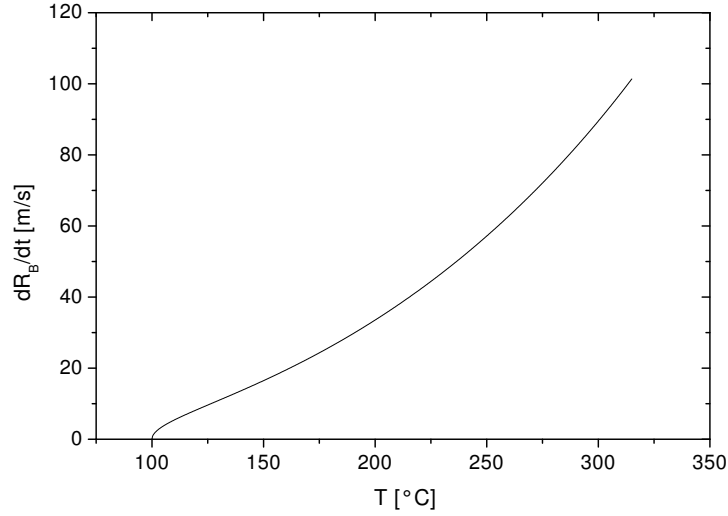


Abbildung 3.11: Nach Gl. 3.34 berechnete Temperaturabhängigkeit der asymptotischen Blasenexpansionsgeschwindigkeit für trägheitsbegrenzttes Wachstum in überhitztem Wasser. Die Sättigungsdampfdrücke $p_{sat}(T)$ zur Berechnung der Druckdifferenz $\Delta p = p_{sat}(T) - p_0$ sind im Anhang A.2.1 zu finden.

Praxis tritt es aber nicht auf, weil in den späteren Stadien des Blasen kollaps die Bedingung $\Delta p = const.$ nicht mehr aufrecht erhalten werden kann. Außerdem werden die Blasenwandgeschwindigkeit und die Gasgeschwindigkeit in der Blase vergleichbar mit der Schallgeschwindigkeit, so daß Effekte wie die Flüssigkeitskompressibilität, die bei der Rayleigh-Plesset-Gleichung nicht berücksichtigt werden, nicht mehr vernachlässigbar sind.

Führt man trotzdem eine Integration des Kehrwertes der trägheitsbegrenzten asymptotischen Blasenkontraktionsgeschwindigkeit \dot{R}_B^{in} aus Gl. 3.33 unter Vernachlässigung der Oberflächenspannung beginnend von der maximalen Blasen ausdehnung $R_{B0} = R_{B,max}$ bis zum Verschwinden der Blase $R_B = 0$ durch, so erhält man nach Nigmatulin [167] für die Kollapszeit der Blase

$$\tau_{Kollaps} = \int_{R_{B,max}}^0 \frac{dR_B}{\dot{R}_B^{in}} \approx - \int_{R_{B,max}}^0 \frac{dR_B}{\sqrt{\frac{2}{3} \frac{\Delta p}{\rho} \left(1 - \left(\frac{R_{B,max}}{R_B} \right)^3 \right)}} \approx 0.915 \sqrt{\frac{\rho}{\Delta p}} R_{B,max}. \quad (3.36)$$

Diese Beziehung zwischen Dauer des Blasen kollapses und der Blasengröße zum Zeitpunkt maximaler Blasen ausdehnung stimmt bei der trägheitsbegrenzten Blasendynamik, z. B. im Falle von laserinduzierten Kavitationsblasen, gut mit experimentellen Ergebnissen überein [136]. Für eine Blase, deren trägheitsbegrenzte Dynamik zeitlich symmetrisch verläuft, d. h. bei denen die für die Blasenexpansi-

on und Blasenkontraktion benötigten Zeiträume gleich sind, wird Gl. 3.36 oftmals auf den Zusammenhang

$$\tau_{Blase} = 2\tau_{Kollaps} = 0.915 \sqrt{\frac{\rho}{\Delta p}} 2R_{B,max} = 0.915 \sqrt{\frac{\rho}{\Delta p}} d_{Blase} \quad (3.37)$$

zwischen Blasendurchmesser d_{Blase} zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung und Blasenlebensdauer τ_{Blase} erweitert.

Wärmediffusionsbegrenzte Blasendynamik

Bei der wärmediffusionsbegrenzten Blasendynamik wird der latente Wärmefluß in die Blase durch den Wärmetransport aus der Umgebung der Blase begrenzt [41, 167]. Es wird angenommen, daß innerhalb der Blase etwa der Umgebungsdruck $p_v \approx p_0$ herrscht, so daß $\Delta p \approx 0$ gilt. Die Temperatur im Blaseninneren ist konstant und entspricht ungefähr dem Siedepunkt der Flüssigkeit $T_v = T_{sat}(p_0)$, so daß man von isothermer Blasendynamik spricht. Es herrscht also im Falle der Blasenexpansion die minimal mögliche bzw. bei der Blasenkontraktion die maximal mögliche Temperatur innerhalb der Blase. Der latente Massetransport beim Phasenübergang wird durch den Wärmetransport aus der Flüssigkeit an die Blasenrenzfläche begrenzt:

Im Falle der Blasenexpansion muß die für den Phasenübergang benötigte latente Wärme durch Wärmeleitung aus der Umgebung der Blase zur Verfügung gestellt werden, so daß nach Plesset und Prosperetti [185] für den latenten Wärmetransport \dot{Q} zwischen Blase und ihrer Umgebung

$$h_{fg} \frac{d}{dt} \left(\rho_v \frac{4}{3} \pi R_B^3 \right) = \dot{Q} = 4\pi R_B^2 K \left(\frac{\partial T}{\partial r} \right)_{r=R_B} \quad (3.38)$$

gilt. Nimmt man konstanten Druck und Temperatur in der Blase an, folgt $\dot{\rho}_v \approx 0$. In räumlich homogen erhitzten Flüssigkeiten mit der Temperatur T_0 ergibt sich wegen der für den Phasenübergang benötigten latenten Wärme ein stationärer Temperaturgradient von

$$\left(\frac{\partial T}{\partial r} \right)_{r=R_B} \approx \sqrt{\frac{3}{\pi}} \frac{T_0 - T_{sat}}{\sqrt{\kappa t}}$$

an der Blasenrenzfläche [185], so daß man aus Gl. 3.38 für die Blasenexpansionsgeschwindigkeit bei wärmediffusionsbegrenztem Blasenwachstum

$$\left(\frac{dR_B}{dt} \right)_{th} \approx \sqrt{\frac{3\kappa}{\pi}} Ja t^{-\frac{1}{2}} \quad \text{mit der Jakobzahl} \quad Ja = \frac{\rho c_p (T_0 - T_{sat})}{\rho_v h_{fg}} \quad (3.39)$$

erhält [159]. Durch zeitliche Integration von Gl. 3.39 folgt

$$R_B \propto \sqrt{t}.$$

Bei der wärmediffusionsbegrenzten Blasenexpansion wird das Blasenwachstum also durch die Wärmeleitung aus der flüssigen Umgebung zur Blasenrenzfläche begrenzt, so daß sich unter Zuhilfenahme der Wärmeleitungsgleichung (analog zur thermischen Diffusionslänge in Gl. 3.9) für die Zunahme des Blasenradius R_B die zeitliche Abhängigkeit von \sqrt{t} ergibt.

Im Falle der wärmediffusionsbegrenzten Kontraktion von Dampfblasen, kann, anschaulich betrachtet, die bei der Kondensation des Wasserdampfes an der Blasenrenzfläche entstehende Wärme nicht schnell genug durch Wärmeleitung in die Umgebung abgeführt werden und es ergibt sich eine ähnliche Dynamik wie in Gl. 3.39, jedoch mit umgekehrtem Vorzeichen.

Die Jakobzahl in Gl. 3.39 dient zur dimensionslosen Quantifizierung der Überhitzung einer metastabilen Flüssigkeit. Sie gibt das Verhältnis von Dampfvolumen, das bei einem adiabatischen Phasenübergang der überhitzten Flüssigkeit entsteht, zum flüssigen Ausgangsvolumen an. $Ja_{\rho}^{\rho v}$ ist dann das Verhältnis von verdampfter zu flüssiger Masse. Bei den meisten metastabilen Flüssigkeiten – auch bei Wasser – besitzt es immer (d. h. auch an der Spinodalen) einen Wert von weniger als 1. Dies bedeutet, daß im überhitzten Wasser nicht ausreichend Wärmeenergie für die Verdampfung der gesamten Wassermenge gespeichert werden kann. Nach Vogel und Venugopalan [256] erhält man für Wasser an der Spinodalen einen Wert von $Ja_{\rho}^{\rho v} = 49.6\%$ bei Normaldruck.

Betrachtet man nun das Blasenwachstum in räumlich homogen überhitzten Flüssigkeiten, so stellt man fest, daß nach der Nukleation zunächst eine Phase des schnellen trägheitsbegrenzten Blasenwachstums ($R_B \propto t$) auftritt, die in einem stetigen Übergang in das langsamere wärmediffusionsbegrenzte Blasenwachstum ($R_B \propto \sqrt{t}$) übergeht [159]. Da das Blasenvolumen ($\propto R_B^3$) schneller zunimmt als die Blasenrenzfläche ($\propto R_B^2$), kann der Abfall des Blaseninnendrucks aufgrund der Volumenexpansion irgendwann nicht mehr durch die Verdampfung an der Phasengrenzfläche kompensiert werden. Da in überhitztem Wasser keine ausreichende Wärmemenge für eine vollständige Verdampfung vorhanden ist ($Ja_{\rho}^{\rho v} < 1$), wird bei der Verdampfung an der Phasengrenzfläche der Flüssigkeit in der Umgebung der Blase (thermische Randschicht) Wärme entzogen, die als latente Wärme für den Phasenübergang benötigt wird. Ab einer bestimmten Blasengröße steht deshalb in der thermischen Randschicht der Blase nicht mehr genügend latente Wärme für die Verdampfung zur Verfügung, da der thermischen Randschicht aufgrund der Wärmeleitung aus der flüssigen Umgebung nur eine begrenzte Menge an Wärme zugeführt werden kann [167, 41]. Die Blasendynamik geht vom trägheitsbegrenzten Blasenwachstum in das wärmediffusionsbegrenzte Blasenwachstum über. Eine Interpolation, die das trägheitsbegrenzte Blasen-

wachstum in das wärmediffusionsbegrenzte Blasenwachstum überführt, wurde von Mikic et al. angegeben [159].

3.5.2 Blasendynamik in räumlich inhomogen erhitzten Flüssigkeiten

Wächst eine Blase in einer räumlich inhomogen erhitzten Flüssigkeit, so finden an der Phasengrenzfläche je nach lokaler Temperatur Kondensations- oder Verdampfungsprozesse statt. Diese nicht konstanten Bedingungen an der Blasenrenzfläche beeinflussen den Dampfdruck in der Blase, der wiederum nach der Rayleigh-Plesset-Gleichung 3.31 die Blasendynamik bestimmt. Die Grenzfälle des trägheitsbegrenzten bzw. wärmediffusionsbegrenzten Blasenwachstums, die für homogen erhitzte Flüssigkeiten formuliert wurden, können in Flüssigkeiten mit großem Temperaturgradienten ihre Gültigkeit verlieren. Für eine Modellierung der Blasendynamik müssen demnach die Zeitabhängigkeit des Drucks sowie die Orts- und Zeitabhängigkeit der Temperatur in der Blase explizit berechnet werden. Dabei steht der Dampfdruck in der Blase nicht zwangsläufig im thermodynamischen Gleichgewicht mit der Flüssigkeitstemperatur an der Phasengrenzfläche. Zudem entspricht – wie auch schon beim trägheitsbegrenzten Blasenwachstum – die Flüssigkeitstemperatur an der Phasengrenzfläche im allgemeinen nicht der Gleichgewichtsverdampfungs-temperatur T_{sat} , so daß für die Berechnung des Temperaturverlaufs in der Blase und des Blaseninnendruckes die Kinetik eines Nichtgleichgewichts-Phasenübergangs [213, 41] an der Blasenrenzfläche mit berücksichtigt werden muß.

Die Bewegung der Blasenrenzfläche muß in der Rayleigh-Plesset-Gleichung 3.31 um die Erosion- bzw. das Wachstum der Phasengrenzfläche durch Verdampfung bzw. Kondensation korrigiert werden [188]. Die instationäre und räumlich inhomogene Flüssigkeitstemperatur in der Umgebung der Blase muß mit Hilfe der Wärmetransportgleichung modelliert werden. Diese berücksichtigt den diffusiven Wärmetransport durch Wärmeleitung, den konvektiven Wärmetransport, der durch die radiale Flüssigkeitsbewegung infolge der Blasendynamik entsteht, und den latenten Wärmefluß durch Massetransport bei Verdampfung und Kondensation an der Phasengrenzfläche. Somit erhält man bei der Blasenexpansion in räumlich inhomogen überhitztem Wasser neben der Abkühlung der thermischen Randschicht der Blase durch Wärmeleitung sowohl eine Erosion an der Phasengrenzfläche durch den Verdampfungsprozeß, die latente Wärme aus der thermischen Randschicht entfernt, als auch eine Ausdünnung der thermischen Randschicht aufgrund der Vergrößerung der Blasenoberfläche.

Liegt eine Temperaturverteilung mit negativem Temperaturgradienten vor, bei der eine Blase zunächst in überhitztem Wasser nukleieren kann, wächst die Blase zunächst, da der Druckverlust aufgrund der Blasenexpansion durch Verdampfung an der Blasenrenzfläche kompensiert werden kann. Nimmt irgend-

wann der Blaseninnendruck aufgrund der Blasenexpansion und der Kondensation an der Phasengrenzfläche bei Wachstum in kältere Temperaturschichten ab, verringert sich die Blasenausdehnungsgeschwindigkeit und der Blasen kollaps wird eingeleitet, d. h. es findet eine Umkehrung der Blasendynamik von einer Expansion in eine Kontraktion statt.

Detaillierte mathematische Modelle dieser qualitativ beschriebenen Vorgänge, die auf den partiellen Differentialgleichungen für Masse-, Impuls- und Energieerhaltung beruhen, finden sich bei Nigmatulin und Akhatov et al. [167, 6].

3.5.3 Blasendynamik um erhitzte Partikel

In der Literatur existieren nur wenige Modelle für die Blasendynamik um erhitzte Partikel, die sich in einer flüssigen Umgebung befinden. Durch die homogene Erhitzung von kugelförmigen Partikeln bildet sich in ihrer Umgebung eine in stationäre kugelsymmetrische Temperaturverteilung aus, so daß die qualitativen Konzepte zum Blasenwachstum in einer räumlich inhomogen erhitzten Flüssigkeit aus dem letzten Abschnitt verwendet werden können. Die Besonderheit der Blasendynamik um erhitzte Partikel liegt darin, daß die Flüssigkeit durch das Partikel erwärmt wird. Bei einer Blasenbildung um das Partikel reißt deshalb der thermische Kontakt vom Partikel zur Flüssigkeit ab, so daß die thermische Isolation der Flüssigkeit vom Partikel die weitere Blasendynamik beeinflusst. Dieser Abschnitt soll eine kurze Übersicht der in der Literatur vorhandenen Modelle für die Blasendynamik um lasererhitzte Partikel geben:

Gerstman-Modell

Das Modell von Gerstman et al. [75, 231] wurde für das Blasenwachstum um lasererhitzte Melanosomen formuliert. Dabei betrachtet man kurze Laserpulse mit Pulsdauern im Bereich von $\tau_p \leq \tau_{\text{Laser}} \leq \tau_T^{\text{H}_2\text{O}}$. Diese Beschränkung auf Pulsdauern innerhalb der thermischen Einschlußzeit hat zur Folge, daß die Wärmeleitung vom Partikel in die wäßrige Umgebung vernachlässigt werden kann. Außerdem verhindern Pulsdauern außerhalb der akustischen Einschlußzeit das Auftreten von starken akustischen Transienten, so daß Effekte aufgrund der akustischen Abstrahlung des Partikels ebenfalls vernachlässigt werden können. Zunächst wird im Modell von Gerstman et. al. die im Melanosom absorbierte Energie abgeschätzt. Die Nukleation der Blase findet in diesem Modell am kritischen Punkt von Wasser ($T_c = 374^\circ\text{C}$ und $p_c = 22.1\text{MPa}$) statt. Von der absorbierten Laserenergie wird die Energie subtrahiert, die nötig ist, um das Melanosom bis zum kritischen Punkt aufzuheizen. Nun wird das Volumen der Grenzschicht um das Melanosom berechnet, das mit Hilfe dieser Restenergie bis zum kritischen Punkt von Wasser aufgeheizt werden kann. Im Anschluß wird ausgehend von diesem Wasservolumen am kritischen Punkt eine adiabatische Volumenexpansion eines idealen Gases in radialer Richtung bis zum Umgebungsdruck von $p_0 = 0.1\text{MPa}$ durchgeführt. Der

Durchmesser des resultierenden kugelförmigen Volumens stellt in diesem Modell die maximale Blasenausdehnung dar. Das Gerstman-Modell wurde von Sentrayan et al. um eine adiabatische Gasexpansion eines (realen) Van-der-Waals-Gases anstelle des von Gerstman et al. benutzten idealen Gases erweitert [216].

Bei dem Gerstman-Modell ist kritisch anzumerken, daß der Dampfdruck in der Blase zum Zeitpunkt ihrer maximalen Ausdehnung dem Umgebungsdruck entspricht. Bei Blasen, deren Nukleation weit oberhalb der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur stattfindet, ist aufgrund des hohen Sättigungsdampfdrucks bei der Nukleationstemperatur ein trägheitsbegrenztes Blasenwachstum zu erwarten, was zur Folge hat, daß die Blase bei einem Innendruck, der dem Umgebungsdruck entspricht, noch kinetische Energie besitzt und deswegen über ihre Gleichgewichtslage hinaus expandiert [254]. Aus diesem Grunde ist zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung ein Druck, der deutlich unterhalb des Umgebungsdrucks liegt, zu erwarten.

Außerdem ist eine rein energetische Betrachtung zur Berechnung der Blasengröße (Gl. 3.35) fehlerhaft, bei der die gesamte thermische Energie, die nach Erwärmung des Melanosoms auf den kritischen Punkt von Wasser übrig ist, für die Volumenarbeit bei der Blasenexpansion verwendet wird. In der Realität kann das Melanosom beliebige Temperaturen oberhalb der Nukleationstemperatur des umliegenden Wassers annehmen. Zudem diffundiert Wärme auch in ein Wasservolumen, das nicht im Laufe des Blasenwachstums verdampft wird, und somit nicht unbedingt zum Blasenwachstum beiträgt. Typische Wirkungsgrade für die Umwandlung von thermischer Energie in mechanische Blasenenergie (an geheizten dünnen Drähten) liegen im Bereich von nur wenigen Prozenten [80].

Zudem wird in der Realität die Nukleationstemperatur T_{Nuk} nicht größer sein als die spinodale Temperatur bei Umgebungsdruck $T_{sp}(p_0) \approx 309^\circ C$, da nach Abschnitt 3.4.2 bei der spinodalen Temperatur der Phasenübergang innerhalb einiger $10ps$ stattfindet, so daß selbst bei einer Bestrahlung mit Laserpulsdauern von einigen Nanosekunden innerhalb der Zeit, die für den Phasenübergang benötigt wird, durch die Laserbestrahlung kaum Energie für eine zusätzliche Temperaturerhöhung der Flüssigkeit deponiert werden kann. Aus der unrealistischen Annahme von der kritischen Temperatur T_c als Nukleationstemperatur folgt auch, daß der Sättigungsdampfdruck in der Gasphase $p_{sat}(T_{Nuk})$ zum Zeitpunkt der Nukleation deutlich niedriger sein wird als der von Gerstman angenommene kritische Druck von $p_c = 22.1MPa$, so daß für die adiabatische Expansion, mit der in diesem Modell die maximale Blasenausdehnung berechnet wird, unrealistische Anfangsbedingungen angenommen werden.

Insgesamt ist aufgrund der Vielzahl von falschen Annahmen zu erwarten, daß das Gerstman-Modell nicht mit den experimentellen Ergebnissen übereinstimmt.

Pustovalov-Modell

Das Modell von Pustovalov [189] baut auf das Modell für die Blasendynamik um ein erhitztes Partikel von Zonenko [275] auf, das eine Erweiterung des in Abschnitt 3.5.2 vorgestellten Modells für die Blasendynamik in inhomogen erhitzten Flüssigkeiten von Nigmatulin [167] ist. Es wird wie das Gerstman-Modell auf Laserpulsdauern im Bereich von $\tau_p \leq \tau_{Laser} \leq \tau_T^{H_2O}$ eingeschränkt. Die Modellierung läßt sich in zwei Schritte zerlegen. Zunächst wird für ein Partikel mit räumlich homogener Wärmezufuhr die Wärmeleitung in die wäßrige Umgebung während eines zeitlich rechteckförmigen Laserpulses berechnet. Nach Ende des Laserpulses wird von einer spinodalen Dekomposition der Flüssigkeitsschicht um das Partikel ausgegangen, deren Temperatur oberhalb der Spinodalen liegt. Unter Zuhilfenahme des resultierenden Dampfolumens als Anfangsbedingung berechnet man die Blasendynamik analog zum Modell von Nigmatulin aus Abschnitt 3.5.2. Allerdings befindet sich im Unterschied zu letzterem Modell noch das Partikel in der Blasenmitte, das über die Wärmeleitungsgleichung und geometrische Randbedingungen an das Blaseninnere gekoppelt ist.

LATIS-Modell

LATIS (LAsEr-TISsue) ist ein am Lawrence Livermore National Laboratory entwickelter hydrodynamischer Computer-Code [148]. Die hydrodynamischen Gleichungen für Masse-, Impuls- und Energieerhaltung werden für Probleme, die auch mehrere Phasen (z. B. flüssig, gasförmig) beinhalten dürfen, simultan gelöst. LATIS wurde unter anderem zur Modellierung der Druckentstehung unter Berücksichtigung der Bildung von akustischen Transienten in und um Graphit-Nanopartikeln ($R = 5nm$ bis $500nm$, $\tau_{Laser} = 10ps$ bis $10ns$, [97]) und RPE-Melanosomen ($R = 500nm$, $\tau_{Laser} = 100ps$ bis $1ns$, [229]) herangezogen. Mit Hilfe des LATIS-Codes wurde auch die Dynamik von Blasen um erhitzte Graphit-Nanopartikel modelliert [97]. Die Ergebnisse zur Blasenbildung und die für den Phasenübergang zugrunde liegenden Annahmen sind allerdings in dieser oben genannten Veröffentlichung jedoch nicht systematisch dargestellt.

Molekulardynamische Modelle

Neben den bisher vorgestellten Modellen, die auf der hydro- und thermodynamischen Modellierung von Kontinua beruhen, existieren noch molekulardynamische Modelle zur Beschreibung der Wirkung von Laserstrahlung auf Melanosomen [273, 274]. In diesen Modellen werden allerdings nur die Druckentwicklung und die Partikelfragmentation bei Bestrahlung mit Pikosekunden-Pulsen im akustischen Einschluß modelliert, denn die Zeiträume, die mit Hilfe der Molekulardynamik simuliert werden können, sind aufgrund des immensen Rechenaufwands auf wenige hundert Pikosekunden beschränkt, so daß sie beim heutigen Stand der Technik besser für die Simulation der Entwicklung von starken akustischen

Transienten, insbesondere von Schockwellen, und weniger für die Simulation der Blasendynamik, die in längeren Zeiträumen abläuft, geeignet sind.

Bisher wurde keines dieser Modelle systematisch mit experimentellen Untersuchungen zur Blasendynamik um erhitzte Mikropartikel verglichen.

3.5.4 Druckentstehung infolge von Blasenbildung

In Abschnitt 3.3 wurde die thermoelastische Druckentstehung als Folge schneller thermischer Ausdehnung einer Kugel beschrieben. Analog zu der thermoelastischen Druckentstehung, stellt auch eine Blase aufgrund ihrer radialen Expansions- bzw. Kontraktionsbewegung eine Schallquelle dar. Die Druckamplitude aufgrund der zeitabhängigen Volumenänderung der Blase ergibt sich unter Vernachlässigung der Oberflächenspannung aus der Impulserhaltung einer inkompressiblen Flüssigkeit nach Bode bzw. Landau und Lifschitz [27, 129] zu

$$p(r, t) - p_0 = \rho \left(\frac{1}{4\pi r} \frac{d^2 V(t - r/c)}{dt^2} - \frac{1}{32\pi^2 r^4} \left(\frac{dV(t - r/c)}{dt} \right)^2 \right). \quad (3.40)$$

Setzt man in Gl. 3.40 ein kugelförmiges Volumen $V(t) = \frac{4}{3}\pi R_B^3(t)$ voraus, wie es bei einer sphärischen Blase der Fall ist, folgt [101]

$$p(r, t) - p_0 = \rho \left(\frac{1}{r} (2R_B \dot{R}_B^2 + R_B^2 \ddot{R}_B) - \frac{1}{2r^4} R_B^4 \dot{R}_B^2 \right). \quad (3.41)$$

Für den Druck an der Phasengrenzfläche ($r = R_B$) erhält man die Rayleigh-Gleichung 3.31

$$p(R_B, t) - p_0 = \rho \left(R_B \ddot{R}_B + \frac{3}{2} \dot{R}_B^2 \right). \quad (3.42)$$

Im akustischen Fernfeld der Blase ($r \gg R_B$) gilt

$$p(r, t) - p_0 = \frac{\rho}{r} (2R_B \dot{R}_B^2 + R_B^2 \ddot{R}_B). \quad (3.43)$$

Die stärksten Druckamplituden im Verlauf der trägheitsbegrenzten Blasendynamik treten experimentell beim Kollaps der Blase auf [253], da in diesem Fall sowohl Geschwindigkeit als auch Beschleunigung der Volumenänderung besonders groß sind. Anhand des Zeitpunktes des applizierten Laserpulses, der die Blasen nucleation verursacht, und des mit Hilfe des Drucksignals gemessenen Zeitpunktes des Blasenkolapses läßt sich dann – sofern das Drucksignal infolge des Blasenkolapses das thermoelastische Drucksignal übersteigt – die Lebensdauer einer Blase bestimmen.

Kapitel 4

Material und Methoden

Zur Untersuchung der laserinduzierten Blasenbildung an Mikroabsorbern in Suspension werden drei unterschiedliche Partikelsorten verwendet: Es werden Melanosomen benutzt, die die Hauptabsorber im RPE darstellen und somit im Hinblick auf die Selektive Retina-Therapie relevant sind. Zum Vergleich werden Goldpartikel, deren thermische und optische Eigenschaften gut bekannt sind, und magnetische Silikatpartikel herangezogen. Zur Bestrahlung werden Laserpulsdauern von wenigen Nanosekunden bis hin zu wenigen Mikrosekunden eingesetzt, so daß die möglichen klinischen Parameter für die SRT abgedeckt werden (vgl. Abschnitt 2.1.1). Diese Bestrahlungsdauern spielen auch für andere in Kap. 2 erwähnte Anwendungen eine Rolle. Die Blasendynamik als Funktion der Bestrahlungsparameter wird mit Hilfe eines Abfragelasers untersucht. Während dieses Verfahren Aufschluß über die Blasenlebensdauer gibt, werden Kurzzeitphotographien zur simultanen Messung der Blasenausdehnung benutzt.

Die Blasendynamik in RPE-Explantaten, die als Modell für die Wirkung des Laserstrahls auf das Gewebe *in vivo* dienen, wird mit Hilfe eines interferometrischen Verfahrens untersucht, das das vom RPE-Explantat reflektierte Licht nutzt. Zusätzlich werden die mit der Blasendynamik einhergehenden optoakustische Transienten aufgenommen. Die interferometrischen Messungen werden dann mit dem durch ein Vitalitäts-Assay ermittelten Zellschaden verglichen, um auf diese Weise die prinzipielle Eignung des interferometrischen Verfahrens für eine Dosimetrie-Kontrolle in Echtzeit bei der SRT zu evaluieren.

4.1 Mikropartikel

Die Verwendung von drei verschiedenen Sorten von Mikropartikeln für die Untersuchungen beruht auf folgenden Überlegungen:

Melanosomen des retinalen Pigmentepithels (RPE) werden benutzt, da diese nach Abschnitt 2.1.1 die Hauptchromophore am Augenhintergrund sind. Die Blasenbildung um Melanosomen durch gepulste Laserbestrahlung beeinflusst maß-

geblich die Wirkung der Laserstrahlung auf das Gewebe am Augenhintergrund und ist deshalb für die Selektive Retina-Therapie von großer Bedeutung.

Goldpartikel (chemicell MG-2/1, $R = 250nm$) werden verwendet, weil sie in vielen biotechnologischen Anwendungen wie der partikelbasierten Zellchirurgie, der selektiven Abtötung von Zellen mittels Photothermolyse (Abschnitt 2.1.3) oder der Inaktivierung von Proteinen auf Partikeloberflächen (Abschnitt 2.1.5) eine Rolle spielen. Außerdem werden Goldpartikel bei der optoakustischen Tomographie als Kontrastmittel verwendet (Abschnitt 2.1.4). Die Goldpartikel werden in diesen Verfahren hauptsächlich benutzt, da sie eine große Absorptionseffizienz besitzen, temperaturstabil und nicht toxisch sind. Außerdem läßt sich ihre Oberfläche leicht für eine Biokonjugation funktionalisieren. Sie sind zu Kontrollzwecken unter dem Elektronenmikroskop zu erkennen [93], was für einige Anwendungen Vorteile haben kann. Für diese Arbeit erweisen sich die wohlbekanntesten optischen und thermischen Eigenschaften von Gold als Vorteil, da sie die thermische Modellierung erleichtern.

Außerdem werden für die Experimente der vorliegenden Arbeit magnetische Silikatpartikel (chemicell SiMAG-EP, $R = 1.5\mu m$) eingesetzt, deren Oberflächen sich ebenfalls für biotechnologische Anwendungen funktionalisieren lassen. Ähnliche Partikel wurden von Radt [190] zur laserinduzierten Inaktivierung von Proteinen auf Partikeloberflächen verwendet. Ein weiteres Auswahlkriterium für die Silikatpartikel war ihr Durchmesser, der mit $3\mu m$ deutlich größer ist als die optische Auflösung eines Mikroskops.

Bei den verwendeten anorganischen Partikeln ist eine hohe Temperaturstabilität gegeben (vgl. Schmelzpunkte im Anhang A.1), so daß angenommen werden kann, daß die Blasendynamik bei diesen Partikeln kaum durch eine thermische Zerstörung beeinflusst wird. Bei magnetischen Kunststoffpartikeln (Dynal Biotech, Dynabeads M280, $R = 1.4\mu m$) hingegen, die aus Polystyren und Magnetit bestehen, wurde in Vorversuchen zu dieser Arbeit [112] eine thermische Zerstörung des Polystyrens bei Bestrahlungen an der Blasenbildungsschwelle beobachtet, so daß weitere Experimente mit dieser Partikelsorte aufgrund ihrer thermischen Instabilität verworfen wurden.

4.1.1 RPE-Melanosomen

Zur Gewinnung von Melanosomen aus dem RPE wurden vom örtlichen Schlachthof (NFZ Norddeutsche Fleischzentrale Lübeck GmbH) frisch enukleierte Augen von Schweinen der Rasse "Deutsche Pig", die zum Zeitpunkt der Schlachtung etwa 6 Monate alt waren, zur Verfügung gestellt. Die Augen werden direkt nach dem Schlachtvorgang entnommen und in feuchter Umgebung gehalten. Zur Präparation werden sie mit Hilfe einer Rasierklinge äquatorial in zwei Hälften getrennt, so daß eine Hälfte die Augenlinse und die andere den Sehnerv enthält. Anschließend wird der Glaskörper entfernt. In die Augenhälfte, die den Sehnerv enthält, wird entgastetes Reinstwasser gegeben, das zuvor mit einem Filter, der einen Rückhal-

tebereich von 200nm besitzt, gereinigt wurde. Nach einigen Minuten löst sich die Neuroretina, die nur auf dem RPE aufliegt, von diesem ab und kann entfernt werden. Nun wird das RPE mit Hilfe eines Haarpinsels abgelöst. Aus der resultierenden Suspension, die das RPE enthält, werden durch Filterung (Filterpapier: Schleicher & Schüll 595 1/2, Rückhaltebereich 4 bis $7\mu\text{m}$) die größeren Zellreste entfernt, so daß man letztlich die Melanosomen-Suspension, die in den Experimenten benutzt wird, erhält.

Es wurde eine lichtmikroskopische Größenbestimmung der Melanosomen, die die Form eines Rotationsellipsoiden besitzen, durchgeführt. Eine Messung über 20 Melanosomen ergab für die große Achse einen mittleren Durchmesser von $(2.3 \pm 0.6)\mu\text{m}$ und die kleine Achse einen Durchmesser von $(0.8 \pm 0.1)\mu\text{m}$. Zusätzlich zeigen elektronenmikroskopische Aufnahmen in Transmission (TEM) von Schweine RPE (Abb. 4.1), daß sich die Melanosomen in verschiedenen Melanisierungsstadien befinden [31].

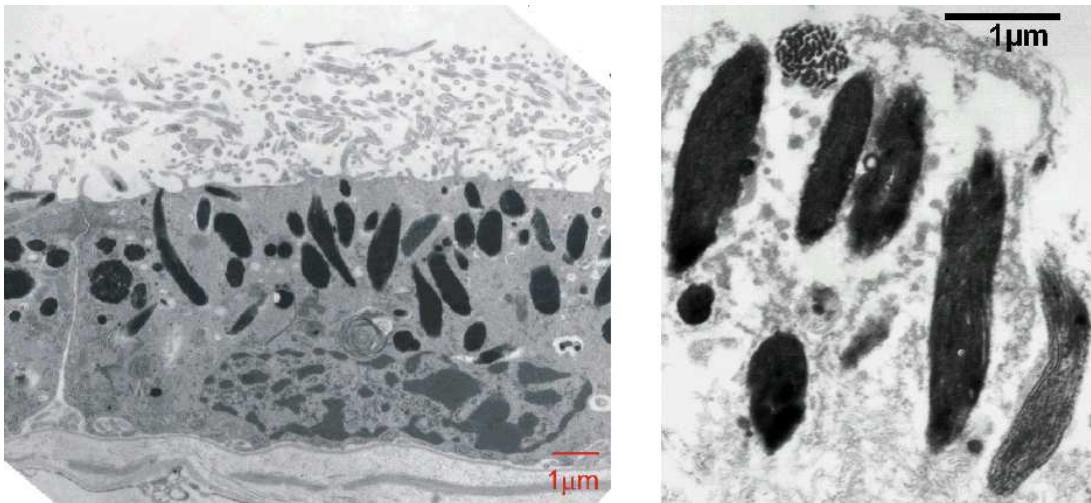


Abbildung 4.1: **Links:** Elektronenmikroskopische Aufnahme einer RPE-Zelle vom Schwein in Transmission (TEM). Die RPE-Zelle erscheint dunkelgrau. Die Melanosomen im oberen Zellbereich sind schwarz. Darunter befindet sich der Zellkern. Oberhalb der Melanosomen sind Teile der Mikrovilli zu erkennen. **Rechts:** TEM-Aufnahme von RPE-Melanosomen. Die Melanosomen unterscheiden sich in Größe, Form und Melanisierungsgrad. So besitzt das Melanosom rechts unten eine deutlich größere Elektronentransmission als die übrigen Melanosomen im Bild, was auf eine geringere Melanisierung zurückzuführen ist.

Für die thermische Modellierung sind die kleinen Halbachsen eines Rotationsellipsoiden bestimmend [189], d. h. die Achse mit der kleinsten Ausdehnung bestimmt die thermische Einschlußzeit [42]. Deshalb werden Melanosomen im Modell typischerweise als kugelförmig mit einem Radius von $R = 0.5\mu\text{m}$ angenommen [189, 75]. Photochemische Vorgänge oder Fluoreszenz spielen bei einer

Bestrahlung mit einer Wellenlänge von 527nm keine Rolle [69]. Experimentell wurde für Melanin festgestellt, daß im ultravioletten und im sichtbaren Spektralbereich über 99.9% der absorbierten Lichtenergie strahlungslos in Wärme umgewandelt wird [157]. Für die thermische Modellierung wird zunächst angenommen, daß das Melanosom optisch dünn ist ($\mu_{abs}R \ll 1$, vgl. Abschnitt 3.1.2), da alle bisher ermittelten Werte für Absorptionskoeffizienten von RPE-Melanosomen im Bereich von $\mu_{abs} < 1\mu\text{m}^{-1}$ liegen [260, 229, 78, 36]. Weil für optisch dünne Partikel die Energie näherungsweise homogen im Partikel absorbiert wird, kann für die Melanosomen das halbanalytische thermische Modell mit räumlich homogener Wärmequelle und Berücksichtigung der Pulsform aus Abschnitt 3.2.1 benutzt werden. Wie groß der resultierende Temperaturfehler ist, der sich aus der Annahme von optisch dünnen Melanosomen ergibt, wird in Abschnitt 5.2.3 detailliert diskutiert.

4.1.2 Goldpartikel (Chemicell MG-2/1)

Die Goldpartikel MG-2/1 der Firma chemicell sind kugelförmig und haben einen Durchmesser von 500nm . Sie liegen in wässriger Suspension vor. Da die Partikel ursprünglich für biotechnologische Anwendungen vorgesehen sind, wurden sie herstellerseitig mit einer Monolage des Polymers Polyethylenimin (PEI) beschichtet. PEI weist hydrophile Eigenschaften auf. Es dient in der Biotechnologie dazu, Zellmembranen unspezifisch zu adsorbieren, ohne daß ihre Struktur durch die starre Partikeloberfläche nennenswert beeinflusst wird [265]. Aus Abb. 3.1 kann entnommen werden, daß für die Goldpartikel bei $R = 250\text{nm}$ $Q_{abs} \approx 1$ gilt, was nach Gl. 3.2 bedeutet, daß sie quasi lichtundurchlässig und damit optisch dick sind. Aufgrund der hohen Wärmeleitung von Gold findet die Thermalisierung innerhalb des Partikels jedoch mit $\tau_T = 130\text{ps}$ (Tab. 4.1) deutlich schneller statt als die in dieser Arbeit verwendeten gütegeschalteten Bestrahlungspulse mit $\tau_{Laser} \geq 12\text{ns}$ (Abschnitt 4.4.1) andauern. Deshalb kann ebenfalls das halbanalytische thermische Modell mit homogener Partikelerwärmung aus Abschnitt 3.2.1 verwendet werden. Die optischen und thermischen Eigenschaften von Gold sind im Anhang in Tab. A.1 zu finden. Die Beschichtung der Goldpartikel wird bei den Wärmeleitungsrechnungen vernachlässigt.

4.1.3 Magnetische Silikatpartikel (Chemicell SiMAG-EP)

Die magnetischen Silikatpartikel (chemicell SiMAG-EP) sind ebenfalls kugelförmig, besitzen einen mittleren Durchmesser von etwa $3\mu\text{m}$ und liegen in wässriger Suspension vor. Die Partikel bestehen aus Magnetitkristallen (Fe_3O_4) mit einem Durchmesser von deutlich weniger als $1\mu\text{m}$. Diese sind in eine Silikatmatrix eingebettet. Nach Herstellerangaben enthalten die Partikel etwa 60% Magnetit und sind unbeschichtet, d. h. sie besitzen hydrophile endständige Silanolgruppen. Hauptverwendungsgebiet magnetischer Partikel ist die magnetische Separation,

bei der funktionalisierte Partikel selektiv an Proteine oder Zellen koppeln und dann mit Hilfe eines Magneten separiert werden können. Aufgrund der heterogenen Zusammensetzung der verwendeten Partikel werden große Schwankungen in der Lichtabsorption erwartet, so daß für diese Partikelsorte keine Modellierung der Absorption durchgeführt wird.

Die für die Experimente verwendeten Mikropartikel sind in Abb. 4.2 dargestellt. Tabelle 4.1 zeigt, die für die Laserbestrahlung wichtigsten thermischen und akustischen Kenngrößen dieser Partikel.

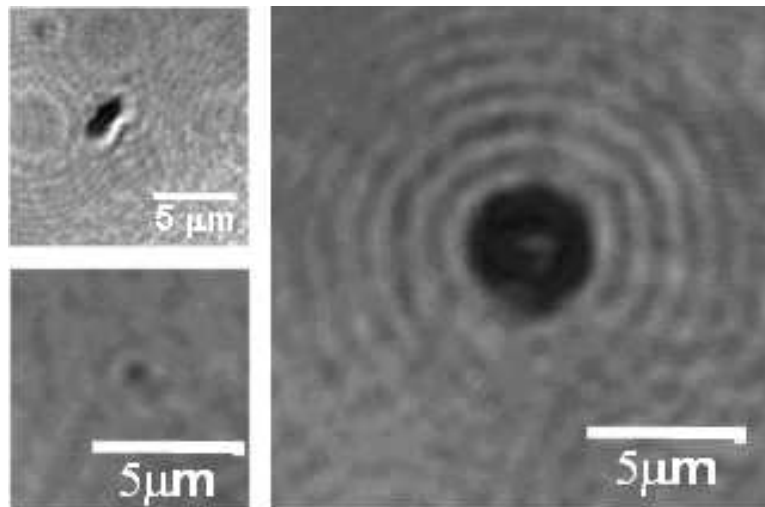


Abbildung 4.2: Lichtmikroskopische Aufnahmen der für die Experimente verwendeten Mikropartikel: RPE-Melanosomen vom Schwein (links oben), Goldpartikel chemicell MG2-1 (links unten), magnetische Silikatpartikel chemicell SiMAG-EP (rechts).

	R [μm]	τ_T [ns]	$\tau_T^{H_2O}$ [ns]	τ_p [ps]
chemicell MG-2/1 (Gold)	0.25	0.13	109	140
chemicell SiMAG – EP	1.5	1200	3930	500
Silikat		260		420
Magnetit				
Melanosomen	≈ 0.5	450	440	≈ 700

Tabelle 4.1: Radius R , Thermalisierungszeit τ_T , thermische $\tau_T^{H_2O}$ und akustische Einschlußzeit τ_p der verwendeten Mikropartikel. Die zugehörigen Materialeigenschaften sind in Tab. A.1 des Anhangs zu finden.

4.1.4 Probenpräparation

Um die Partikelsuspension für die Bestrahlungsexperimente zu präparieren, wird zunächst entgastes Reinstwasser, das mit einem Rückhaltebereich von $200nm$ gefiltert wurde, unter Zugabe eines Gewichtsanteils von 0.2% Agarose auf etwa $90^{\circ}C$ erhitzt. Jeweils $12.5\mu l$ der heißen Agarose-Lösung und der Partikelsuspension werden auf einen Objektträger mit einem Gene Frame (ABgene Gene Frame) gegeben, vermischt und anschließend wie in Abb. 4.3 (oben) mit einem Deckglas versiegelt, so daß ein Austrocknen der Probe verhindert wird. Die Agarose dient zur partiellen Immobilisierung der Partikel im Flüssigkeitsvolumen. Die Gene Frames bewirken zusätzlich, daß zwischen Objektträger und Deckglas ein Abstand von etwa $250\mu m$ eingehalten wird.

Für temperaturabhängige Messungen werden ebenfalls heiße Agarose-Lösung und die Partikelsuspension zu gleichen Teilen in eine Küvette eingefüllt. Der Abstand zwischen Objektträger und Deckglas beträgt $4mm$ (Abb. 4.3 unten), was die Platzierung des Meßfühlers eines Digitalthermometers (Lutron TM-914C mit Temperaturmeßfühler Typ K) erlaubt.

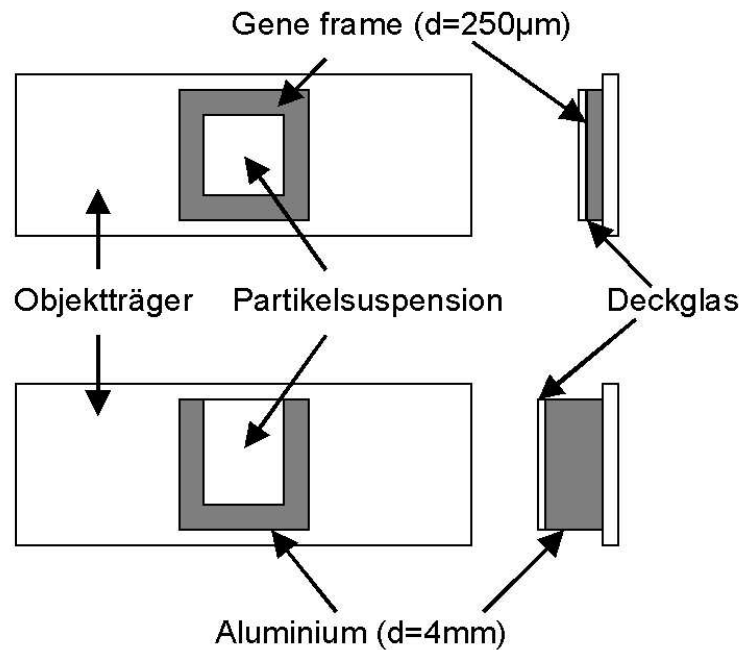


Abbildung 4.3: *Präparation der Partikelsuspension: Aufsicht (links) und Querschnitt (rechts).*

4.2 RPE-Zellfragmente

Zur Gewinnung von Zellfragmenten aus dem retinalen Pigmentepithel wird analog zur Gewinnung von Melanosomen, die in Abschnitt 4.1.1 beschrieben wurde, vorgegangen. Allerdings wird die Neuroretina unter Zuhilfenahme von physiologischer Kochsalzlösung anstelle von Reinstwasser abgelöst, um eine Zellschädigung durch osmotische Effekte zu vermeiden. Außerdem wird auf den Filtervorgang verzichtet, so daß alle Zellen in Suspension bleiben. Bei diesem Verfahren können allerdings auch RPE-Zellen beschädigt werden, so daß man nicht mit Sicherheit von der Vitalität der gewonnenen Zellen ausgehen kann. Deshalb wird im folgenden von Zellfragmenten gesprochen.

4.3 Ex vivo RPE-Modell

Um eine laserinduzierte Schädigung von RPE-Zellen nachweisen zu können, muß ein Modell benutzt werden, das noch vitale RPE-Zellen enthält. An der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH wurde zu diesem Zweck vor einiger Zeit ein ex vivo RPE-Modell etabliert, das RPE-Explantate aus enukleierten Schweineaugen nutzt [193]. Vitale Zellen können in diesem Modell von geschädigten Zellen mit Hilfe eines Assays unterschieden werden.

4.3.1 Probenpräparation

Aus frisch enukleierten Schweineaugen vom örtlichen Schlachthof wird mit Hilfe einer Rasierklinge ein etwa 1cm^2 großes Stück in Nachbarschaft des Sehnervs herausgetrennt (Abb. 4.4). Das Explantat, das Retina, Chorioidea und Sclera enthält, wird mit physiologischer Kochsalzlösung benetzt. Nach einigen Minuten hat sich die Neuroretina vom RPE abgelöst und kann entfernt werden, so daß das RPE frei liegt. Anschließend wird das Explantat in eine Halterung geklemmt, die in Abb. 4.5 dargestellt ist. Ein Deckglas schützt das RPE-Präparat vor dem Austrocknen.

4.3.2 Vitalitäts-Assay

Calcein-AM wird im oben beschriebenen RPE-Modell als Vitalitäts-Marker verwendet. Calcein-AM ist ein nicht fluoreszierender Stoff, der durch Zellmembranen diffundieren kann. Innerhalb der Zelle wird er enzymatisch in Calcein umgewandelt. Die Zellmembran ist undurchlässig für Calcein, so daß das Calcein nicht aus den Zellen hindusdiffundieren kann. Da Calcein im Gegensatz zu Calcein-AM fluoresziert (Exzitationsmaximum 490nm , Emissionsmaximum 520nm), kann es mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops in den vitalen Zellen mit intakter Membran beobachtet werden (Abb. 4.6). Wird eine Zelle geschädigt, wird ihre Mem-

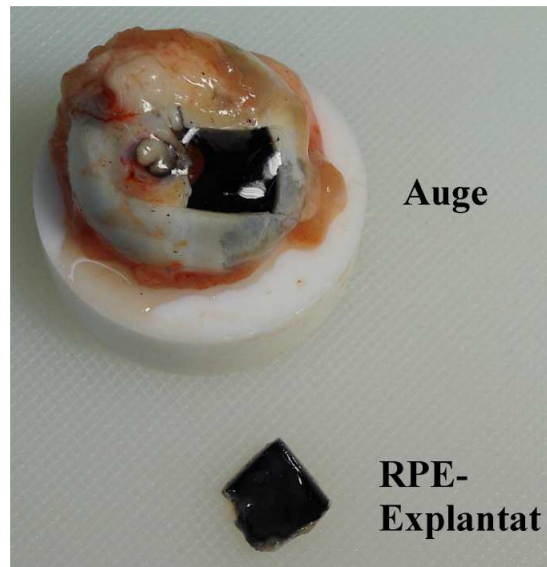


Abbildung 4.4: Schweineauge mit zugewandter Rückseite, aus dem ein RPE-Präparat explantiert wurde. Das RPE-Explantat wird in der Nähe des Sehnervs herauspräpariert.

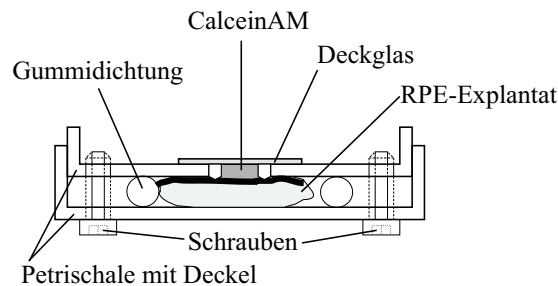


Abbildung 4.5: Halterung für die RPE-Explantate.

bran durchlässig, so daß Calcein aus der Zelle hinausgelangen kann. Die Zelle erscheint unter dem Fluoreszenzmikroskop dunkel. Bei Calcein handelt es sich also um einen Membranmarker, der die Vitalität der Zelle anhand ihrer Membranpermeabilität kennzeichnet.

Zu jedem RPE-Explantat wird vor der Bestrahlung $20\mu\text{l}$ Calcein-AM Lösung (Molecular Probes, 1:500 in PBS, c/o Ca, Mg) gegeben. Nach einer Inkubationszeit von etwa 30min wird das Deckglas des RPE-Präparatehalters (Abb. 4.5) entfernt und die Probe zur Laserbestrahlung in eine großräumige Küvette getaucht (siehe Abschnitt 4.5). Dieser Vorgang dient gleichzeitig dazu, überschüssiges Calcein-AM zu entfernen und Calcein aus den durch die Bestrahlung geschädigten Zellen auszuwaschen. Nach der Bestrahlung werden die Proben unter dem Fluoreszenzmikroskop (Leitz Aristoplan mit Filterblock I3) betrachtet und

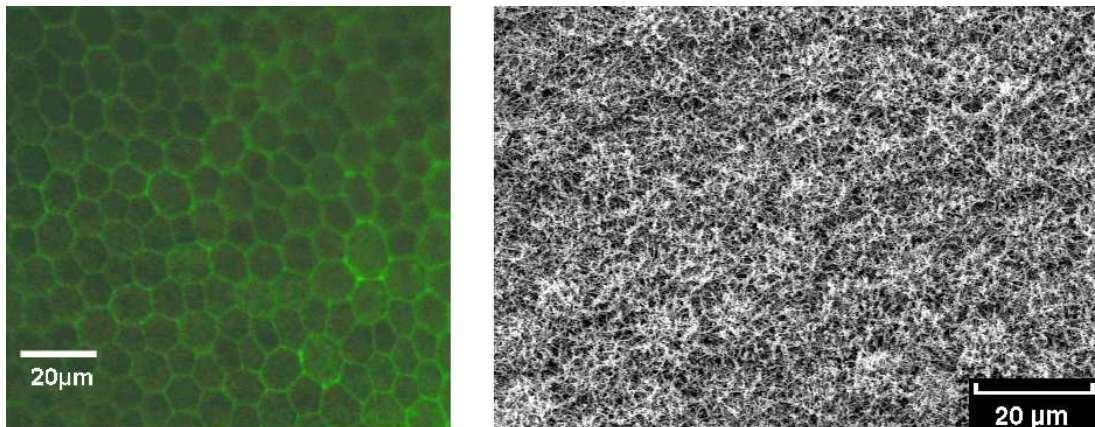


Abbildung 4.6: **Links:** Grün fluoreszierende vitale RPE-Zellen, die mit Calcein-AM inkubiert wurden. **Rechts:** Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen eines RPE-Explantats: Die wabenförmige Anordnung der RPE-Zellen ist nur schwach zu erkennen. Man sieht hauptsächlich die Mikrovilli an der Zelloberfläche (vgl. TEM eines RPE-Querschnitts in Abb. 4.1).

mit einer CCD-Kamera photographiert, um vitale von geschädigten Zellen zu unterscheiden.

Alle RPE-Explantate wurden innerhalb von 5 Stunden post mortem präpariert, bestrahlt und unter dem Fluoreszenzmikroskop begutachtet.

4.4 Versuchsaufbau und experimentelle Methoden zur Beobachtung von Blasenbildung um einzelne Mikropartikel

4.4.1 Lasersysteme

Die Bestrahlung der Mikropartikel in wässriger Suspension (s. Abschnitt 4.1) erfolgt mit Pulsdauern im Bereich von 12ns bis 3500ns bei Wellenlängen im grünen Spektralbereich. Für die meisten Experimente werden Pulsdauern (FWHM) von 12ns , 240ns und 1800ns benutzt. Die Pulsdauer von $1.8\mu\text{s}$ wurde gewählt, da eine ähnliche Pulsdauer von $1.7\mu\text{s}$ zur Zeit in den klinischen SRT-Studien verwendet wird. Da allerdings für die Erzeugung der Mikrosekundenpulse spezielle, für die SRT entwickelte Lasersysteme [36, 85, 125, 126] notwendig sind, wird auch die Blasenbildung bei Bestrahlung mit kürzeren Pulsdauern untersucht. Letztere lassen sich mit kommerziell erhältlichen Lasersystemen erzeugen. Möglicherweise kann aufgrund der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente die für die SRT verwendete Laserpulsdauer optimiert werden. Die untersuchten Bestrahlungspa-

parameter wurden unter Verwendung zweier unterschiedlicher Lasersysteme realisiert.

Ein System ist ein gütegeschalteter, frequenzverdoppelter Nd:YAG-Laser (Spectron Lasersystems SL401 / MBB Medizintechnik), dessen Aufbau schematisch in Abb. 4.7 dargestellt ist. Das Lasermedium wird mit einer Blitzlampe gepumpt, was die maximale Pulsrepetitionsrate auf 20Hz begrenzt. Die Güteschaltung erfolgt durch eine Pockelszelle. Die Grundwellenlänge des Lasers von 1064nm wird resonatorextern mit einem KTP-Kristall frequenzverdoppelt. Die beiden Wellenlängen werden durch die Dispersion in einem Prismenensemble voneinander getrennt. Bei Verwendung einer Modenblende zur Verbesserung des Strahlprofils lag die Energie der frequenzverdoppelten Pulse (532nm) bei etwa 1mJ . Die Pulsdauer (FWHM) betrug $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$. Die Pulse wurden über eine Glasplatte und einen variablen Graufilter, die beide zur Energieabschwächung dienten, in eine Glasfaser (Ceram-Optec, Optron UV-A 105/125A/250, $NA = 0.22$, Kerndurchmesser $105\mu\text{m}$) eingekoppelt.

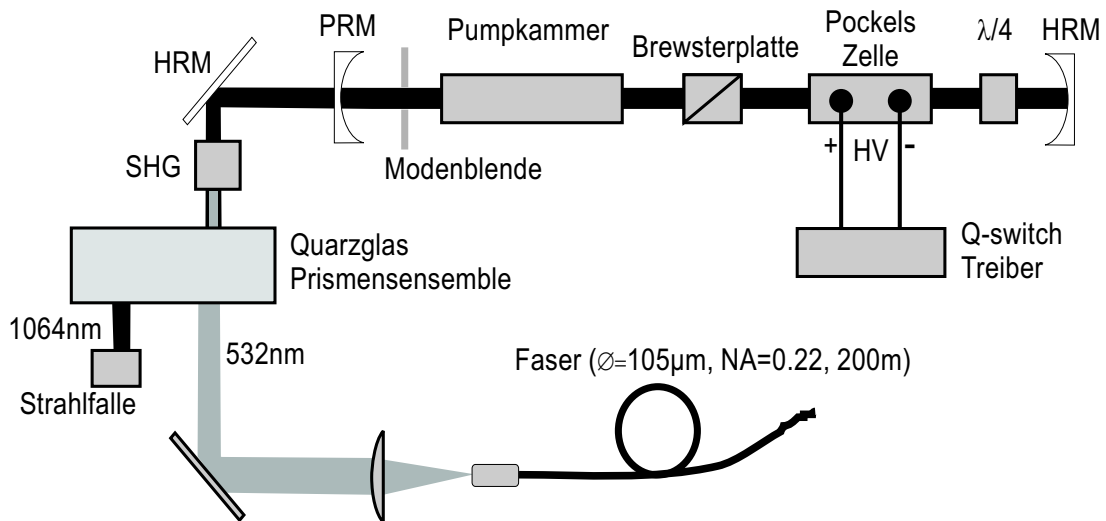


Abbildung 4.7: Schematischer Aufbau des Nd:YAG Lasers (PRM: teilreflektierender Spiegel, HRM: hochreflektierender Spiegel, SHG: Frequenzverdopplung).

Alternativ wurde ein gütegeschalteter, frequenzverdoppelter Nd:YLF-Laser (Quantronix, Modell 527DP-H), dessen Aufbau schematisch in Abb. 4.8 dargestellt ist, verwendet. Das Lasermedium wurde mit einer kontinuierlich emittierenden Bogenlampe optisch gepumpt. Die Frequenz des Lichts wird resonatorintern mit einem LBO-Kristall verdoppelt. Die Güteschaltung des Lasers wurde mit Hilfe einer Pockelszelle realisiert. Der Laser wurde an der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH dahingehend modifiziert, daß eine variable Spannung an der Pockelszelle anliegt. Zusätzlich zu einer fest einstellbaren Spannungsrampe wird ein Teil der Laserintensität über eine Photodiode elektronisch zur Regelung Pockelszellenspannung rückgekoppelt [85]. Diese Pockelszellenregelung dient da-

zu, die Pulse im Vergleich zur normalen Güteschaltung zu verlängern, indem die Resonatorgüte während des Pulses so nachgeregelt wird, daß sich Resonatorverluste und Verstärkung durch das Lasermedium in etwa aufheben. Man erhält dann solange eine zeitlich konstante Laserleistung bis die Inversion im Lasermedium abgebaut ist. Je länger die Laserpulse andauern sollen, desto größer müssen die zeitabhängigen Verluste durch die Pockelszelle gewählt werden, so daß mit steigender Pulsdauer die Pulsenergie sinkt. Auf diese Weise kann die Pulslänge im Bereich von etwa 200ns (bei 1.5mJ) bis $5\mu\text{s}$ (bei $250\mu\text{J}$) variiert werden [36, 85].

Da die Frequenzverdopplung resonatorintern stattfindet – also einen Verlustmechanismus für die Grundwellenlänge darstellt –, variiert die Pulslänge auch mit der Effizienz der Frequenzverdopplung, die sich wiederum mit der Temperatur des LBO-Kristalls ändert, da diese die Phasenanpassung für die Frequenzverdopplung beeinflusst. Im normalen Güteschaltungsbetrieb erhält man bei Variation der Verdopplertemperatur Pulslängen im Bereich von 200ns bis $1\mu\text{s}$ [207]. Mit Hilfe eines rotierbaren $\lambda/2$ Plättchens, das die Polarisationssebene der Laserstrahlung dreht, und eines polarisationsabhängigen Strahlteilers kann die Laserpulsenergie variiert werden, bevor das Licht in die Glasfaser eingekoppelt wird.

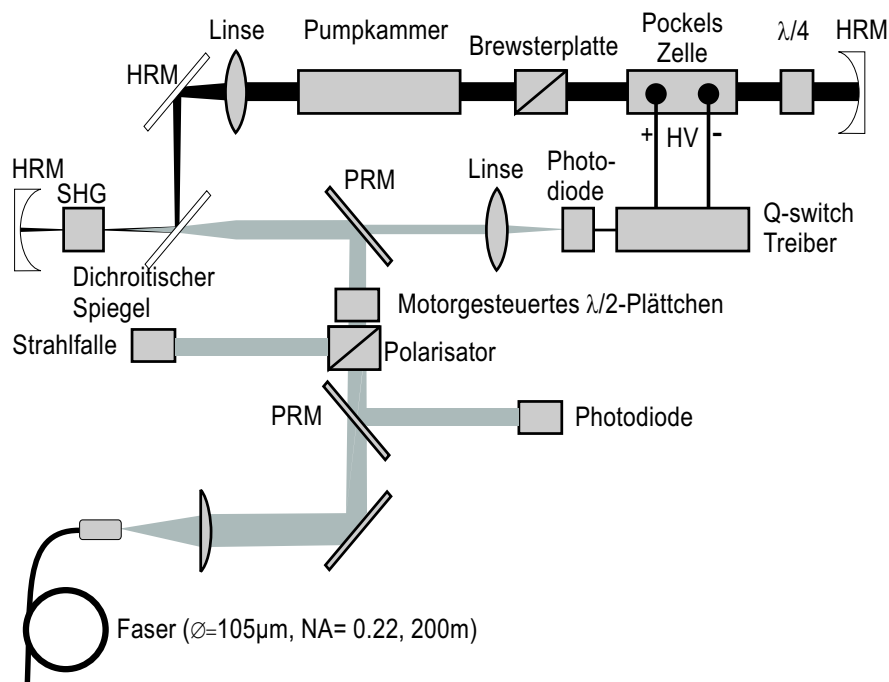


Abbildung 4.8: Schematischer Aufbau des Nd:YLF Lasers (PRM: teilreflektierender Spiegel, HRM: hochreflektierender Spiegel, SHG: Frequenzverdopplung).

Typische Laserpulsformen, die mit einer Photodiode (Centronics AEPX-65, Lastwiderstand $R_L = 50\Omega$, 8V Vorspannung) und einem Digitaloszilloskop (LeCroy Waverunner-2 LT374, Bandbreite 500MHz) gemessen wurden, sind in Abb.

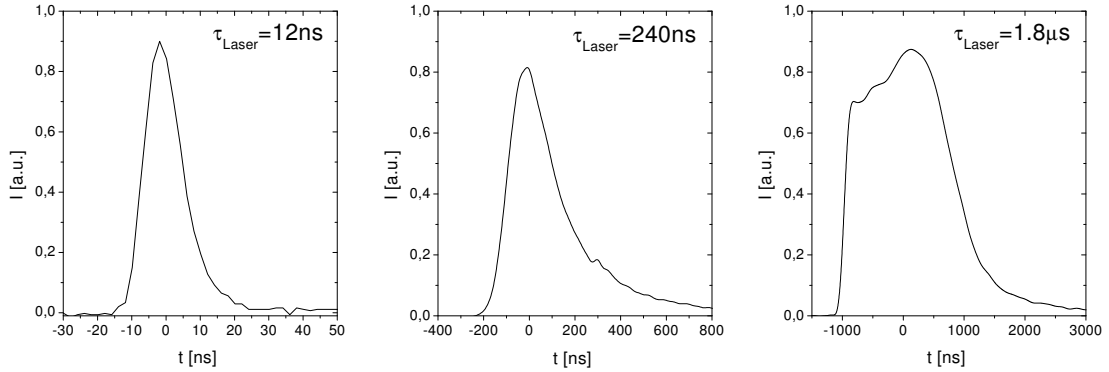


Abbildung 4.9: Typische zur Bestrahlung benutzte zeitliche Laserpulsverläufe: Nd:YAG Laser (links), Nd:YLF Laser ohne Pulsverlängerung (Mitte), Nd:YLF Laser mit Pulsverlängerung (rechts).

4.9 zu finden. Die Stabilität der Laserpulsenergie wurde mit Hilfe einer Photodiode (Centronics AEPX-65, Lastwiderstand $R_L = 1M\Omega$, 8V Vorspannung) für verschiedene Laserpulsdauern gemessen und mit Hilfe des Digitaloszilloskops während der Messung statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.2 dargestellt.

	Nd:YAG	Nd:YLF	
	$\tau_{Laser} = 12ns$	$\tau_{Laser} = 240ns$	$\tau_{Laser} = 1.8\mu s$
σ_E	4.5%	1.5%	1.1%
$\Delta_{E,max}$	17%	5.3%	3.7%

Tabelle 4.2: Pulsenergiestabilität der verwendeten Laser bei einer Puls wiederholrate von 10 Hz. Es wurden jeweils 1000 Pulse gemessen. σ_E ist die Standardabweichung und $\Delta_{E,max}$ die maximale Abweichung von der mittleren Pulsenergie.

4.4.2 Bestrahlungsaufbau

Die Laserpulse wurden in eine Multimode-Glasfaser mit einer Länge von 200m eingekoppelt (Ceram-Optec, Optron UV-A 105/125A/250, $NA = 0.22$, Kerndurchmesser $105\mu m$) und zum Bestrahlungsaufbau geführt. Für den Nd:YAG-Laser ist die maximal transmittierbare Energie auf weniger als $20\mu J$ beschränkt, da bei den resultierenden Spitzenintensitäten Raman-Streuung in der Faser auftritt, die mit einer Wellenlängenverschiebung einhergeht und deutlich sichtbare Spektralanteile im gelben Wellenlängenbereich erzeugt. Daher wurden typischer-

weise nur Pulsenergien unterhalb von $15\mu J$ verwendet, bei denen keine nennenswerte Ramanstreuung stattfand.

Im Bestrahlungsaufbau, der in Abb. 4.10 dargestellt ist, wird das Faserende mit Hilfe eines Mikroskopobjektivs ($10\times$, $NA = 0.25$) auf die Feldblende abgebildet. Der Durchmesser der Feldblende beträgt 2mm und ist damit geringfügig kleiner als das Bild des Faserendes. Dieses Zwischenbild wird wiederum mit Hilfe eines Mikroskopobjektivs ($40\times$, $NA = 0.65$) in die Partikelsuspension, die sich auf einem Objektträger befindet (siehe Abschnitt 4.1.4), abgebildet. Die Feldlinse, die sich nahe der Zwischenbildebene an Ort der Feldblende befindet, dient dazu die Austrittspupille des $10\times$ Objektivs an die Eintrittspupille des $40\times$ Objektivs anzupassen.

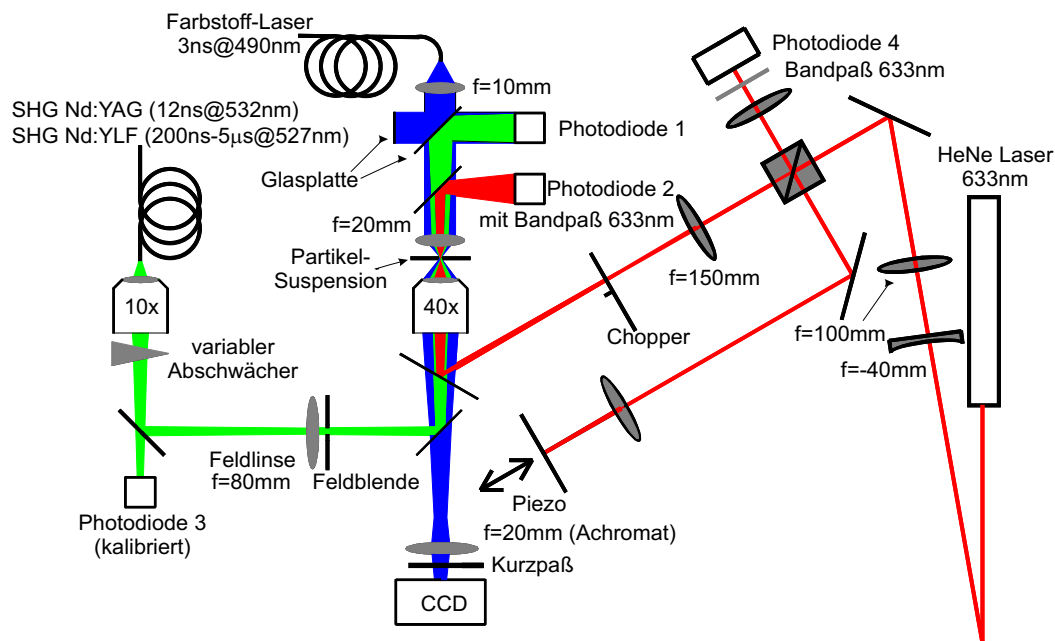


Abbildung 4.10: Versuchsaufbau zur Bestrahlung von Mikropartikeln in wäßriger Suspension.

Am Bestrahlungsort in der Partikelsuspension erhält man somit das durch die Feldblende begrenzte Bild des Faserendes, d. h. ein räumliches top-hat Strahlprofil mit einem gemessenen Durchmesser von $39.5\mu m$, das in Abb. 4.11 dargestellt ist. Ein top-hat Strahlprofil hat gegenüber einem Gaußschen Strahlprofil den Vorteil, daß die Bestrahlung über den gesamten Bereich konstant ist, was die Messung der Bestrahlung erleichtert. Allerdings ist die Intensität innerhalb des bestrahlten Bereichs durch Speckles, die sich aufgrund von Interferenzen zwischen verschie-

denen Lichtausbreitungs-Moden in der Faser bilden, geringfügig moduliert. Die linke Seite in Abb. 4.11 zeigt die über die Dauer eines Laserpulses integrierte ortsabhängige Laserintensität. Aufgrund der verwendeten Faserlänge von $200m$ und der damit verbundenen Laufzeitdifferenz des Lichts in den einzelnen Fasermode ist die aus der Faser austretende Laserstrahlung nur noch partiell kohärent, so daß in Abb. 4.11 die durch Speckles verursachte maximale Abweichung von der mittleren Bestrahlung bei nur etwa $\Delta H = 15\%$ liegt. Bei den übrigen verwendeten Pulsdauern ergaben sich vergleichbare Werte für die räumliche Bestrahlungsmodulation.

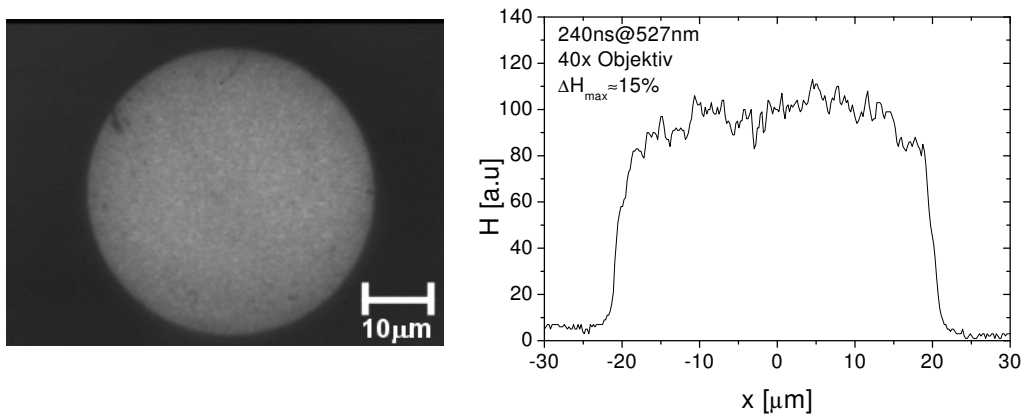


Abbildung 4.11: *Typisches über die Dauer eines Laserpulses mit $\tau_{Laser} = 240ns$ integriertes räumliches Strahlprofil (links) und zugehöriger Schnitt durch das Strahlprofil (rechts). Die maximalen durch Specklebildung verursachten Abweichungen von der mittleren Bestrahlung betragen etwa $\Delta H \approx 15\%$*

Zur Regelung der Laserpulsenergie im Bestrahlungsaufbau wird ein variabler Graufilter benutzt. Dieser erlaubt die stufenlose Einstellung der Bestrahlung, ohne die Betriebsparameter der Laser und damit möglicherweise deren Pulsdauern zu verändern. Die Bestimmung der relativen Pulsenergie erfolgt über die Photodiode 3 (Abb. 4.10, Centronics AEPX 65, Lastwiderstand $R_L = 1M\Omega$, $8V$ Vorspannung), auf die der durch den dielektrischen Umlenkspiegel (HR für $532nm$ unter 45° Lichteinfall) transmittierte Anteil des Laserpulses fällt. Die Amplitude dieser Photodiode wurde vor jeder Messung mit Hilfe eines Pulsenergiemeßgeräts (Ophir Optronics Laserstar mit Meßkopf PE-10), das sich an der Stelle der Partikelsuspension befand, kalibriert. Ein Teil der durch das Mikroskopobjektiv transmittierten Laserstrahlung wurde mit Hilfe eines Deckglases aus dem Strahlengang ausgekoppelt, so daß die Form des Laserpulses mit der Photodiode 1 (Centronics AEPX 65, $R_L = 50\Omega$, $8V$ Vorspannung) gemessen werden konnte.

Der Halter des Objekträgers, auf dem sich die zu untersuchende Suspension befindet, ist in alle 3 Raumrichtungen verschiebbar. Außerdem kann er für

temperaturabhängige Messungen mit Hilfe eines elektrischen Widerstandes geheizt und mit einem Peltierelement abgekühlt werden, so daß die Temperatur der Partikelsuspension im Bereich von 10°C bis 90°C variiert werden kann.

4.4.3 Kurzzeit-Mikrophotographie

Zur Beobachtung der transienten Verdampfungsblasen, die durch die Bestrahlung der Mikroabsorber entstehen, wurde die Partikelsuspension auf eine Progressive Scan CCD Kamera (Abb. 4.10, JAI CV-A11, 640x480 Pixel) abgebildet, die mit Hilfe einer Framegrabber-Karte (National Instruments, IMAQ 1409) von einem Standard-PC ausgelesen wird. Zur Beleuchtung wurde ein Stickstoff-Laser (Laser Science, VSL-337ND, $\lambda = 337nm$) verwendet, mit dessen Hilfe ein Farbstoff-Laser (Laser Science, DLM 220) gepumpt wurde. Die Pulslänge des Stickstoff-Lasers beträgt nach Herstellerangaben $3ns$. Es wurde der Farbstoff Coumarin 102 verwendet, dessen Emissionsmaximum für die verwendete Pumpwellenlänge bei $\lambda = 470nm$ liegt. Mit Hilfe eines resonatorinternen Gitters in Littrow-Konfiguration [50] wurde eine Emissionswellenlänge des Farbstoff-Lasers von etwa $\lambda = 490nm$ ausgewählt. Das Licht des Farbstoff-Lasers wird mit Hilfe einer Faser ($NA = 0.22$, Kerndurchmesser $100\mu m$) zum Bestrahlungsaufbau geleitet, kollimiert und dann auf die Partikelsuspension fokussiert (Abb. 4.10). Licht dieser Wellenlänge wird durch den dielektrischen Umlenkspiegel (HR für $532nm$ unter 45° Lichteinfall), der sich vor der Kamera befindet und das Bestrahlungslicht führt, transmittiert. Vor der CCD-Kamera befindet sich ein optischer Kurzpaß, der das Streulicht der Bestrahlungslaser reflektiert. Für die Beleuchtung der Partikelsuspension wird der Farbstoff-Laser mit Hilfe eines Graufilters, der eine Transmission von 10% besaß, abgeschwächt, so daß die Suspension mit Pulsenergien deutlich unterhalb von $1\mu J$ bei Fleckdurchmessern oberhalb von $200\mu m$ bestrahlt wurde. Daraus ergibt sich eine Bestrahlung durch den Beleuchtungslaser von weniger als $H = 3mJ/cm^2$, die zu keiner nennenswerten Partikelerwärmung führt (vgl. Abschnitt 5.2.7).

Der Stickstoff-Laser kann mit Hilfe einer frei wählbaren elektronischen Verzögerung zu einem einstellbaren Zeitpunkt relativ zum Bestrahlungspuls getriggert werden. Bei dem Stickstoff-Laser beträgt die Unsicherheit (Jitter) für den Zeitpunkt, an dem der Laserpuls emittiert wird, etwa $\pm 20ns$. Ein Teil des Beleuchtungslichts wird über zwei Mikroskopie-Deckgläser auf die Photodiode 1 geleitet (Abb. 4.10). Da mit der Photodiode 1 der Bestrahlungs- und der Beleuchtungspuls simultan gemessen werden, läßt sich aus diesem Photodiodensignal die Zeitverzögerung zwischen beiden Laserpulsen, die den relativen Zeitpunkt der Photographie zur Bestrahlung kennzeichnet, ermitteln.

4.4.4 Transmissionsmessung mit einem Abfragelaser

Im Gegensatz zur Kurzzeitphotographie, die Bilder der erzeugten Blasen zu festen Zeitpunkten liefert, erlauben Transmissionsmessungen des bestrahlten Volumens mit einem Abfragelaser die kontinuierliche Verfolgung der Blasendynamik in einem kleinen Raumbereich. Dafür wurde der Strahl eines Helium-Neon-Lasers (Laser Graphics LK 8623, $\lambda = 632.8nm$) zunächst aufgeweitet, durch einen Strahlteiler geführt, der für die im nächsten Abschnitt 4.4.5 dargestellten interferometrischen Messungen notwendig ist, zwischenfokussiert und über einen dichroitischen Spiegel (HR für $600nm - 700nm$ unter 30° Lichteinfall, $T > 80\%$ für $\lambda < 550nm$) in den Strahlengang des Videomikroskops eingekoppelt (Abb. 4.10). Der Zwischenfokus befindet sich in gleicher Entfernung von der Partikelsuspension wie die Feldblende, so daß der Helium-Neon-Laser mit Hilfe des Mikroskopobjektives in die Ebene des Faserbildes fokussiert wird. Im Zwischenfokus befindet sich ein Chopper, der den Lichtstrahl mit einer Periode von $125ms$ für eine Dauer von etwa $10\mu s$ transmittiert. Der Zeitraum zwischen zwei Beleuchtungsfenstern beträgt somit $125ms$, was um ein Vielfaches größer ist als die thermische Einschlußzeit $\tau_T^{H_2O}$ der Partikel in Tab. 4.1. Deshalb sollte sich das Partikel zwischen zwei Transmissionsmessungen wieder vollständig abkühlen, so daß sich keine additive Aufheizung der Partikel aufgrund der repetierenden Bestrahlung mit dem Abfragelaser ergibt. Am Chopper befindet sich eine Lichtschranke, die wenige Millisekunden bevor der Chopper transmittiert, ausgelöst wird und den Nd:YAG bzw. Nd:YLF-Laser so ansteuert, daß eine Partikelbestrahlung mit diesen Lasern bei geöffnetem Chopper stattfindet. Zur lateralen Justage des Helium-Neon-Laserstrahls kann dessen Position relativ zum Bestrahlungsfleck nach Entfernung des Kurzpaßfilters vor der CCD Kamera am Videomikroskop verfolgt werden. Der Gaußsche Strahlradius des Abfragelasers in der Fokusebene betrug etwa $\omega = 1.5\mu m$. Üblicherweise wird der Bestrahlungspuls zeitlich so eingerichtet, daß er innerhalb der ersten $5\mu s$ des $10\mu s$ andauernden Bestrahlungsfensters des Abfragelasers liegt. Demnach ergibt bei einer gemessenen Leistung von etwa $1mW$ am Mikroskopobjektiv eine durch den Abfragelaser verursachte Bestrahlung von

$$H = \frac{1mW \cdot 5\mu s}{\pi(1.5\mu m)^2} \approx 70 \frac{mJ}{cm^2}.$$

Ein Teil des durch das Mikroskopobjektiv transmittierten Strahls des Helium-Neon-Lasers wurde mit Hilfe eines dielektrischen Spiegels (HR für $550nm - 700nm$ unter 45° Lichteinfall) auf die Photodiode 2 (EG&G FND-100Q, $9V$ Vorspannung) in Abb. 4.10 umgelenkt. Ein optischer Bandpaß (Mittenwellenlänge $\lambda_c = 633nm$, Bandbreite $\Delta\lambda = 11nm$) verhindert, daß Bestrahlungs- und Beleuchtungslicht auf diese Photodiode fallen. Das Photodiodensignal wurde mit einem Stromverstärker (femto GmbH HCA-100M-50K-C, Bandbreite $100MHz$) verstärkt.

4.4.5 Interferometrie

Wie in Abb. 4.10 erkennbar ist, wird der Laserstrahl des Helium-Neon-Lasers durch einen Strahlteiler in Probe- und Referenzarm eines Interferometers aufgeteilt. Der Probearm, der auch gleichzeitig zur in Abschnitt 4.4.4 beschriebenen Transmissionsmessung dient, wird zur Partikelsuspension geführt. Von der Partikelprobe reflektiertes Licht wird mit dem Licht aus dem Referenzarm des Interferometers überlagert, der durch ein Mikroskopie-Deckglas, das auf einem Piezoelement befestigt ist, abgeschlossen wird. Das Deckglas ist auf seiner Rückseite geschwärzt, um eine Lichtreflexionen von dieser zu unterdrücken. Die Intensität der interferierenden Lichtstrahlen aus Probe- und Referenzarm wird von einer Photodiode mit integriertem Vorverstärker gemessen (Photodiode 4 in Abb. 4.10, Hamamatsu S6468-02, Bandbreite: 0 bis $> 35\text{MHz}$). Vor der Photodiode befindet sich ein optischer Bandpaß mit einer Mittenwellenlänge von $\lambda_c = 632.8\text{nm}$ und einer Bandbreite von $\Delta\lambda = 1.6\text{nm}$.

Idee dieses Meßverfahrens ist folgende: Falls in der Partikelprobe eine Blase aufschwingt, reflektiert die Blasenwand aufgrund des Brechungsindexunterschieds zwischen Wasser ($n = 1.3$) und Wasserdampf ($n = 1.0$) Licht, das interferometrisch ausgewertet werden kann. Da sich die Blaugrenzfläche in Bewegung be-

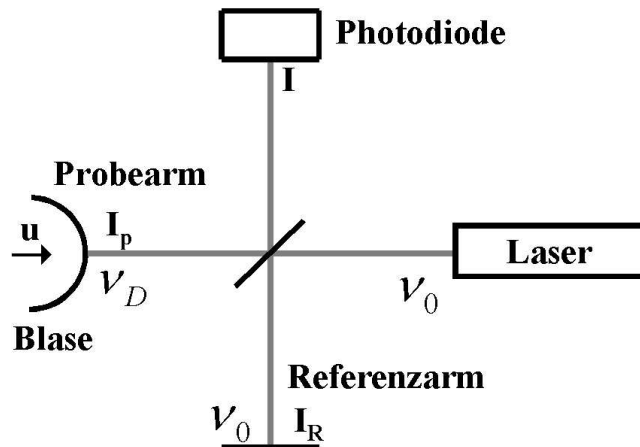


Abbildung 4.12: *Schema der interferometrischen Blasendetektion*

findet, ändert sich die Wegdifferenz $\Delta s(t)$ zwischen den Lichtstrahlen in Probe- und Referenzarm, was in Abb. 4.12 schematisch dargestellt ist. Die daraus resultierende sich zeitlich verändernde Intensität

$$I(t) = I_P + I_R + 2\sqrt{I_P I_R} \cos\left(2\pi \frac{\Delta s(t)}{\lambda}\right) \quad (4.1)$$

wird mit der Photodiode gemessen. Um zu einer quantitativen Aussage über die erwarteten Frequenzen des Interferenzsignals zu kommen, geht man zu einer Betrachtung im Frequenzraum über: Bei Bewegung der reflektierenden Grenzfläche

im Probearm mit der Geschwindigkeit u ändert sich die Frequenz ν_0 des reflektierten Lichts aufgrund des (linearisierten) Doppler-Effekts

$$\nu_D = \nu_0 \left(1 + \frac{u}{c}\right)^2 \approx \nu_0 \left(1 + \frac{2u}{c}\right) \quad (4.2)$$

(Abb. 4.12), so daß sich an der Photodiode die Modulationsfrequenz (Schwebung)

$$\nu_M = \nu_D - \nu_0 = \frac{2u}{c}\nu_0 = \frac{2u}{\lambda} \quad (4.3)$$

ergibt. Mit der Wellenlänge des Helium-Neon-Lasers von $\lambda = 632.8nm$ erhält man dann

$$\frac{\nu_M}{u} = \frac{2}{\lambda} = 3.16 \frac{MHz}{m/s}. \quad (4.4)$$

Da bei Siedevorgängen in stark überhitztem Wasser, die in einer trägheitsbegrenzten Blasendynamik resultieren, nach Abb. 3.11 typische Blasenexpansionsgeschwindigkeiten im Bereich von etlichen m/s zu erwarten sind, sollte das Interferenzsignal nach Gl. 4.4 im Frequenzbereich von mehreren MHz liegen. Deshalb sollten sich mechanische Schwingungen des optischen Aufbaus, die typischerweise im kHz -Bereich liegen, nicht störend auf das Interferenzsignal auswirken.

Zur Justage des Interferometers wird ein Objektträger anstelle der Partikelsuspension plaziert und das Piezoelement im Referenzarm in Betrieb genommen, so daß aufgrund der Schwingungen des Piezoelements auch ohne Blasenbildung mit der Photodiode ein Interferenzsignal detektiert wird, was dann optimiert werden kann. (Der Objektträger besitzt eine Dicke von $1mm$. Bei Fokussierung des Helium-Neon-Lasers auf die Vorderseite des Objektträgers fällt nur ein vernachlässigbar geringer Teil des von der Objektträger-Rückseite reflektierten Lichts auf die Photodiode 4 in Abb. 4.10. Da sich also die Objektträgerrückseite weit außerhalb des Fokus befindet, wird das gemessene Interferenzsignal durch Reflexionen an dieser nicht beeinflusst.)

4.4.6 Datenaufnahme und -verarbeitung

Die Signale der 4 Photodioden aus Abb. 4.10 zur Messung der Pulsenergie, der Pulsform / des Belichtungszeitpunktes, der Transmission des Abfragelasers und der Interferenz werden mit einem Digitaloszilloskop (LeCroy Waverunner-2 LT374, 4 Kanäle, Bandbreite $0 - 500MHz$) gespeichert und mit Hilfe eines LabView-Programms (National Instruments LabView 6i) ausgelesen. Aus den Photodiodensignalen wird in diesem Programm eine automatische Bestimmung der applizierten Bestrahlung und eine Bestimmung des Zeitintervalls zwischen Photographie und dem Zeitpunkt des halben Energieeintrags des Bestrahlungspulses vorgenommen. Zusätzlich wird mit Hilfe desselben LabView-Programms die Framegrabber-Karte für die Kurzzeitphotographie ausgelesen. Die

Kurzzeitphotographien werden unter Angabe der Zeitverzögerung relativ zum Bestrahlungspuls zusammen mit den zugehörigen Photodiodensignalen automatisch abgespeichert.

4.5 Bestrahlung von RPE-Explantaten

4.5.1 Bestrahlungsaufbau

Zur Bestrahlung der RPE-Explantate, deren Präparation in Abschnitt 4.3.1 beschrieben wird, wurde der Bestrahlungsaufbau für die isolierten Mikropartikel aus Abb. 4.10 in folgender Weise modifiziert: Zunächst wurde der Beleuchtungs-

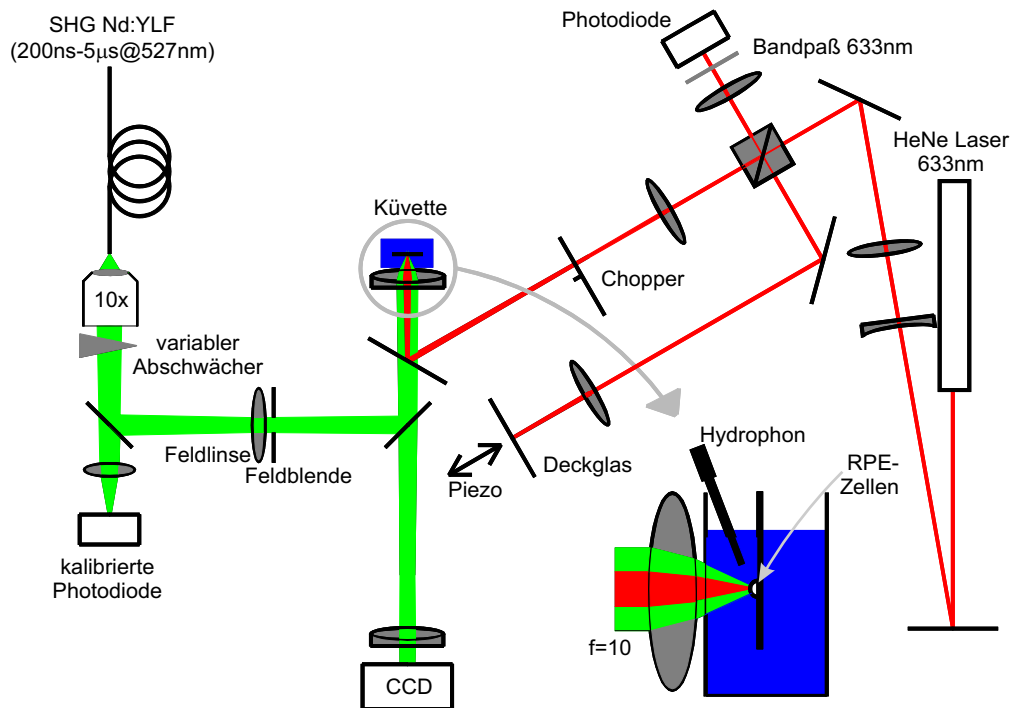


Abbildung 4.13: Versuchsaufbau für die Bestrahlung von RPE-Explantaten. Die im Versuchsaufbau in Aufsicht skizzierte Küvette ist zusätzlich noch vergrößert in Seitenansicht dargestellt.

aufbau mit Photodiode 1 und 2 entfernt, da das RPE-Präparat, welches noch die stark streuende Sclera enthält, kaum (ungestreutes) Licht transmittiert. Deshalb sind kurzzeitphotographische Untersuchungen in Transmission oder Transmissionsmessungen mit dem Abfragelaser nicht möglich.

Das RPE-Präparat mit Halterung aus Abb. 4.5 wurde an einem in alle drei Dimensionen verschiebbaren Mikromanipulator arretiert und nach Entfernung des

Deckglases, das das Präparat vor dem Austrocknen schützt, zur Bestrahlung in eine Küvette mit physiologischer Kochsalzlösung getaucht. Die Küvette besteht aus dünnwandigem Kunststoff. Am Ort des Lichteintritts wurde sie durchbohrt und mit einem Mikroskopie-Deckglas wieder versiegelt, so daß das Eintrittsfenster für den Laserstrahl optische Qualität aufweist. Um den Arbeitsabstand zwischen Objektiv und RPE-Präparat zu vergrößern, wurde das 40x Objektiv durch einen Achromaten mit einer Brennweite von $f = 10\text{mm}$ ersetzt, was eine adäquate Platzierung eines Hydrophons zur Druckmessung zwischen RPE-Präparat und Küvettenwand ermöglichte (Abb. 4.13).

Durch den Einsatz einer Linse mit größerer Brennweite wurde der Gewinn an Arbeitsabstand mit einer Vergrößerung der bestrahlten Fläche erkauft, so daß im Falle des Nd:YAG Lasers die durch die Glasfaser transmittierbare Pulsenergie von $20\mu\text{J}$ (vgl. Abschnitt 4.4.2) nicht ausreichend war, um eine Zellschädigung zu bewirken. Deshalb wurde bei diesen Experimenten auf eine Bestrahlung mit einer Pulsdauer von 12ns , die nach Abschnitt 2.1.1 wegen der Gefahr von Blutungen keinen klinisch relevanten Bestrahlungsparameter für die SRT darstellt, verzichtet. Im Bestrahlungsaufbau wurde nun eine leicht elliptische Feldblende mit einem Durchmesser von etwa 0.5mm verwendet, so daß man auf dem RPE-Präparat einen elliptischen Bestrahlungsfleck (Abb. 4.14) mit Durchmessern von $d_1 = 49.1\mu\text{m}$ und $d_2 = 40.5\mu\text{m}$ erhält. Die Verkleinerung des bestrahlten Bereichs diente dazu den Bestrahlungsfleck besser an den Fokaldurchmesser des in Abschnitt 4.5.3 beschriebenen Abfragelasers anzupassen.

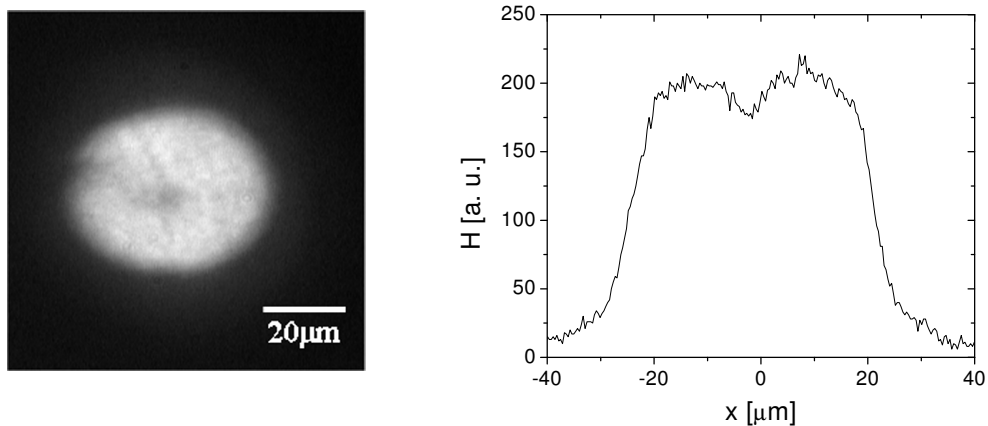


Abbildung 4.14: **Links:** Typisches über einen Laserpuls mit einer Pulslänge von $\tau_{Laser} = 350\text{ns}$ integriertes räumliches Strahlprofil. Die Aufnahme erfolgte mit der CCD-Kamera des Videomikroskops. Dazu wurde eine reflektierende Glasplatte in die mit Wasser gefüllte Küvette gebracht. **Rechts:** Zugehöriger Schnitt durch das Strahlprofil.

Die Messung der Pulsform des Bestrahlungslasers erfolgte direkt am Nd:YLF-Laser (vgl. Abb. 4.8). Durch eine Korrektur bezüglich der Laufzeit des Lichts in der Faser von $985ns$ konnte dann der Laserpuls zu den Interferenz- und Druckmessungen zeitlich in Beziehung gesetzt werden.

4.5.2 Druckmessungen

Bei der Bestrahlung von RPE-Präparaten können sowohl thermoelastische Druckwellen als auch Druckwellen aufgrund von Blasenbildung entstehen. Diese Druckwellen werden mit Hilfe eines Hydrophons (Valpey-Fisher, Modell Pinducer VP-1093, $0 - 10MHz$) in Kombination mit einem Ladungsverstärker (Panametrics, Modell 5676, Verstärkung 40dB, Bandbreite $50kHz - 20MHz$) gemessen. Die Empfindlichkeit des Hydrophons mit Verstärker beträgt im Frequenzbereich um $1MHz$ etwa $1.05 V/bar$ (bei $R_L = 50\Omega$) [207]. Das Hydrophon wurde in einem Abstand von $2.5mm$ vom Bestrahlungsort plziert.

Bei einem Radius des bestrahlten Bereichs von $r_{Laser} \approx 25\mu m$ und einer Dicke des pigmentierten RPE von $d_{RPE} \approx 5\mu m$ (vgl. Abb. 4.1) gilt nach Gusev und Karabutov [88, Seite 32] für Abstände vom Bestrahlungsort von mehr als

$$\frac{r_{Laser}^2}{d_{RPE}} \approx 0.1mm$$

die akustische Fernfeldnäherung. Da das Hydrophon im Experiment $2.5mm$ vom Bestrahlungsort entfernt ist, befindet es sich im akustischen Fernfeld. Weil sich im Fernfeld die Schallausbreitung näherungsweise durch Kugelwellen beschreiben läßt, kommt es bei den Druckmessungen zu einer Laufzeitverbreiterung des gemessenen Schallsignals, da eine kugelförmige Wellenfront auf die ebene Detektorfläche des Hydrophons trifft. Der Krümmungsradius der Druckwelle entspricht am Hydrophon etwa dem Abstand zwischen dem Ort der Druckentstehung und dem Ort der Druckmessung von $z = 2.5mm$. Nach Abb. 4.15 erhält man für den maximalen Wegunterschied Δz , mit dem die Wellenfront auf das Hydrophon trifft, dessen Kristall ein Durchmesser von $d_{Hydrophon} = 1.35mm$ besitzt,

$$\Delta z = z - \sqrt{z^2 - (d_{Hydrophon}/2)^2},$$

so daß mit dieser Meßanordnung aufgrund geometrischer Effekte nur Frequenzen unterhalb von $f = c_1/\Delta z = 15MHz$ (c_1 : Schallgeschwindigkeit in H_2O , vgl. Anhang A.1.2) gemessen werden können. Diese geometrisch begründete Grenzfrequenz ist größer als der vom Hydrophonhersteller angegebene Meßbereich von $0 - 10MHz$, so daß die geometrische Anordnung zur Druckmessung in den Experimenten keine Auswirkung auf die gemessene Frequenz hat.

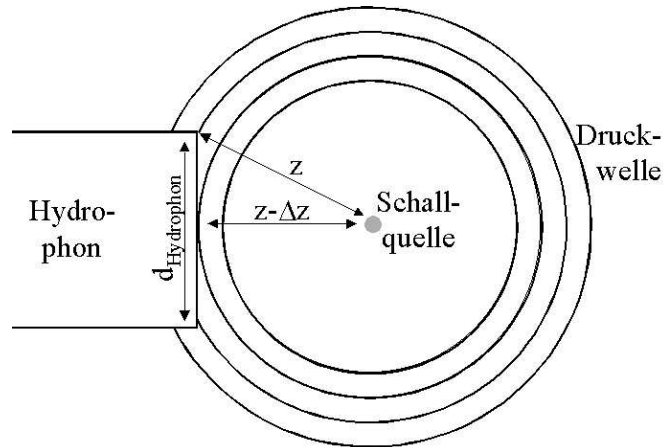


Abbildung 4.15: Skizze zur Berechnung der aufgrund der Detektionsgeometrie maximal meßbaren Frequenz. Diese ergibt sich aus der Wegdifferenz Δz , mit der die verschiedenen Anteile derselben Kugelwelle auf das Hydrophon mit ebener Detektorfläche treffen.

4.5.3 Interferometrie

Die interferometrischen Messungen an RPE-Präparaten verlaufen ähnlich wie die interferometrischen Messungen zur Blasenbildung an isolierten Mikropartikeln, die in Abschnitt 4.4.5 beschrieben wurden. Jedoch beträgt aufgrund der unterschiedlichen Brennweite der verwendeten Objektivs der Gaußsche Strahlradius des Abfragelasers hier etwa $6\mu m$, so daß man bei einer Laserleistung von $1mW$ mit einer Chopper-Scheibe, die eine Bestrahlungsdauer von $30\mu s$ ermöglicht, eine Bestrahlung von

$$H = \frac{1mW \cdot 30\mu s}{\pi(6\mu m)^2} = 27 \frac{mJ}{cm^2}$$

erhält. Zum Vergleich wurde bei einer Bestrahlung von RPE-Explantaten vom Schwein mit einem Argon-Laser eine Bestrahlungsschwelle für Zellschädigung von ca. $450mJ/cm^2$ gemessen [207]. Da bei der Wellenlänge des Argon-Lasers ($514nm$) das RPE stärker absorbiert als bei der Wellenlänge des Abfragelasers ($633nm$), ist eine Zellschädigung durch den Abfragelaser auszuschließen. Die Bestrahlung durch den Nd:YLF-Laser findet typischerweise innerhalb der ersten $10\mu s$ des Bestrahlungsfensters des Abfragelasers statt.

Zusätzlich zur Blasenbildung können mit Hilfe der Interferometrie prinzipiell auch Oberflächenbewegungen des RPE detektiert werden, da auch Licht vom RPE-Präparat reflektiert wird. Dies läßt sich dadurch feststellen, daß man auch bei einem nicht bestrahlten, ruhenden RPE-Präparat ein Interferenzsignal detektiert, wenn man das Piezoelement im Referenzarm in Betrieb nimmt.

Kapitel 5

Blasenbildung um einzelne Mikropartikel

In diesem Kapitel wird die laserinduzierte Blasenbildung um einzelne Mikropartikel untersucht. Zunächst werden Experimente zur Bestimmung des Bestrahlungsschwellenwertes für die Blasenbildung dargestellt, mit deren Hilfe auch die Nukleationstemperaturen bestimmt werden können. Diese Nukleationstemperaturen werden mit den im Abschnitt 3.4 vorgestellten Nukleationstheorien verglichen. Im Anschluß werden Experimente zur Blasendynamik vorgestellt, mit denen die Blasengröße für verschiedene Bestrahlungsparameter ermittelt wird. Anhand der experimentellen Ergebnisse wird ein qualitatives Blasenmodell entworfen.

5.1 Empfindlichkeit und Konsistenz der Meßmethoden für die Blasenbildungsschwelle

Bevor die Blasenbildung um Mikropartikel detailliert studiert werden kann, müssen die Meßmethoden zur Blasen detektion im Hinblick auf ihre Konsistenz untersucht werden. Insbesondere ist in diesem Zusammenhang von Wichtigkeit, ob sowohl die Kurzzeitphotographie aus Abschnitt 4.4.3 als auch die Transmissionsmethode aus Abschnitt 4.4.4 die Blasenbildungsschwelle mit gleicher Sensitivität detektieren.

Die simultane Detektion der Blasenbildungsschwelle mit beiden Methoden ist exemplarisch in Abb. 5.2 für die Bestrahlung eines Melanosoms bei einer Laserpulslänge von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$ dargestellt. In dieser Abbildung erkennt man auf dem oberen Graphen bei einer Bestrahlung von $H = 139\text{mJ/cm}^2$ eine zeitlich konstante transmittierte Intensität des Abfragelasers. Die korrespondierende Kurzzeitphotographie, die während des Laserpulses aufgenommen wurde, zeigt das Melanosom im identischen Zustand wie vor der Bestrahlung. Erhöht man die Bestrahlung für dasselbe Melanosom um nur etwa 2% auf 142mJ/cm^2 , so erkennt man im unteren Graphen von Abb. 5.1 eine deutliche transiente Inten-

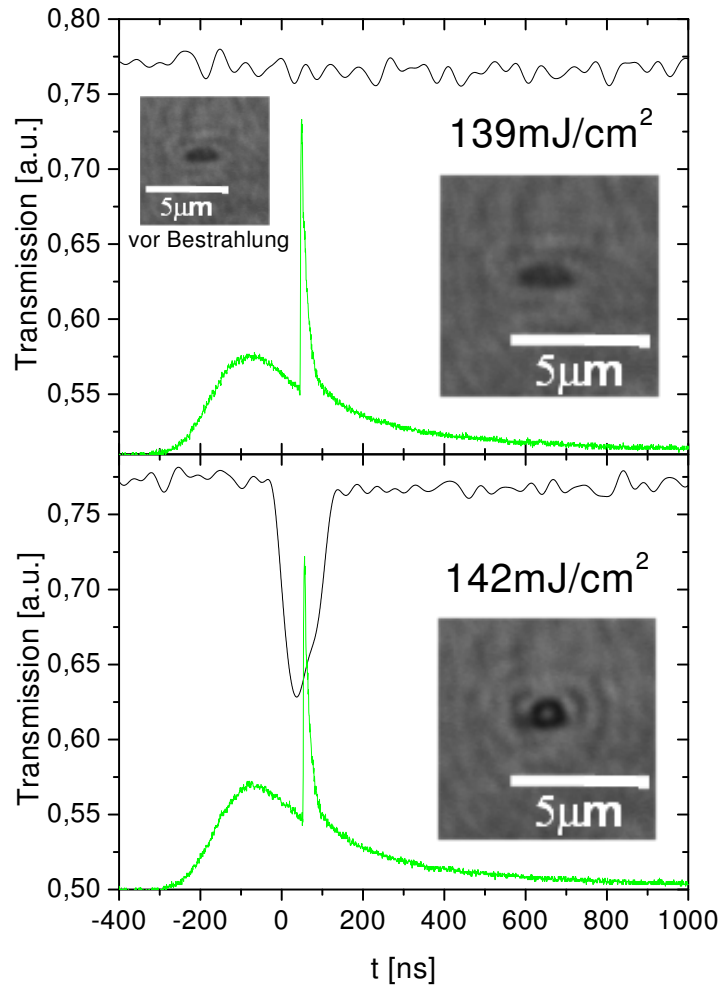


Abbildung 5.1: Vergleich zwischen Transmissionsmessung des Abfragelasers und Kurzzeitphotographie für ein identisches Melanosom an der Blasenbildungsschwelle (Versuchsaufbau nach Abb. 4.10). Relativ zu den dargestellten Photographien erfolgt die Bestrahlung von vorne (in die Papierebene hinein) und die Beleuchtung von hinten (aus der Papierebene heraus). Die Transmissionsmessung und Kurzzeitphotographie wurden simultan durchgeführt. Die schwarzen Kurven zeigen die transmittierte Intensität des Abfragelasers. Die grünen Kurven beschreiben den Bestrahlungspuls mit einer Dauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$ und den Beleuchtungspuls mit $\tau_{\text{Laser}} \approx 3\text{ns}$, die gemeinsam durch eine Photodiode detektiert wurden (Photodiode 2 in Abb. 4.10). Der obere Graph zeigt bei einer Bestrahlung von $H = 139\text{mJ/cm}^2$ eine zeitlich konstante transmittierte Intensität des Abfragelasers. Die zugehörige Photographie zeigt keine Veränderung des Melanosoms im Vergleich zu einem Zeitpunkt vor der Bestrahlung, so daß keine der beiden Methoden eine Blasenbildung detektiert. Wird die Bestrahlung für dasselbe Melanosom geringfügig auf $H = 142\text{mJ/cm}^2$ erhöht, erkennt man im unteren Graphen eine transiente Intensitätserniedrigung im Transmissionssignal des Abfragelasers. Wird während dieser Intensitätserniedrigung photographiert, erkennt man im Vergleich zur Bestrahlung mit $H = 139\text{mJ/cm}^2$ eine deutliche Veränderung in der Photographie, die sich als Blase interpretieren läßt.

sitätserniedrigung im Transmissionssignal des Abfragelasers. Diese besitzt eine Dauer von ungefähr 150ns . Photographiert man während dieser Intensitätserniedrigung kann man deutlich eine zusätzliche kreisförmige dunkle Struktur am Melanosom erkennen.

Diese Struktur läßt sich als Blase interpretieren. Wie im Versuchsaufbau in Abb. 4.10 dargestellt, wurde in Transmissionsgeometrie mit einem Hellfeldverfahren photographiert. Die Blasen erscheinen deshalb auf der Photographie dunkel, da sie aufgrund ihres geringeren Brechungsindex im Vergleich zum Wasser Licht durch Streuung und Brechung aus dem Strahlengang herauslenken [29]. Auf die gleiche Weise erklärt sich die transiente Intensitätserniedrigung des Abfragelaserlichts.

Ein thermischer Linsen-Effekt, der infolge thermisch verursachter Brechungsindexänderungen des flüssigen Wassers in der Umgebung des Melanosoms Licht aus dem Strahlengang herauslenkt, ist als Ursache für die in Abb. 5.1 beobachteten Phänomene unwahrscheinlich, da es sich hierbei um einen Schwellenprozeß handelt, bei dem signifikante Veränderungen der Signalform nur durch Bestrahlungsunterschiede von wenigen Prozent verursacht werden. Bei einer thermischen Linse würde man hingegen einen stetigen Prozeß erwarten, da sich der Brechungsindex von Wasser stetig mit der Temperatur verändert [239]. Bei einer thermischen Linse würde man außerdem erwarten, daß aufgrund einer homogenen Erhitzung des Partikels durch Lichtabsorption eine homogene Wasserschicht um das Partikel erwärmt wird, so daß eine thermische Linse das Partikel homogen umgeben würde. In Abb. 5.1 sind jedoch nur Veränderungen auf Teilen der Partikeloberfläche zu beobachten, so daß ein thermischer Linseneffekt unwahrscheinlich ist. Zudem würden die Abklingvorgänge bei einer thermischen Linse einer exponentiellen Charakteristik mit Zeitkonstanten folgen, die der thermischen Relaxationszeit von etwa $\tau_T^{H_2O} = 440\text{ns}$ (Tab. 4.1) entsprächen. Zharov et al. und Lapotko et al. beobachteten solche durch thermische Linsen-Effekte hervorgerufene Relaxationsvorgänge mit Hilfe der photothermischen Mikroskopie, die dem in dieser Arbeit benutzten Transmissionsverfahren ähnelt [272, 132]. Diese Signale weisen eine Anstiegszeit, die mit der Laserpulsdauer einhergeht, und eine exponentielle Abklingkurve auf, die von der Partikelgröße abhängt. Sie unterscheiden sich deutlich von den hier beobachteten Signalformen. Zusammenfassend kann man davon ausgehen, daß es sich bei dem in Abb. 5.1 beobachteten Phänomen um Blasenbildung handelt.

Wenn für die benutzten Partikel photographisch eine Blase detektiert wurde, ließ sich zugleich auch eine transiente Intensitätserniedrigung des Abfragelasers messen. Es läßt sich also feststellen, daß die beiden hier benutzten Verfahren, Transmissionsmessung und Kurzzeitphotographie, die gleiche Sensitivität für die Detektion der Blasenbildung um Mikropartikel besitzen. Für das photographische Verfahren ist die minimale detektierbare Blasengröße prinzipiell durch die optische Auflösung des Mikroskops begrenzt. Das Transmissionsverfahren ließe sich auch unterhalb der optischen Auflösungsgrenze benutzen. Die untere Grenze für

die Blasendetektion sollte nur durch das Verhältnis von abgelenkter Abfragelaser-Intensität infolge der Blasenbildung zur transmittierten Intensität in der Umgebung der Blase begrenzt werden.

5.2 Blasennukleation

Nachdem die Konsistenz der Methoden zur Blasendetektion bei Schwellenwertbestrahlung veranschaulicht wurde, soll zunächst der Nukleationsvorgang photographisch dokumentiert werden. Im Anschluß wird die Reproduzierbarkeit und Streuung der Schwellenbestrahlung für die Blasenbildung zwischen individuellen Partikeln untersucht. Eine Reproduzierbarkeit der Blasenbildungsschwelle ist notwendig für die Quantifizierung der experimentellen Messungen. Insbesondere beeinflusst die Varianz der Blasenbildungsschwellen die Genauigkeit der durch thermische Modellierung ermittelten Nukleationstemperaturen und Absorptionskoeffizienten.

5.2.1 Photographische Beobachtung der Nukleation

Zunächst wurde die Blasennukleation, wie sie in Abb. 5.1 zur Veranschaulichung der Konsistenz der Photographie und Transmissionsmessungen dargestellt wurde, mittels Kurzzeit-Mikrophotographie dokumentiert. Exemplarische Photographien an der Blasenbildungsschwelle zeigen in Abb. 5.2, daß für Melanosomen bei Bestrahlungsdauern von $12ns$ und $240ns$ die Blase typischerweise nur auf Teilen der Partikeloberfläche entsteht. Bei der Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von $1.8\mu s$ ergibt sich an der Bestrahlungsschwelle in Abb. 5.2 eine Blase, die das gesamte Partikel umschließt.

Für die magnetischen Silikatpartikel (chemicell SiMAG-EP), die mit einem Radius von $1.5\mu m$ etwas größer sind als die Melanosomen, läßt sich bei allen verwendeten Pulslängen ($12ns$, $240ns$ und $1.8\mu s$) in Schwellennähe eine Blase nur auf Teilen der Partikeloberfläche beobachten, was in Abb. 5.3 beispielhaft dargestellt ist. Für die Goldpartikel (chemicell MG-2/1) ist aufgrund der begrenzten Mikroskopauflösung in Abb. 5.3 nicht deutlich zu erkennen, ob die Blase bei Schwellenwertbestrahlung für die Blasenbildung nur Teile der Partikeloberfläche bedeckt oder das gesamte Partikel umschließt. Die Blasenbildungsschwellen lassen sich jedoch mit dem Transmissionsverfahren gut bestimmen.

Photographiert man die Blasenbildung nahe der Blasenbildungsschwelle bei repetierender Bestrahlung mit einer Wiederholfrequenz von $0.1Hz$ mit jeweils derselben Pulsenergie zum selben Zeitpunkt relativ zum Bestrahlungspuls, läßt sich beobachten, daß die Blasennukleation in den meisten Fällen reproduzierbar am selben Ort auf der Partikeloberfläche stattfindet. Diese Beobachtung ist für die magnetischen Silikatpartikel (SiMAG-EP) in Abb. 5.4 und für die Melanosomen anhand von Kurzzeitphotographien exemplarisch in Abb. 5.5 dokumentiert.

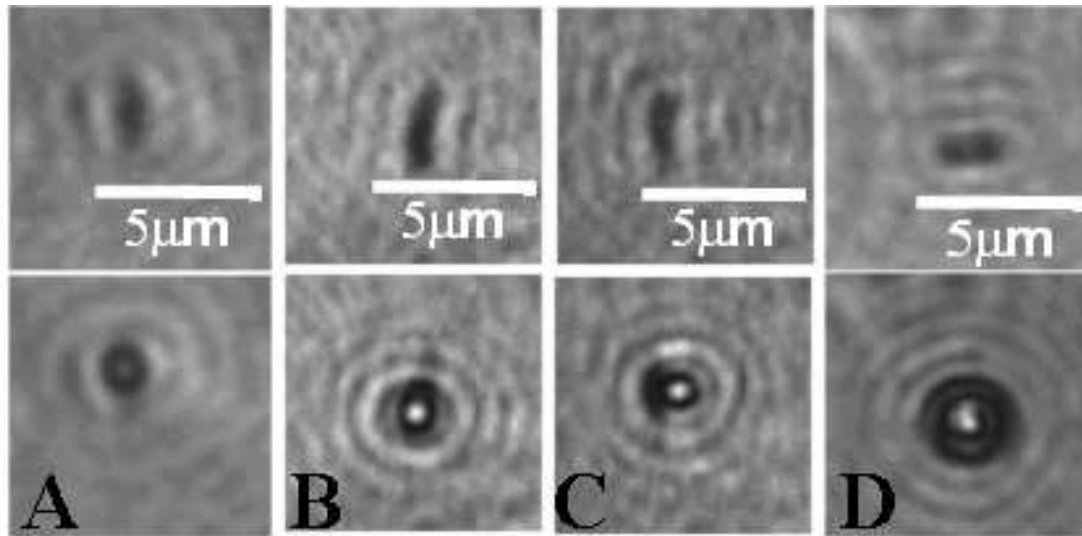


Abbildung 5.2: Nukleation an Melanosomen bei Bestrahlung mit verschiedenen Laserpulsdauern an der Blasenbildungsschwelle: Die Bilder in der oberen Reihe zeigen das Melanosom vor der Bestrahlung. In der unteren Reihe ist jeweils die Blasenbildung um das gleiche Melanosom wie aus der oberen Reihe zu sehen. Laserpulsdauer τ_{Laser} , Bestrahlung H , Blasenlebensdauer τ_{Blase} und Zeitpunkt der Photographie relativ zum Zeitpunkt der Blasenbildung t_{photo}^B bzw. des halben Pulsenergieeintrags t_{photo}^E lagen bei:

A: $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$, $H = 128\text{mJ/cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 146\text{ns}$, $t_{\text{photo}}^B = 66\text{ns}$,

B: $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$, $H = 209\text{mJ/cm}^2$, $t_{\text{photo}}^E = 138\text{ns}$,

C: $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$, $H = 262\text{mJ/cm}^2$, $t_{\text{photo}}^E = 52\text{ns}$,

D: $\tau_{\text{Laser}} = 1.8\mu\text{s}$, $H = 775\text{mJ/cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 205\text{ns}$, $t_{\text{photo}}^B = 119\text{ns}$.

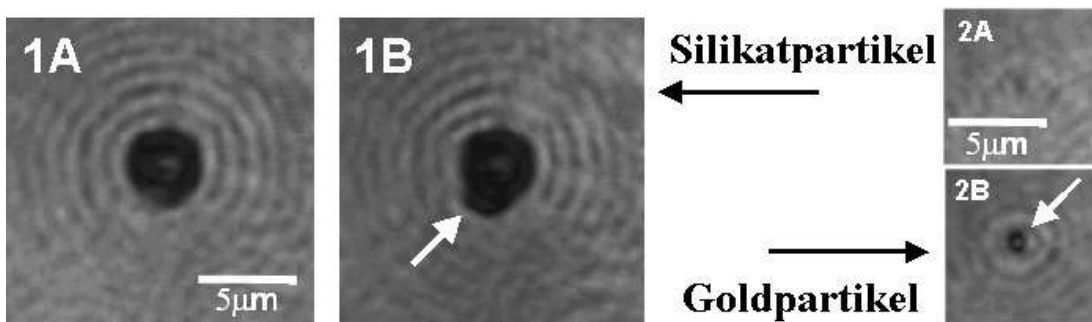


Abbildung 5.3: Nukleation an der Blasenbildungsschwelle bei magnetischen Silikatpartikeln SiMAG-EP (1) und Goldpartikeln MG-2/1 (2), A: Partikel vor der Bestrahlung, Bestrahlungsparameter: 1B: $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$, $H = 600\text{mJ/cm}^2$, $t_{\text{photo}}^E = 99\text{ns}$; 2B: $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$, $H = 42\text{mJ/cm}^2$, $t_{\text{photo}}^E = 50\text{ns}$.

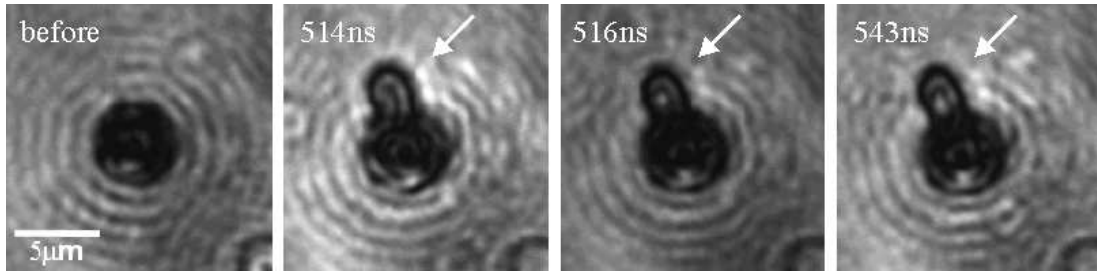


Abbildung 5.4: Reproduzierbare Blasenbildung an magnetischen Silikatpartikeln (SiMAG-EP) bei repetierender Laserbestrahlung mit $H = 970\text{mJ}/\text{cm}^2$ und einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 1.8\mu\text{s}$. Auf der linken Photographie ist das Partikel vor der Bestrahlung zu sehen. Der Zeitpunkt der Photographien relativ zum halben Bestrahlungspulsenergieeintrag (t_{photo}^E) ist jeweils aus den Photos zu entnehmen.

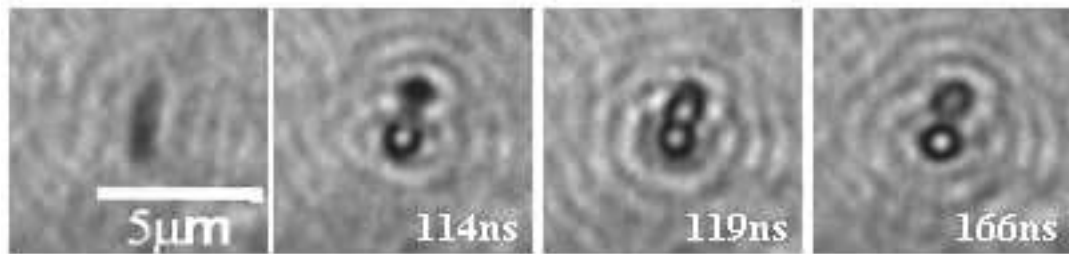


Abbildung 5.5: Reproduzierbare Blasenbildung an Melanosomen bei repetierender Laserbestrahlung mit $H = 225\text{mJ}/\text{cm}^2$ und einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$. Auf der linken Photographie ist das Melanosom vor der Bestrahlung zu sehen. Der Zeitpunkt der Photographien relativ zum halben Bestrahlungspulsenergieeintrag (t_{photo}^E) ist jeweils auf den Photos dargestellt.

5.2.2 Statistik der Blasenbildungsschwellen

Nachdem im vorigen Abschnitt die Blasennukleation bei der Schwellenwertbestrahlung für Blasenbildung für die drei verwendeten Partikelsorten anhand exemplarischer Kurzzeitphotographien qualitativ charakterisiert wurde, werden nun die Blasenbildungsschwellen systematisch untersucht, um Informationen über deren statistische Verteilung und Reproduzierbarkeit zu erhalten. Dazu wurden zunächst einzelne Partikel bei einer Wiederholfrequenz von 10Hz repetierend bestrahlt. Das Auftreten von Blasen wurde mit Hilfe von Transmissionsmessungen detektiert. Unter Variation der applizierten Bestrahlung wurden jeweils 50 aufeinanderfolgende Bestrahlungsereignisse mit dem Digitaloszilloskop aufgezeichnet.

Die repetierende Bestrahlung eines Melanosoms bei einer Pulslänge von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$ ist in Abb. 5.6 beispielhaft dargestellt. Es ist ersichtlich, daß die Blasenbildungsschwelle für ein einzelnes Partikel, dessen Position zur Strahlquelle nicht verändert wird, bei wiederholtem Überschreiten der Schwelle annähernd konstant

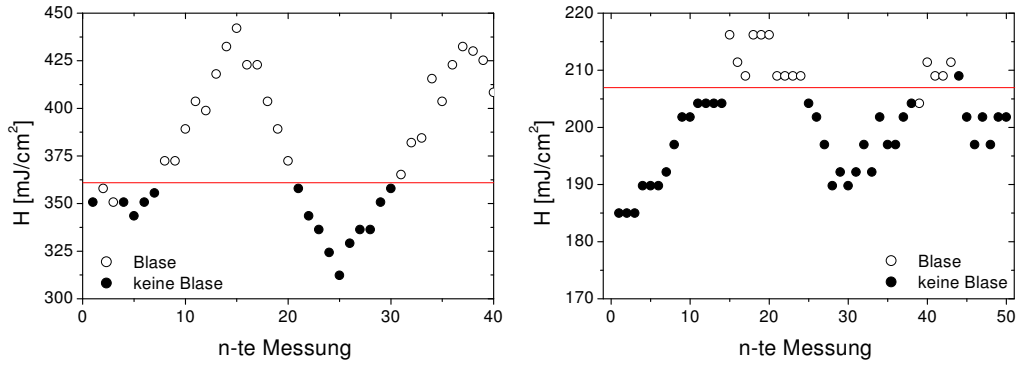


Abbildung 5.6: *Blasenbildung bei repetierender Bestrahlung von Melanosomen mit einer Pulslänge von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$. Die Graphen links und rechts gehören zu zwei verschiedenen Melanosomen mit unterschiedlichen Blasenbildungsschwellen. Die zur Blasenbildung benötigte Bestrahlung bleibt über die Anzahl der Messungen annähernd konstant. Die Blasenbildungsschwelle ist jeweils durch eine waagerechte Linie gekennzeichnet.*

bleibt. In Abb. 5.6 ist (wie auch schon in Abb. 5.1) die Genauigkeit der Messung der Blasenbildungsschwellen durch die Genauigkeit der Pulsenergiemessung mit der kalibrierten Photodiode begrenzt. Aus Abb. 5.6 läßt sich zusätzlich folgern, daß die Blasenbildungsschwelle im Rahmen der Meßgenauigkeit keine nennenswerte Hysterese aufweist. Hat also bei repetierender Bestrahlung durch Erhöhung der Bestrahlung die Nukleation oberhalb einer bestimmten Schwelle eingesetzt, so verschwindet die transiente Blasenbildung mit sinkender Bestrahlung bei derselben Bestrahlungsschwelle wieder.

Zur Beschreibung von Schwellenprozessen mit binärem Ausgang (ja / nein-Entscheidung) in Abhängigkeit von einer kontinuierlichen Variablen benutzt man oftmals die Probit-Verteilung, die in Anhang A.5 ausführlicher beschrieben wird. Paßt man eine Probit-Verteilung an die binären Meßwerte zur Blasenbildung (Blase vorhanden: ja / nein) als Funktion der applizierten Bestrahlung an, so erhält man die Bestrahlungsschwelle ED_{50} für Blasenbildung, bei der die Wahrscheinlichkeit für eine Blasenbildung 50% beträgt. Ein weiterer Parameter der Probit-Verteilung ist die Probit-Slope [222] $S = ED_{84}/ED_{50} = ED_{50}/ED_{16}$, die nach Anhang A.5 ähnlich einer Standardabweichung bei der Normalverteilung, die Streuung der Verteilung beschreibt.

Für die repetierende Bestrahlung individueller Partikel, wie sie in Abb. 5.6 dargestellt ist, erhält man Probit-Verteilungen mit einer sehr kleinen Probit-Slope, die typischerweise im Bereich von $S \lesssim 1.01$ liegt. Das bedeutet also, die Bestrahlung, bei der mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% eine Blasenbildung stattfindet, unterscheidet sich um weniger als $S-1 \lesssim 1\%$ von der Bestrahlung, bei der die Blasenbildung mit einer Wahrscheinlichkeit von 84% bzw. 16% auftritt.

In Abb. 5.7 sind exemplarische Meßreihen zur Blasenbildung an Melanosomen zusammen mit einer angepaßten Probit-Verteilung dargestellt.

Die verwendeten Goldpartikel und magnetischen Silikatpartikel verhalten sich an der Blasenbildungsschwelle ähnlich wie die Melanosomen, so daß an dieser Stelle auf eine ausführliche Beschreibung der Messungen für diese Partikel verzichtet wird.

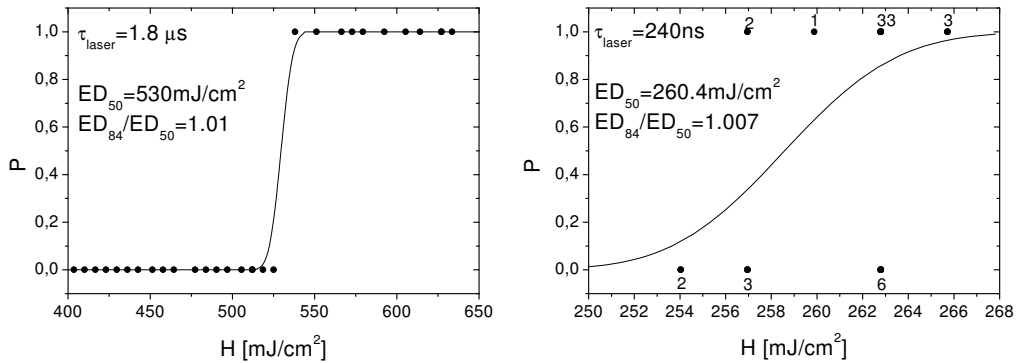


Abbildung 5.7: Bestimmung der Blasenbildungsschwelle für jeweils ein identisches Melanosom bei Bestrahlungspulslängen von $\tau_{\text{Laser}} = 1.8 \mu\text{s}$ (links) und $\tau_{\text{Laser}} = 240 \text{ns}$ (rechts). Zusätzlich zu den Meßwerten ist die angepaßte Probit-Verteilung dargestellt. Wegen der Digitalisierung des Photodiodensignals, das zur Energiemessung herangezogen wird, mit dem Digitaloszilloskop erhält man nur diskrete Bestrahlungswerte. Die Meßpunkte im rechten Graphen wurden deshalb mit einem statistischen Gewicht entsprechend der Zahl der Einzelresultate pro Bestrahlungswert versehen.

Da sich der Übergang von unwahrscheinlicher zu sehr wahrscheinlicher Blasenbildung nach Abb. 5.7 in einem sehr kleinen Bestrahlungsfenster abspielt, wird die Bestimmung der Blasenbildungsschwellen für individuelle Partikel in den folgenden Messungen nicht mit Hilfe der Probit-Verteilung angepaßt, sondern durch Energievariation direkt bestimmt, d. h. die Bestrahlung wird mit Hilfe des variablen Abschwächers in Schritten von wenigen Prozent solange erhöht (bzw. erniedrigt), bis die Blasenbildung einsetzt (aufhört). Der Fehler dieser Vorgehensweise zur Bestimmung der Blasenbildungsschwelle wird durch die Schrittgröße bei der Energieerhöhung (bzw. -erniedrigung) vorgegeben und liegt deshalb im Bereich von wenigen Prozent, was – wie sich im nächsten Absatz zeigen wird – ausreichend ist.

Bestrahlt man unterschiedliche Partikel der gleichen Sorte, so erhält man eine größere Streuung der Blasenbildungsschwellen. Eine typische Verteilung der Blasenbildungsschwellen von Melanosomen für eine Bestrahlung mit Pulsdauern von $\tau_{\text{Laser}} = 240 \text{ns}$ ist in Abb. 5.8 dargestellt. Ein solches Verhalten, bei dem sich die Schwellen für die einzelnen Partikel zum Teil sehr stark voneinander un-

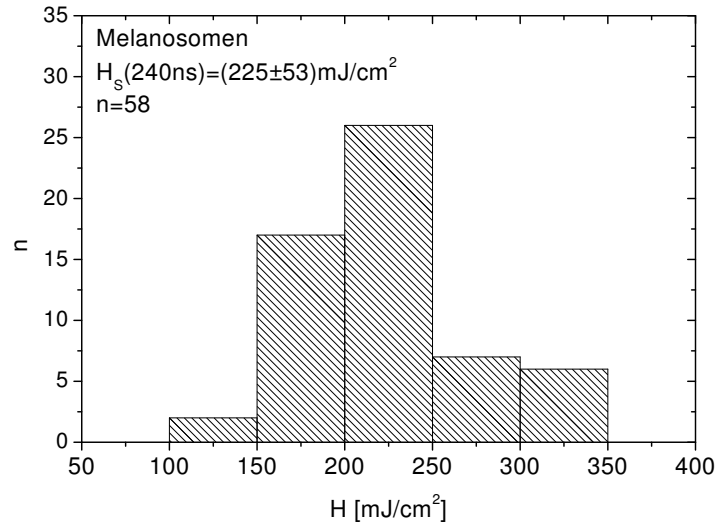


Abbildung 5.8: Verteilung der Blasenbildungsschwellen bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$ für $n = 58$ verschiedene Melanosomen. Die mittlere Blasenbildungsschwelle liegt bei einer Bestrahlung von $H_s = (225 \pm 53)\text{mJ}/\text{cm}^2$.

terscheiden, ist für alle verwendeten Partikelsorten zu beobachten. Deshalb wird im folgenden jeweils nur eine mittlere Schwelle und deren Standardabweichung bestimmt. Die Ursache für die Streuung der Blasenbildungsschwellen kann in Größenunterschieden der Partikel untereinander liegen, so daß die gleiche Bestrahlung zu einer unterschiedlichen Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche führt. Zusätzlich kann sich bei Variationen der Oberflächenmorphologie der Partikel auch eine unterschiedliche Nukleationstemperatur für unterschiedliche Partikel der gleichen Sorte ergeben (vgl. ausführliche Diskussion in 5.4.1).

5.2.3 Thermische Modellierung der Blasenbildungsschwellen

Für die Berechnung der laserinduzierten Temperaturerhöhung stehen nach Abschnitt 3.2 zwei verschiedene thermische Modelle zur Auswahl, die allerdings beide die Temperaturerhöhung infolge der Laserbestrahlung nicht exakt beschreiben. Deshalb soll an dieser Stelle abgeschätzt werden, welches Modell für die jeweilige Fragestellung am besten geeignet ist.

Das halbanalytische Modell aus Abschnitt 3.2.1 hat den Nachteil, daß die im Partikel durch Lichtabsorption deponierte Wärme nur räumlich homogen zugeführt werden kann. Die Gesamtabsorption des Partikels ist frei wählbar, so daß auch eine mit Hilfe der Mie-Theorie für das Partikel berechnete Absorptionseffizienz benutzt werden kann. Der Vorteil des halbanalytischen Modells liegt darin, daß die exakte in den Experimenten verwendete Laserpulsform mit in die

Berechnung einfließt. Zudem können die Materialeigenschaften wie Dichte, Wärmekapazität und Wärmediffusivität innerhalb des Partikels unabhängig von den Materialeigenschaften der Partikelumgebung gewählt werden.

Bei dem numerischen Modell aus Abschnitt 3.2.2 erfolgt die Lichtabsorption nach dem Lambert-Beerschen Absorptionsgesetz. Es kann eine beliebige Absorbergeometrie vorgegeben werden. Reflexionen des eingestrahnten Lichts an der Partikeloberfläche oder Effekte aus der Mie-Theorie werden in diesem Modell nicht berücksichtigt. Außerdem kann die Laserbestrahlung nur mit zeitlichen Rechteckpulsen modelliert werden. Zudem muß aufgrund des implementierten Algorithmus die Wärmediffusivität innerhalb des Partikels den gleichen Wert wie in der Umgebung des Partikels besitzen.

Zur Modellierung der Wärmeleitung bei der Bestrahlung von Goldpartikeln ist das halbanalytische Modell besser geeignet, da die kurze Thermalisierungszeit des Goldpartikels von $\tau_T = 130ps$ (Tab. 4.1) im Vergleich zur applizierten Pulslänge zu einer räumlich homogenen Wärmeverteilung im Partikel während des Laserpulses führt, so daß die Modellierung einer räumlich homogenen Energiezufuhr in diesem Fall keinen Nachteil darstellt.

Melanosomen hingegen besitzen nach Anhang A.1 ähnliche thermische Eigenschaften wie das umliegende Wasser, so daß prinzipiell auch das numerische Modell verwendet werden könnte. Zudem ist der nach der Mie-Theorie zur Berechnung von Absorptionseffizienzen benötigte komplexe Brechungsindex von Melanosomen nicht bekannt. Bisherige Messungen des Absorptionskoeffizienten von Melanosomen liefern Werte von $\mu_{abs} \lesssim 1\mu m^{-1}$ [260, 36, 78], so daß die Näherung eines optisch dünnen Melanosoms, für das nach Abschnitt 3.1.2 $\mu_{abs}R \ll 1$ gelten muß, nur grenzwertig erfüllt ist. Deshalb könnte auch eine inhomogene Erwärmung des Melanosoms die Blasenbildungsschwelle beeinflussen. Zur Abschätzung des Temperaturfehlers, der aus der inhomogenen Erwärmung resultiert, wurde die Temperaturerhöhung für eine Bestrahlung mit zeitlichen Rechteckpulsen mit beiden thermischen Modellen für einen Absorptionskoeffizienten des Melanosoms von $\mu_{abs} = 0.8\mu m^{-1}$ [36] berechnet und in Abb. 5.9 dargestellt. Da jeweils die maximale Oberflächentemperatur des Partikels die Blasen nukleation bestimmt, sind die mit den beiden Modellen berechneten maximalen Oberflächentemperaturen in Tab. 5.1 gegenübergestellt. Man erkennt dort, daß die Modellierung mit homogener Wärmezufuhr, die einem optisch dünnen Partikel mit $Q_{abs} = \frac{4}{3}(\mu_{abs}R)$ (Gl. 3.3) entspricht, auf der Partikeloberfläche nur zu einem relativen Fehler von etwa 10% gegenüber einer Modellierung der Absorption nach dem Lambert-Beerschen Gesetz führt.

Vergleicht man im halbanalytischen Modell unter Annahme einer homogenen Wärmequelle im Partikel die Erwärmung infolge eines zeitlichen Rechteckpulses mit der Erwärmung durch die in den Experimenten verwendeten realen Pulsformen, erkennt man in Abb. 5.10, daß sich bei der Verwendung eines zeitlichen Rechteckpulses Fehler in der maximal erreichten Oberflächentemperatur von bis zu 30% ergeben können. Da die Bestrahlung mit $12ns$ -Pulsen unter thermischen

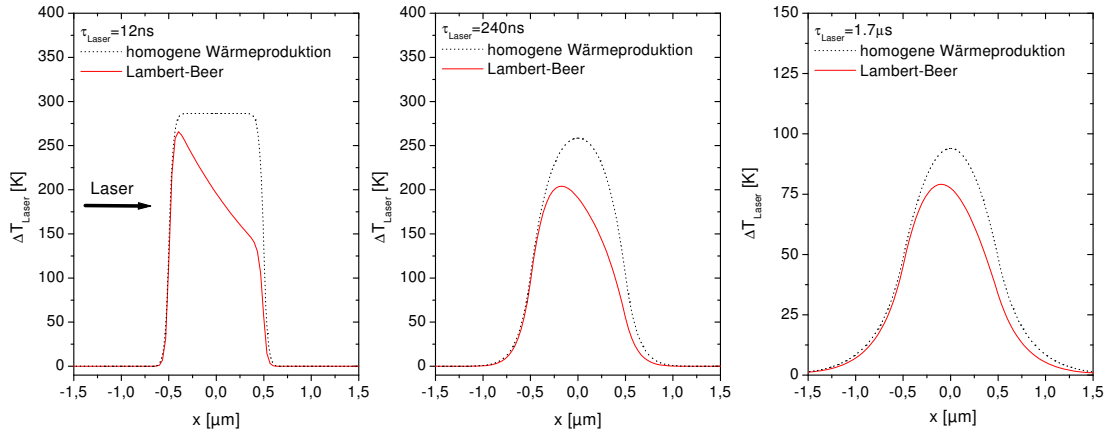


Abbildung 5.9: Berechnete laserinduzierte Temperaturerhöhung ΔT_{Laser} eines kugelförmigen Partikels ($R = 0.5\mu\text{m}$, $H = 150\text{mJ}/\text{cm}^2$, $\mu_{abs} = 0.8\mu\text{m}^{-1}$) auf einer Schnittgeraden durch den Kugelmittelpunkt entlang der Bestrahlungsrichtung am Pulsende eines zeitlichen Rechteckpulses. Es ist der Vergleich zwischen dem numerischen Modell mit räumlich inhomogener Wärmezufuhr nach dem Lambert-Beer'schen Absorptionsgesetz (Abschnitt 3.2.2) und dem halbanalytischen Modell mit homogener Wärmezufuhr (Abschnitt 3.2.1) dargestellt.

	$\Delta T_{max}^{LB}(R)$ [K]	$\Delta T_{max}^h(R)$ [K]	$\Delta T_{max}^h / \Delta T_{max}^{LB}$
$\tau_{Laser} = 12\text{ns}$	121.9	134.3	1.11
$\tau_{Laser} = 240\text{ns}$	96.6	103.3	1.07
$\tau_{Laser} = 1.7\mu\text{s}$	45.3	48.6	1.07

Tabelle 5.1: Vergleich der maximalen Temperaturerhöhungen auf der dem Bestrahlungslaser zugewandten Oberfläche (Abb. 5.9: $x = -0.5\mu\text{m}$) eines Partikels bei einer Bestrahlung von $H = 150\text{mJ}/\text{cm}^2$. Das Partikel besitzt einen Radius von $R = 0.5\mu\text{m}$ und einem Absorptionskoeffizienten von $\mu_{abs} = 0.8\mu\text{m}^{-1}$. $\Delta T_{max}^{LB}(R)$ ist die Temperaturerhöhung, die mit einer räumlich inhomogenen Wärmezufuhr nach dem Lambert-Beer Gesetz berechnet wurde, und $\Delta T_{max}^h(R)$ ist die unter Annahme einer homogenen Wärmezufuhr berechnete Temperaturerhöhung. Es ergeben sich relative Abweichungen von etwa 10% zwischen den unterschiedlichen Modellen. Diese sind aufgrund der Linearität der Wärmeleitungsgleichung unabhängig von der applizierten Bestrahlung.

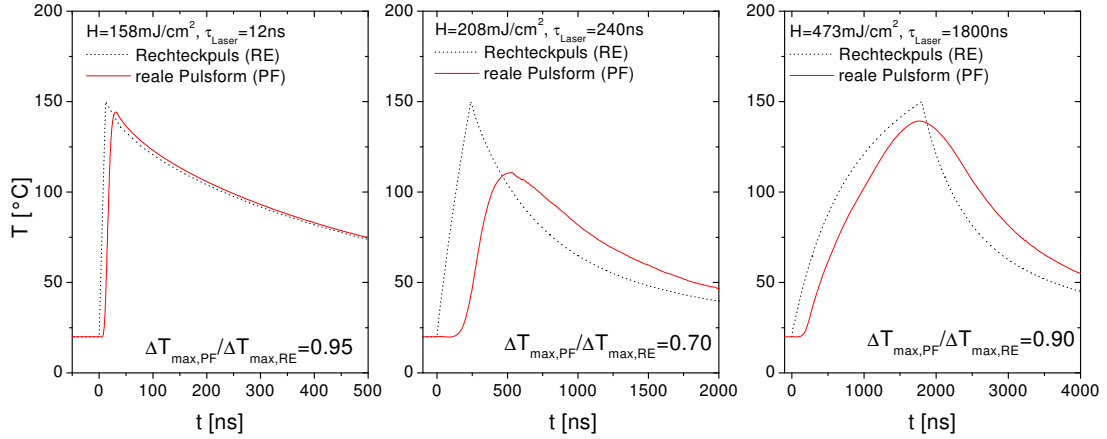


Abbildung 5.10: Vergleich der zeitlichen Verläufe der Temperatur auf der Oberfläche von kugelförmigen Melanosomen ($R = 0.5\mu\text{m}$, $Q_{\text{abs}} = 0.46 \Rightarrow \mu_{\text{abs}} = 0.7\mu\text{m}^{-1}$ nach Gl. 3.3) zwischen Bestrahlung mit zeitlichen Rechteckpulsen und der in den Experimenten verwendeten Pulsform (Abb. 4.9). Die Dauer der Rechteckpulse entspricht dabei jeweils der vollen Halbwertsbreite (FWHM) der in den Experimenten verwendeten Pulsform. Die Berechnung erfolgte mit dem halb-analytischen Modell aus Abschnitt 3.2.1 bei räumlich homogener Wärmezufuhr. $\Delta T_{\text{max,PF}}/\Delta T_{\text{max,RE}}$ gibt das Verhältnis von maximaler Temperaturerhöhung bei Verwendung der in den Experimenten benutzten Pulsform (PF) zu einem Rechteckpuls (RE) an. Da die Temperaturerhöhung proportional zur Absorptionseffizienz Q_{abs} und zur Bestrahlung H ist (vgl. Gl. 3.12), ist das Verhältnis $\Delta T_{\text{max,PF}}/\Delta T_{\text{max,RE}}$ unabhängig von der Wahl dieser Parameter.

Einschlußbedingungen erfolgt und die Energiezufuhr als räumlich homogen modelliert wird, spielt die Wärmeleitung während des Laserpulses und damit auch die Laserpulsform eine vernachlässigbare Rolle. Für eine Pulsdauer von $1.8\mu\text{s}$ ist die in den Experimenten verwendete Pulsform einem zeitlichem Rechteckpuls sehr ähnlich (vgl. 4.9). Deshalb erhält in Abb. 5.10 für die 240ns -Pulse, die ein gaußähnliches Zeitprofil besitzen, den größten Fehler in der Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche.

Eine weitere Fehlerursache für Abweichungen der realen Oberflächentemperatur von der berechneten ist bei den Melanosomen in Abweichungen der Absorbergeometrie von der Kugelform zu finden. Da sich nach Abb. 4.1 die Form der Melanosomen untereinander stark unterscheiden kann, läßt sich dieser Fehler kaum quantifizieren. Für einige Beispielrechnungen mit rotationselliptischen Melanosomen sei auf Neumann et al. [165] verwiesen.

Die Annahme einer Bestrahlung mit einem zeitlichen Rechteckpuls kann also unter Berücksichtigung des Lambert-Beerschen Absorptionsgesetzes einen größeren Fehler in der Berechnung der Temperaturerhöhung auf der Melanosomen-

berfläche verursachen als die Annahme eines optisch dünnen Melanosoms unter Verwendung der in den Experimenten benutzten Laserpulsformen. Es wird zur Berechnung der Temperaturerhöhung sowohl für die Goldpartikel als auch für die Melanosomen auf das halbanalytische Modell zurückgegriffen.

5.2.4 Temperaturabhängigkeit der Blasenbildungsschwellen

In diesem Abschnitt wird die Abhängigkeit der Blasenbildungsschwellen von der Partikelsuspensionstemperatur zur Bestimmung der Nukleationstemperaturen benutzt. Da man sich bei der Bestrahlung für alle verwendeten Pulsängen und Partikelarten außerhalb des akustischen Einschlusses befindet, kann der Heizvorgang der Partikel durch die Lichtabsorption als isobar betrachtet werden. Der Laser heizt das Partikel bei Umgebungsdruck soweit auf, bis die Nukleationstemperatur, die zwischen Binodaler und Spinodaler liegen muß, erreicht wird. Dieser Vorgang

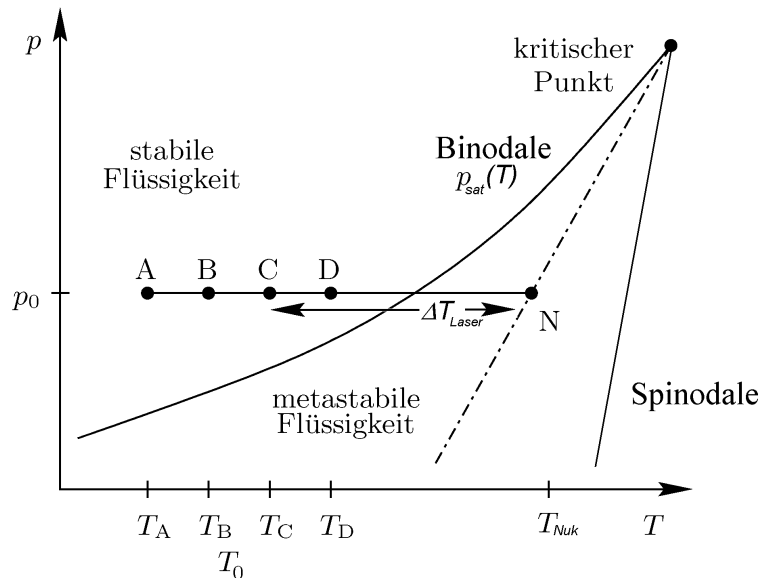


Abbildung 5.11: Meßprinzip zur Bestimmung der Nukleationstemperaturen: Bei Erhöhung der Suspensionstemperatur T_0 wird eine geringere laserinduzierte Temperaturerhöhung ΔT_{Laser} benötigt, um die Nukleationstemperatur T_{Nuk} zu erreichen. Die Blasenbildungsschwelle sinkt. Mit Hilfe von Gl. 5.1 kann dann die Nukleationstemperatur extrapoliert werden.

ist im Phasendiagramm aus Abb. 5.11 skizziert. Erhöht man die Temperatur der Partikelsuspension, so sinkt die Temperaturerhöhung ΔT_{Laser} , die durch die Laserbestrahlung erbracht werden muß, um die Nukleationstemperatur zu erreichen. Man erhält also bei einer Erhöhung der Suspensionstemperatur niedrigere Blasenbildungsschwellen. Bei temperaturunabhängigen thermischen Materialeigenschaften wie Wärmediffusivität und volumetrischer Wärmekapazität, die in

die Wärmeleitungsgleichung 3.4 eingehen, erhält man für die Abhängigkeit der für die Blasenbildung notwendigen Bestrahlung H_S von der Suspensionstemperatur T_0 die lineare Beziehung

$$\begin{aligned} H_S(T_0) &= \frac{H}{\Delta T_{Laser}(I(t), Q_{abs})} (T_{Nuk} - T_0) \\ &= B(Q_{abs})(T_{Nuk} - T_0). \end{aligned} \quad (5.1)$$

Die Nukleationstemperatur T_{Nuk} läßt sich durch Extrapolation dieser Geraden am Schnittpunkt mit der x-Achse ablesen. Zusätzlich kann aus der Geradensteigung mit Hilfe der Wärmeleitungsgleichung die Absorptionseffizienz des Partikels Q_{abs} bestimmt werden.

Nach Anhang A.2 zeigen die thermischen Materialeigenschaften von Wasser und Gold nur eine geringe Temperaturabhängigkeit im Bereich von 20°C-300°C. Die thermischen Eigenschaften von Magnetit zeigen ebenfalls nur eine vernachlässigbare Temperaturabhängigkeit [218, 217, 160]. Die Temperaturabhängigkeit der thermischen Eigenschaften von Melanosomen ist nicht bekannt und wird im folgenden ebenso wie die Materialeigenschaften der anderen Materialien als konstant angenommen, so daß zur Extrapolation der Nukleationstemperatur die lineare Interpolation aus Gl. 5.1 verwendet werden kann. Dieses Verfahren zur Bestimmung der Nukleationstemperatur wurde bereits von Jacques und McAuliffe [110] bei Hautmelanosomen und von Kelly [118] bei RPE-Melanosomen benutzt.

In der vorliegenden Arbeit wurden mit dieser Methode die Nukleationstemperaturen für die magnetischen Silikatpartikel (SiMAG-EP) und die RPE-Melanosomen sowohl bei einer Pulsdauer von 12ns als auch bei einer Dauer von 1.8µs bestimmt. Die Temperatur der Suspension wurde zwischen 20°C und 60°C variiert. Wegen der Streuung der Blasenbildungsschwellen zwischen verschiedenen Partikeln der gleichen Sorte wird während der Variation der Suspensionstemperatur jeweils die Veränderung der Blasenbildungsschwelle eines einzigen Partikels untersucht. Während der Heiz- und Abkühlungszyklen wurde kein Hystereseverhalten der Blasenbildungsschwellen festgestellt.

Für die Goldpartikel (MG-2/1), deren Durchmesser mit 500nm nahe an der optischen Auflösungsgrenze liegt, konnte die Nukleationstemperatur mit diesem Verfahren nicht bestimmt werden, da nur eine schwache Abhängigkeit der Blasenbildungsschwelle von der Suspensionstemperatur festgestellt wurde, deren Messung zusätzlich durch die Brownsche Partikelbewegung bei höheren Temperaturen erschwert wurde. Die Nukleationstemperatur für die Goldpartikel wird in Abschnitt 5.2.5 mit einem anderen Verfahren bestimmt.

Die Nukleationstemperatur wurde zu jedem Parameter anhand von jeweils 10 Partikeln bestimmt. Exemplarische Graphen der Blasenbildungsschwelle als Funktion der Suspensionstemperatur sind für Melanosomen und magnetische Silikatpartikel in Abb. 5.12 dargestellt. Aus den jeweils 10 Messungen ergaben sich die in Tab. 5.2 dargestellten Mittelwerte und Standardabweichungen. Man

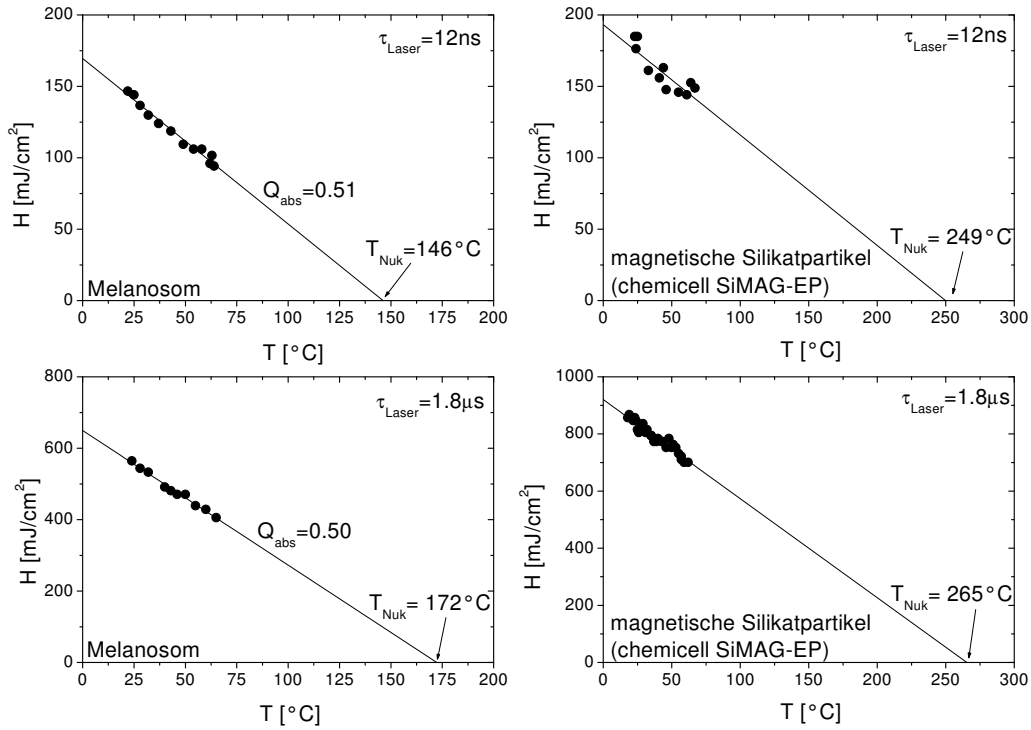


Abbildung 5.12: Durch Messung der Temperaturabhängigkeit der Blasenbildungsschwelle extrapolierte Nukleationstemperaturen einzelner Partikel. Für die Melanosomen ist zusätzlich die aus der Geradensteigung berechnete Absorptionseffizienz Q_{abs} angegeben.

T_{Nuk}	$\tau_{Laser} = 12\text{ ns}$	$\tau_{Laser} = 1.8\text{ }\mu\text{s}$	$\overline{T_{Nuk}}$
Melanosomen	$(136 \pm 26)^\circ\text{C}$	$(157 \pm 33)^\circ\text{C}$	$(147 \pm 20)^\circ\text{C}$
SiMAG-EP	$(242 \pm 46)^\circ\text{C}$	$(246 \pm 38)^\circ\text{C}$	$(244 \pm 30)^\circ\text{C}$

Tabelle 5.2: Mittlere Nukleationstemperaturen, die aus Messungen an jeweils $n=10$ Partikeln für jede Partikelsorte und Pulsdauer bestimmt wurden. Die Messungen zu den unterschiedlichen Pulsdauern wurden durch Mittelwertbildung zu $\overline{T_{Nuk}}$ zusammengefasst.

kann aus dieser Tabelle entnehmen, daß die Nukleationstemperatur hauptsächlich durch die Partikelorte bestimmt wird. Innerhalb der Fehlergenauigkeit ist keine signifikante Abhängigkeit der Nukleationstemperatur von der Pulslänge festzustellen. Aus diesem Grunde wurden die Nukleationstemperaturen für die verwendeten Pulslängen noch einmal zu $\overline{T_{Nuk}}$ gemittelt.

Aus der Geradensteigung der temperaturabhängigen Blasenbildungsschwellen wurde die Absorptionseffizienz Q_{abs} mit Hilfe des halbanalytischen Wärmeleitungsmodells aus Abschnitt 3.2.1 bestimmt. Dafür wurde als Näherung angenommen, daß das Melanosom ein kugelförmiges Partikel mit einem Radius von $R = 0.5\mu m$ ist. Die für die Absorptionseffizienz berechneten Werte sind in Tab. 5.3 zusammengestellt.

Q_{abs}	$\tau_{Laser} = 12ns$	$\tau_{Laser} = 1.8\mu s$	$\overline{Q_{abs}}$
Melanosomen	0.38 ± 0.12	0.34 ± 0.14	0.36 ± 0.09

Tabelle 5.3: *Mittlere Absorptionseffizienz, die aus Messungen an jeweils $n=10$ Melanosomen bestimmt wurden. Die Messungen zu den unterschiedlichen Pulsdauern wurden durch Mittelwertbildung zu $\overline{Q_{abs}}$ zusammengefaßt.*

Auf eine Modellierung der Absorptionseigenschaften der magnetischen Silikatpartikel (SiMAG-EP) wurde aufgrund der in Abschnitt 4.1.3 beschriebenen inhomogenen Zusammensetzung verzichtet.

5.2.5 Abhängigkeit der Blasenbildungsschwellen von der Bestrahlungspulsdauer

Die Blasenbildungsschwellen wurden in weiteren Experimenten bei Umgebungstemperatur als Funktion der Laserpulsdauer untersucht. Auch hier wurde aufgrund der inhomogenen Absorptionseigenschaften auf eine Messung der Blasenbildungsschwellen für die magnetischen Silikatpartikel (SiMAG-EP) verzichtet. Die Blasenbildungsschwellen wurden also nur für die Melanosomen und die Goldpartikel (MG-2/1) bestimmt. Aufgrund der Streuung der Blasenbildungsschwellen für verschiedene Partikel derselben Sorte (vgl. Abb. 5.8) werden in Tab. 5.4 die mittleren Blasenbildungsschwellen und die zugehörige Standardabweichung genannt. Diese wurden jeweils aus mehr als 50 Schwellen für individuelle Partikel bestimmt. In Tab. 5.4 zeigt sich, daß die Blasenbildungsschwelle mit zunehmender Pulsdauer ansteigt. Dieser Sachverhalt läßt sich durch Wärmeleitung während des Laserpulses in die Flüssigkeit erklären, denn für alle verwendeten Pulsdauern – außer für die Bestrahlung mit $12ns$ – gilt, daß die Pulsdauer länger als die thermische Einschlußzeit $\tau_T^{H_2O}$ aus Tab. 4.1 ist oder zumindest in der gleichen Größenordnung liegt. Also diffundiert bei gleicher Bestrahlung H mit zunehmender Pulsdauer während des Pulses mehr Wärme in die wäßrige Umgebung des

τ_{Laser} [ns]	Melanosomen H_S [mJ/cm ²]	Goldpartikel H_S [mJ/cm ²]
12	117 ± 28	106 ± 31
240	225 ± 53	216 ± 84
585	304 ± 65	
1800	628 ± 159	651 ± 168
3500	750 ± 150	

Tabelle 5.4: Experimentelle Blasenbildungsschwellen für Melanosomen und Goldpartikel (chemicell MG-2/1) bei verschiedenen Laserpulsdauern. Es sind jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung aus $n > 50$ Einzelmessungen dargestellt.

Partikels, was zu einer weniger starken Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche führt.

Zur Modellierung der Blasenbildungsschwellen wurde das halbanalytische Modell (Gl. 3.14) aus Abschnitt 3.2.1 verwendet. Mit Hilfe dieses Modells kann bei vorgegebener Laserpulsform und Partikelradius die Bestrahlung H_S berechnet werden, die zum Erreichen der Nukleationstemperatur auf der Partikeloberfläche notwendig ist. Die zum Erreichen der vorgegebenen Nukleationstemperatur T_{Nuk} berechneten Bestrahlungen werden unter Variation der Absorptionseffizienz der Partikel Q_{abs} mittels der Methode der kleinsten Quadrate [187] bestmöglichst an die experimentellen Blasenbildungsschwellen H_s aus Tab. 5.4 angepaßt. Auf diese Weise kann aus den experimentell bestimmten Blasenbildungsschwellen für die Melanosomen (Tab. 5.4) unter Zuhilfenahme der Nukleationstemperatur (Tab. 5.2), die nach Abschnitt 5.2.4 unabhängig von der verwendeten Pulsdauer ist, die Absorptionseffizienz der Melanosomen ermittelt werden. Umgekehrt kann bei den Goldpartikeln mit der nach der Mie-Theorie berechneten Absorptionseffizienz (vgl. 3.1) die Nukleationstemperatur ermittelt werden, bei der die modellierten Blasenbildungsschwellen bestmöglichst an die experimentellen angepaßt sind. Die Ergebnisse der hier beschriebenen Bestimmung der Absorptionseffizienz für die Melanosomen sowie der Nukleationstemperatur für die Goldpartikel werden in den beiden folgenden Abschnitten dargestellt.

Bestimmung Absorptionseffizienz der Melanosomen

Für die Nukleationstemperatur von Melanosomen wurde in Tab. 5.2 experimentell ein Mittelwert von $T_{Nuk} = 147^\circ\text{C}$ bestimmt. Deshalb kann die Absorptionseffizienz Q_{abs} als einziger freier Parameter variiert werden, um die mit Hilfe des thermischen Modells aus Abschnitt 3.2.1 berechneten Blasenbildungsschwellen

nach der Methode der kleinsten Quadrate an die experimentell bestimmten Blasenbildungsschwellen aus Tab. 5.4 anzupassen. In Abb. 5.13 sind die gemessenen Schwellen und die zugehörige beste Anpassung bei einer Absorptionseffizienz von $Q_{abs} = 0.56 \pm 0.14$ dargestellt. Der Fehler für die Absorptionseffizienz wird durch ein Konfidenzintervall von 95% definiert.

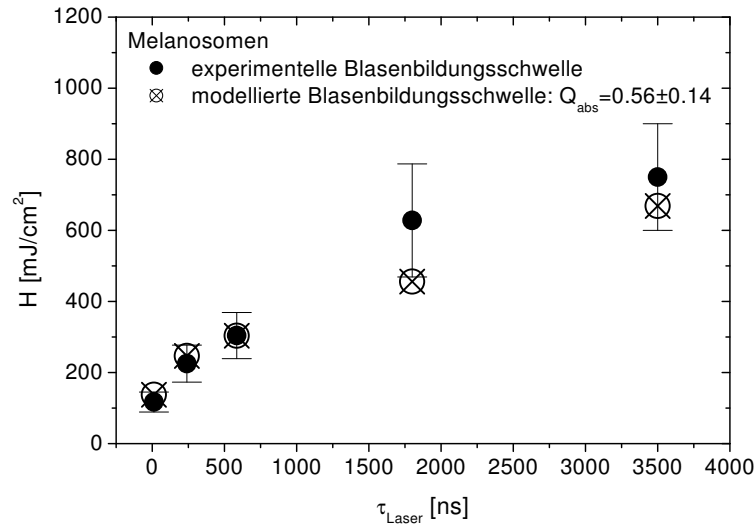


Abbildung 5.13: Experimentelle und mit dem thermischen Modell aus Abschnitt 3.2.1 bestmöglichst angepasste Blasenbildungsschwellen für Melanosomen in Abhängigkeit von der Pulslänge.

Bestimmung der Nukleationstemperatur für Goldpartikel

Für die Goldpartikel lässt sich die Absorptionseffizienz sehr gut mit Hilfe der Mie-Theorie aus Abschnitt 3.1.1 berechnen. In Abb. 3.1 ist die Absorptionseffizienz als Funktion des Partikelradius dargestellt. Für einen Partikelradius von $R = 250\text{nm}$ erhält man eine Absorptionseffizienz von $Q_{abs} = 1.05$. Da die Nukleationstemperatur für die Goldpartikel anhand der temperaturabhängigen Blasenschwellen in Abschnitt 5.2.4 nicht bestimmt werden konnte, soll bei bekannter Absorptionseffizienz Q_{abs} die Nukleationstemperatur aus dem Vergleich von experimentellen und nach Abschnitt 3.2.1 berechneten Blasenbildungsschwellen ermittelt werden. Man erhält in Abb. 5.14 nach Anpassung mit der Methode der kleinsten Quadrate eine Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = (327 \pm 112)^\circ\text{C}$, wobei sich das Fehlerintervall wieder auf ein Konfidenzintervall von 95% bezieht.

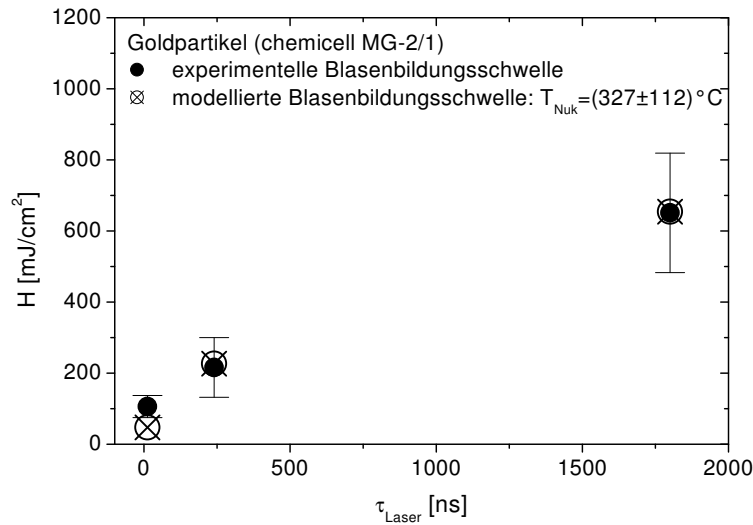


Abbildung 5.14: Experimentelle und mit dem thermischen Modell aus Abschnitt 3.2.1 bestmöglichst angepasste Blasenbildungsschwellen für die Goldpartikel chemicell MG-2/1 in Abhängigkeit von der Pulslänge.

5.2.6 Bestimmung des Absorptionskoeffizienten von Melanosomen

Da in der Literatur die Absorption der RPE-Melanosomen überwiegend in Form des Absorptionskoeffizienten μ_{abs} vorliegt, soll zum besseren Vergleich mit den wenigen vorhandenen Literaturwerten aus den Absorptionseffizienzen Q_{abs} für Melanosomen, die in den Abschnitten 5.2.4 und 5.2.5 bestimmt wurden, der Absorptionskoeffizient abgeschätzt werden. Diese Abschätzung erfolgt mit der Gl. 3.3 für optisch dünne Partikel. Für die Berechnung des Absorptionskoeffizienten der Melanosomen wird also an dieser Stelle sowie in der Literatur [75, 78, 260] die geometrische Optik ohne Berücksichtigung von Reflexionen an der Melanosomenoberfläche benutzt. Der mit dieser Näherung berechnete Absorptionskoeffizient μ_{abs} ist in Tab. 5.5 dargestellt.

Vergleicht man die Werte aus Tab. 5.5 mit den Literaturwerten in Tab. 5.6, kann man in den meisten Fällen eine gute Übereinstimmung feststellen.

Bezüglich der Literaturwerte ist anzumerken, daß der Wert von Williams et al. [260] durch eine direkte optische Transmissionsmessung an einzelnen Melanosom in einem Gewebeschnitt gewonnen wurde. In diesem Fall kann eine Verfälschung der Absorptionsmessung durch eine Veränderung der optischen Eigenschaften aufgrund des Präparationsvorgangs nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Glickman et al. und Jacques et al. [78, 109] sowie Brinkmann et al. [36] haben den Absorptionskoeffizienten von RPE-Melanosomen durch Messung der laserinduzierten Blasenbildungsschwelle und anschließender thermischer Modellierung bestimmt. Bei Brinkmann et al. wurden die Blasenbildungsschwellen mit einem

Q_{abs}	$Q_{abs,T_{Nuk}} = 0.36 \pm 0.09$	$Q_{abs,\tau_{Laser}} = 0.56 \pm 0.14$	$\overline{Q_{abs}} = 0.46$
$\mu_{abs} [\mu m^{-1}]$	0.54 ± 0.14	0.83 ± 0.22	0.69

Tabelle 5.5: Absorptionseffizienzen Q_{abs} der Melanosomen, die aus der Messung der Temperaturabhängigkeit ($Q_{abs,T_{Nuk}}$, Tab. 5.3) und der Pulsweitenabhängigkeit ($Q_{abs,\tau_{Laser}}$, Abb. 5.13) der Blasenbildungsschwellen bestimmt wurden. Es ist nicht bekannt, warum sich die Werte für $Q_{abs,T_{Nuk}}$ und $Q_{abs,\tau_{Laser}}$ voneinander unterscheiden. Allerdings überlappen sich die jeweiligen Fehlerintervalle. $\overline{Q_{abs}}$ ist der Mittelwert aus diesen Meßreihen. Der Absorptionskoeffizient μ_{abs} wurde nach Gl. 3.3 für ein optisch dünnes Partikel mit einem Radius von $R = 0.5\mu m$ berechnet.

		$\lambda [nm]$	$\mu_{abs} [\mu m^{-1}]$
Glickman et al. / Jacques et al. [78, 109]	Rind	532	0.23
Williams et al. [260]	Maus	≈ 530	0.9 – 1.1
Brinkmann et al. [36]	Schwein	527/532	0.8
Strauss et al. [229]	Rind	532	0.6 – 0.8

Tabelle 5.6: Literaturwerte für Absorptionskoeffizienten von RPE-Melanosomen.

thermischen Modell analog zu Abschnitt 5.2.5 für Laserpulsdauern im Bereich von $8ns$ bis $3\mu s$ angepaßt. Dazu wurde im Modell eine Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = 150^\circ C$ verwendet, die für RPE-Melanosomen vom Rind bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von $20ns$ mit Hilfe temperaturabhängiger Blasenbildungsschwellen gemessen wurde [118]. Allerdings wurden für die Berechnung der Temperaturerhöhung Laserpulse mit einem zeitlichen Rechteckprofil und nicht die reale Pulsform wie in der vorliegenden Arbeit verwendet. Die Modellierung mit Rechteckpulsen kann nach Abschnitt 5.2.3 zu Fehlern in der Temperaturbestimmung führen. Die minimale beobachtete Blasengröße lag bei Brinkmann et al. im Bereich von $2\mu m$ [36], was deutlich größer ist als die in dieser Arbeit beobachtete minimale Blasengröße von etwa $0.7\mu m$ in den Abb. 5.1 und 5.3.

Bei den Messungen von Glickman et al. und Jacques et al. [78, 109] wurde die Blasenbildung anhand eines hörbaren Geräusches sowie der Beschädigung der Melanosomenmembran infolge der Blasenbildung detektiert. Letztere läßt sich mit Hilfe eines Fluoreszenzmarkers feststellen, der sensitiv gegenüber oxidativen Prozessen ist, die vom beschädigten Melanosom verursacht werden. Als Nukleationstemperatur wurde $T_{Nuk} = 112^\circ C$ angenommen, die analog zu Abschnitt 5.2.4 für Hautmelanosomen mit Hilfe der Temperaturabhängigkeit der Bestrahlungsschwelle für eine Weißfärbung der Haut bestimmt wurde [110]. Der Absorptionskoeffizient wurde unter der Annahme räumlich homogener Energiedepo-

nung berechnet. Da wegen der Verwendung einer Laserpulsdauer von $10ns$ die thermische Einschlußbedingung erfüllt war, konnte die Wärmeleitung bei der Berechnung vernachlässigt werden. Allerdings besitzen die von Glickman et al. und Jacques et al. benutzten Verfahren zur Bestimmung der Blasenbildungsschwelle und der Nukleationstemperatur keine große Genauigkeit, so daß der resultierende Wert für den Absorptionskoeffizienten der Melanosomen sehr wahrscheinlich mit einem großen Fehler behaftet ist.

Strauss et al. [229] konnten die Schockwellenausbreitung um RPE-Melanosomen, die mit Pikosekundenpulsen bestrahlt wurden, nur dann im Einklang mit den Experimenten [118] modellieren, wenn für die Melanosomen ein Absorptionskoeffizient im Bereich von $\mu_{abs} = 0.6 - 0.8\mu m^{-1}$ angenommen wurde.

Für gepreßtes und getrocknetes Melanin in Reinform wurde von Kurtz et al. [127] der komplexe Brechungsindex bei einer Wellenlänge von $632.8nm$ experimentell zu $m = n - ik = (1.655 \pm 0.008) - i(0.12 \pm 0.07)$ bestimmt. Nach Kurtz et al. kann der Imaginärteil mit Hilfe der Leitfähigkeitstheorie für amorphe Halbleiter durch $k = 0.861(1 - 0.990\lambda/\mu m)^2$ auf andere Wellenlängen extrapoliert werden. Man erhält für eine Bestrahlungswellenlänge von $530nm$ einen komplexen Brechungsindex von $m \approx 1.655 - 0.861i$, wobei der Realteil aus der Messung für $632.8nm$ übernommen wurde. Mit Hilfe dieser Abschätzung des Brechungsindex für Melanin bei der Bestrahlungswellenlänge ergibt sich für einen kugelförmigen Absorber mit einem Radius von $R = 0.5\mu m$ eine Absorptionseffizienz von $Q_{abs} = 1.16$. Dieser Wert ist etwa zwei- bis dreimal so groß wie die experimentell bestimmte Absorptionseffizienz von Melanosomen in Tab. 5.5. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß ein Melanosom nicht vollständig aus Melanin besteht. Der Gewichtsanteil von Melanin in RPE- und chorioidealen Melanosomen vom Rind beträgt nach Hach et al. etwa 50% [91]. Zudem liegt das Melanin in vivo in einer hydratisierten Form vor [182, 20, 110], d. h. es enthält noch einen Wasseranteil.

5.2.7 Beeinflussung der Blasenbildungsschwellen durch Abfragelaser und Belichtung

Im Zusammenhang mit der experimentellen Bestimmung der Blasenbildungsschwellen in den vorigen Abschnitten, soll an dieser Stelle abgeschätzt werden, in welchem Umfang der Abfragelaser und der Beleuchtungslaser die Blasenbildungsschwellen beeinflussen.

Bei den Wellenlängen von Bestrahlungs- und Beleuchtungspuls spielen die spektralen Absorptionsunterschiede der Partikel bei Gold und Magnetit eine untergeordnete Rolle, da sich mit den komplexen Brechungsindizes aus Anhang A.1 nach Mie-Theorie unabhängig von der Wellenlänge für Beleuchtung ($490nm$), Bestrahlung ($527nm$ bzw. $532nm$) und Abfragelaser ($633nm$) ähnliche Absorptionseffizienzen ergeben. Für die Beleuchtungswellenlänge von $490nm$ sind die Absorptionseffizienzen für Gold und Magnetitpartikel geringfügig ($< 10\%$) höher

als für die Bestrahlungswellenlänge. Für den Abfragelaser erhält man im Falle von Magnetit geringfügig niedrigere Absorptionseffizienzen ($< 10\%$). Im Falle der Goldpartikel gilt sogar $Q_{abs}(650nm)/Q_{abs}(525nm) \approx 0.5$. Für RPE-Melanosomen spielt die spektrale Abhängigkeit der Absorption in diesem Fall ebenfalls keine große Rolle, da nach Williams et al. [260] für das Verhältnis der Absorptionskoeffizienten $\mu_{abs}(490nm)/\mu_{abs}(527nm) \approx 1.1$ und $\mu_{abs}(633nm)/\mu_{abs}(527nm) \approx 0.6$ gilt.

Findet die Bestrahlung im thermischen (und außerhalb des akustischen) Einschusses statt, so sollte die Blasenbildungsschwelle unabhängig von der Pulslänge sein. Aus diesem Grunde sollte sich die Blasenbildungsschwelle für Pulsdauern von $12ns$ und $3ns$ kaum unterscheiden. Wie man aus Tab. 5.4 entnehmen kann, liegen für eine Pulsdauer von $12ns$ die experimentellen Blasenbildungsschwellen bei etwa $100mJ/cm^2$. Deshalb ist die durch den Belichtungslaser, der eine Pulslänge von $3ns$ aufweist, verursachte Bestrahlung von weniger als $3mJ/cm^2$, die in Abschnitt 4.4.3 abgeschätzt wurde, vernachlässigbar.

Im Falle des Abfragelasers, der eine Erwärmung durch Bestrahlungsdauern von etwa $5\mu s$ bewirkt (vgl. Abschnitt 4.4.4), müssen Blasenbildungsschwellen aus Tab. 5.4 bei langen Bestrahlungszeiten zum Vergleich herangezogen werden. Aus dieser Tabelle läßt sich entnehmen, daß die Blasenbildungsschwellen für Goldpartikel und Melanosomen bei Mikrosekundenpulsen im Bereich von etwa $700mJ/cm^2$ liegen, während nach Abschnitt 4.4.4 die durch den Abfragelaser verursachte Bestrahlung etwa $70mJ/cm^2$ beträgt. Die Temperaturerhöhung im Partikel nimmt bei konstanter Bestrahlung mit zunehmender Pulsdauer aufgrund von Wärmediffusion in die Partikelumgebung ab. Da die Bestrahlungsdauer durch den Abfragelaser länger andauert als bei der Bestrahlung, die zu den oben genannten Schwellenwerten von etwa $700mJ/cm^2$ führt, trägt der Abfragelaser nur einen kleinen Teil ($< 10\%$) zur Blasenentstehung bei.

Da die Blasenbildungsschwellen für die Magnetitpartikel bei einer Bestrahlungspulsdauer von $12ns$ oberhalb von $100mJ/cm^2$ und für eine Pulsdauer von $1.7\mu s$ oberhalb von $600mJ/cm^2$ liegen, sollten diese Schwellen ebenfalls nicht oder nur unwesentlich durch den Belichtungs- oder Abfragelaser beeinflusst werden.

5.2.8 Zeitpunkt der Blasennukleation

Nachdem die Nukleationsvorgänge an der Blasenbildungsschwelle untersucht wurden, soll nun die Blasenbildung bei überschwelliger Bestrahlung quantifiziert werden. Erhöht man die Bestrahlung der Partikel, so verändert sich der Zeitpunkt der Blasennukleation, da die Nukleationstemperatur, bei der der Phasenübergang stattfindet, schon zu einem früheren Zeitpunkt relativ zum Laserpuls erreicht wird.

Da sich die Nukleationstemperaturen bei den benutzten Pulsdauern von $12ns$ und $1.8\mu s$ in Tab. 5.2 nicht signifikant voneinander unterscheiden, kann angenommen werden, daß die Nukleationstemperatur weitgehend unabhängig von der

Heizrate ist, denn bei der Bestrahlung mit $12ns$ findet die Partikelerwärmung in Zeiträumen statt, die um zwei Größenordnungen kürzer sind als bei der Bestrahlung mit $1.8\mu s$.

Bei einer von der Heizrate unabhängigen Nukleationstemperatur läßt sich mit Hilfe des halbanalytischen Modells für die Wärmeleitung aus Abschnitt 3.2.1 der Zeitpunkt der Blasenbildung als Funktion der Bestrahlung berechnen und mit den experimentell ermittelten Werten vergleichen. In den Abbildungen 5.15 und 5.16 sind experimentelle und berechnete Startzeitpunkte für die Blasenbildung an Melanosomen und Goldpartikel im Vergleich dargestellt. Da die Blasenbildungsschwellen für verschiedene Partikel der gleichen Sorte eine große Varianz aufweisen, wird die Bestrahlung für jedes Partikel auf die Bestrahlung an seiner Blasenbildungsschwelle H_S normiert. Um die Nukleationstemperatur zum Zeitpunkt t_{Nuk} zu erreichen, wird eine Bestrahlung von $H(t_{Nuk})$ mit

$$\frac{H(t_{Nuk})}{H_S} = \frac{\max\{\Delta T_{Laser}(\tau, H_S) \mid \tau\}}{\Delta T_{Laser}(t_{Nuk}, H_S)} \quad (5.2)$$

benötigt. Dabei ist $\Delta T_{Laser}(t, H)$ die nach Gl. 3.14 bei einer Bestrahlung H zum Zeitpunkt t berechnete Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche. Die experimentell bestimmten Nukleationszeitpunkte in Abb. 5.15 wurden für jeweils $n > 2$ unterschiedliche Partikel bei Bestrahlungen mit Laserpulsdauern von $240ns$ und $1.8\mu s$ mit Hilfe von Transmissionsmessungen des Abfragelasers bestimmt. Diese Methode wurde benutzt, da bei den verwendeten Pulsdauern eine zeitliche Auflösung für den Nukleationszeitpunkt von etwa $10ns$, die aus der Bandbreite des detektierten Signals von $100MHz$ resultiert, ausreichend ist. Für Laserpulse mit einer Dauer von $12ns$ ist die Zeitauflösung des Transmissionsverfahrens nicht mehr ausreichend, so daß auf die Kurzzeitphotographie, die eine Integrationszeit von $3ns$ besitzt, zurückgegriffen wird. Die für eine Bestrahlungspulsdauer von $12ns$ an Melanosomen gemessenen Nukleationszeitpunkte sind in Abb. 5.16 den berechneten Zeiten gegenüber gestellt.

In beiden Abbildungen 5.15 und 5.16 zeigt sich, daß die berechneten und die gemessenen Nukleationszeitpunkte relativ gut übereinstimmen, was die Gültigkeit des verwendeten thermischen Modells belegt. Insbesondere ist zu bemerken, daß der Zeitpunkt, an dem die maximale Temperatur während des Laserpulses berechnet wurde, gut mit dem experimentell beobachteten Nukleationszeitpunkt an der Blasenbildungsschwelle übereinstimmt. Der Fehler, der sich bei den Rechnungen aus der Vernachlässigung der Temperaturabhängigkeit der thermischen Eigenschaften ergibt, fällt hier also kaum ins Gewicht.

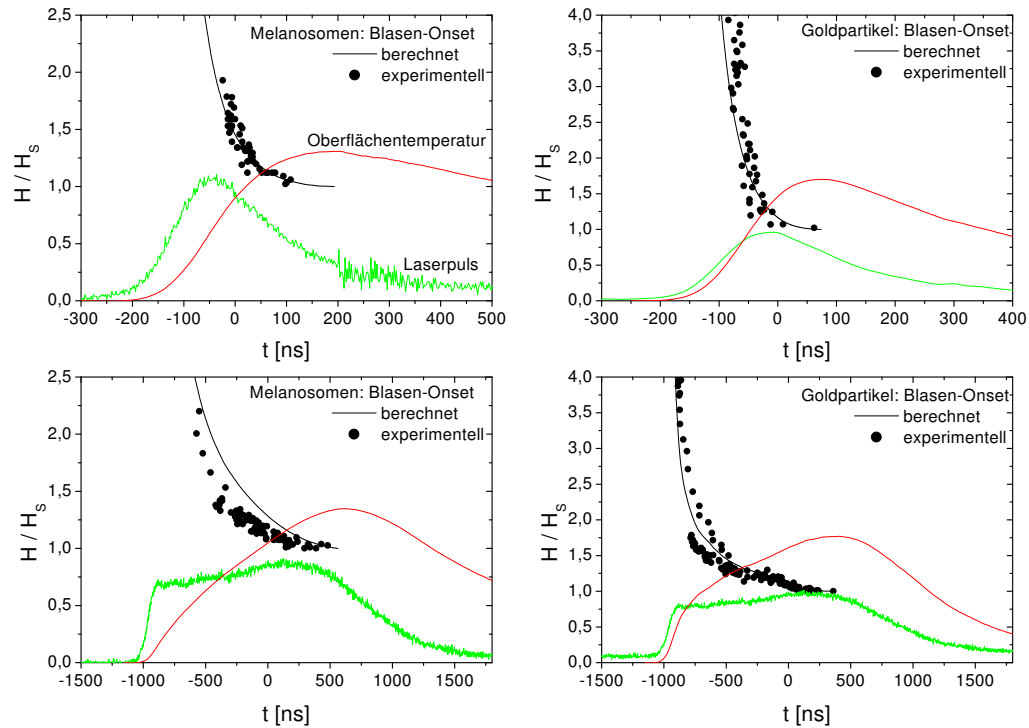


Abbildung 5.15: Experimenteller und berechneter Nukleationszeitpunkt für Melanosomen und Goldpartikel (chemicell MG-2/1) bei Laserpulsdauern von 240ns und 1800ns. Zusätzlich ist in willkürlichen Einheiten der zeitliche Verlauf der Laserintensität und der berechneten Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche dargestellt. Sowohl die Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche als auch die Laserintensität hängen linear von der Bestrahlung ab und sind deshalb in willkürlichen Einheiten aufgetragen. Um die Nukleationszeitpunkte aus den einzelnen Messungen vergleichen zu können, wurde der Nullpunkt der Zeitachse so gewählt, daß zu diesem Zeitpunkt jeweils die Hälfte der Pulsenergie appliziert wurde.

Zum Nukleationsvorgang ist zu bemerken, daß auch bei einer stark überschwelligen Bestrahlung mit $1J/cm^2$ für eine Laserpulsdauer von $12ns$ ebenso wie bei Bestrahlungen mit längeren Pulsen photographisch keine Schockwellen aufgrund von druckinduzierten Brechungsindexveränderungen beobachtet werden konnten.

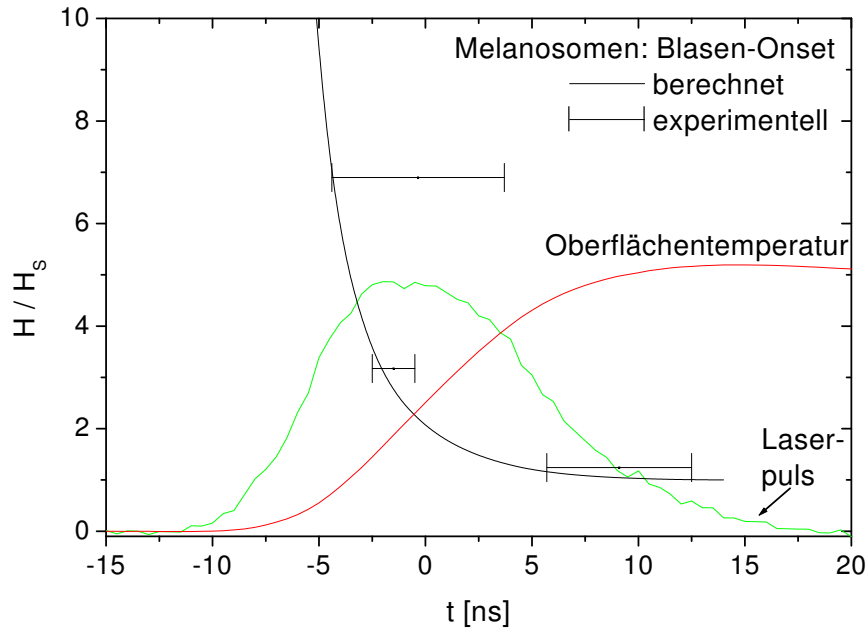


Abbildung 5.16: *Experimenteller und berechneter Nukleationszeitpunkt für Melanosomen bei Laserpulsdauern von 12ns. Zusätzlich ist der zeitliche Verlauf der Laserintensität und der berechneten Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche in willkürlichen Einheiten dargestellt. Um die Nukleationszeitpunkte aus den einzelnen Messungen vergleichen zu können, wurde der Nullpunkt der Zeitachse so gewählt, daß zu diesem Zeitpunkt jeweils die Hälfte der Pulsenergie appliziert wurde.*

5.3 Blasendynamik

In diesem Abschnitt wird aufbauend auf die im vorigen Abschnitt beschriebenen Nukleationsbedingungen die Blasendynamik um isolierte Mikropartikel charakterisiert. Insbesondere soll die maximale Blasengröße ermittelt werden, die als Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe dienen kann.

Die Untersuchungen zur Blasendynamik beschränken sich auf die Melanosomen und die Goldpartikel (chemicell MG-2/1), da in diesen Fällen eine reproduzierbare Blasendynamik in Abhängigkeit von den Bestrahlungsparametern zu erwarten ist, was bei den magnetischen Silikatpartikeln (chemicell SiMAG-EP) aufgrund ihrer inhomogenen Zusammensetzung nicht zwangsläufig gegeben ist. (Für die magnetischen Silikatpartikel, die nach Kapitel 2 in zahlreichen biotechnologischen Anwendungen eine Rolle spielen, konnte allerdings in Abschnitt 5.2.1 wegen ihrer Partikelgröße, die deutlich oberhalb der optischen Auflösungsgrenze lag, der Nukleationsvorgang gut beobachtet sowie in Abschnitt 5.2.4 die Nukleationstemperatur ermittelt werden.)

5.3.1 Blasenlebensdauer

Zunächst wurde die Blasenlebensdauer um individuelle Partikel mit Hilfe der Transmissionsmessungen untersucht. Die Bestrahlung des Partikels wurde dabei schrittweise erhöht. Typische Intensitätsverläufe der Transmission des AbfrageLasers sind in den Abbildungen 5.17 und 5.18 dargestellt. In den Transmissionsmessungen aus Abb. 5.17 links ist bei Bestrahlung von Melanosomen mit Laserpulsdauern von 12ns zu erkennen, daß sich in den meisten Fällen nur eine einzige transiente Blase bildet, deren Lebensdauer mit steigender Bestrahlung zunimmt. Bei einer zweifach überschwelligen Bestrahlung von $237\text{mJ}/\text{cm}^2$ mit 12ns Pul-

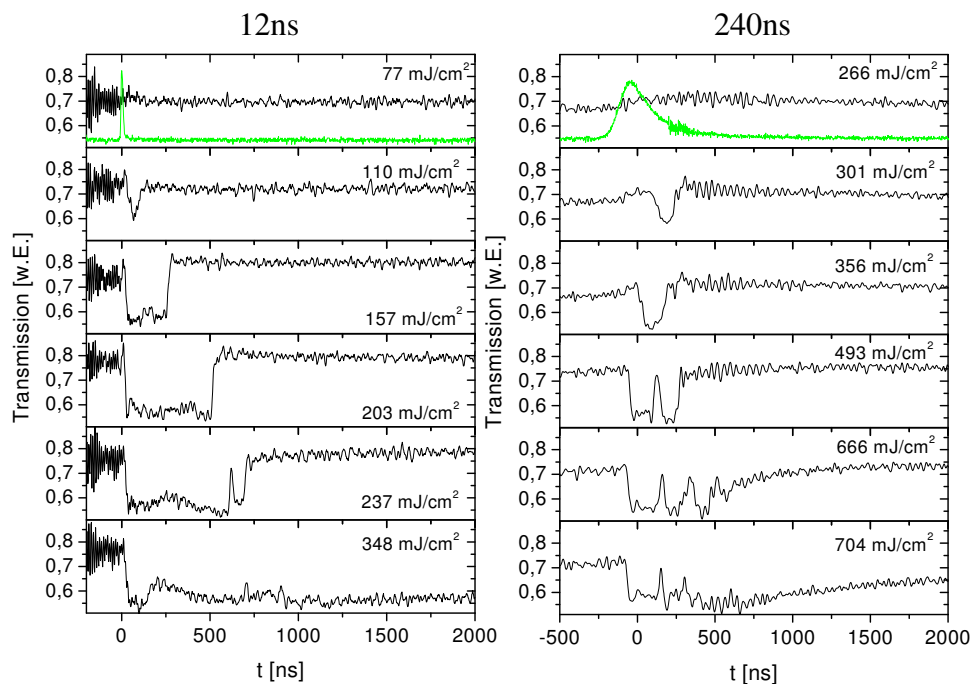


Abbildung 5.17: Transmissionssignale des AbfrageLasers bei der Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von 12ns (links) und 240ns (rechts). Der Laserpuls ist zusätzlich in willkürlichen Einheiten jeweils im oberen Graphen als grüne Kurve dargestellt. Der Nullpunkt der Zeitskala ist wieder der Zeitpunkt, an dem jeweils die halbe Pulsenergie appliziert wurde.

sen ist in Abb. 5.17 im Anschluß an den Kollaps der ersten Blase das sofortige Aufschwingen einer weiteren Blase, deren Lebensdauer allerdings nur etwa ein Zehntel der Lebensdauer der ersten Blase beträgt, zu beobachten. Oberhalb einer bestimmten Bestrahlungsschwelle (in Abb. 5.17 links bei $348\text{mJ}/\text{cm}^2$) bildet sich um das Melanosom eine Blase mit einer erheblich längeren Lebensdauer von mehr als $2\mu\text{s}$. Auf diese Art von Blasenbildung, die nur bei der Bestrahlung von

Melanosomen beobachtet wurde, wird an dieser Stelle nicht eingegangen. Sie wird in Abschnitt 5.3.3 auf längerer Zeitskala separat untersucht.

Bei der Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von 240ns beobachtet man in Abb. 5.17 rechts bei einer Erhöhung der Bestrahlung nur geringfügige Veränderungen der Blasenlebensdauer. Jedoch bilden sich bei hinreichender Bestrahlung im Gegensatz zur Bestrahlung mit Pulsdauern von 12ns nach dem Kollaps der ersten Blase erneut Blasen mit vergleichbarer Lebensdauer. Auf diese Weise erhält man mehrere zeitlich aufeinanderfolgende Blasen. Man erkennt in den Transmissionssignalen für die Bestrahlung mit Pulsdauern von 240ns auch, daß sich bei zunehmender Bestrahlung – wie in Abschnitt 5.2.8 bereits dargestellt – der Nukleationszeitpunkt relativ zum Laserpuls zeitlich nach vorn verschiebt.

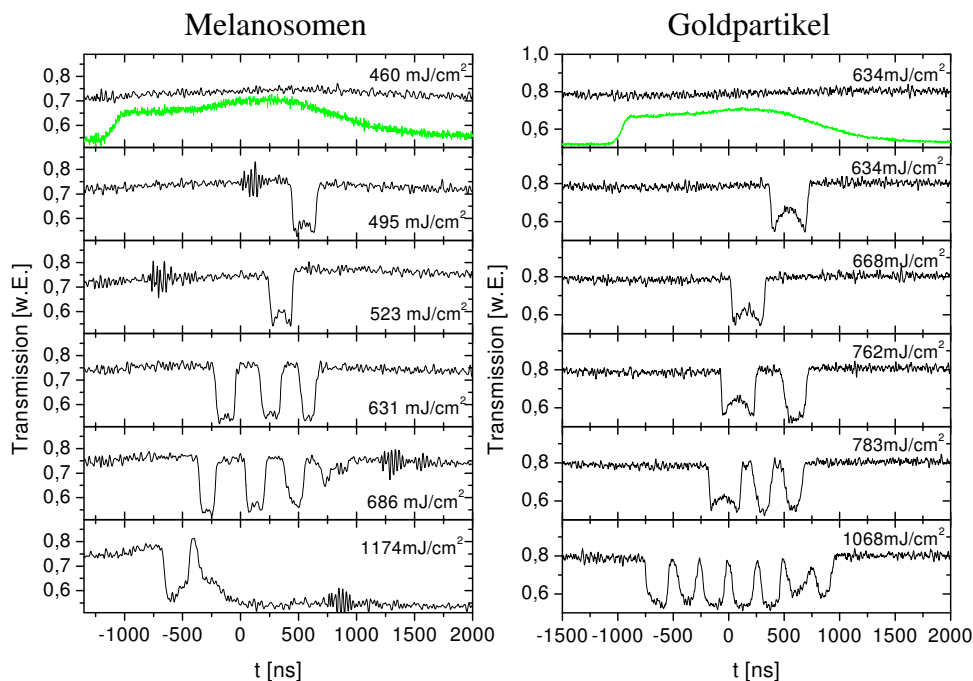


Abbildung 5.18: Transmissionssignale des Abfragelasers bei der Bestrahlung von Melanosomen (links) und Goldpartikeln (chemicell MG-2/1, rechts) mit einer Pulsdauer von $1.8\mu\text{s}$. Der Laserpuls ist zusätzlich in willkürlichen Einheiten als grüne Kurve jeweils im oberen Graphen dargestellt. Der Nullpunkt der Zeitskala ist wie in Abb. 5.17 auf den Zeitpunkt der halben Pulsenergie bezogen. (Oben links erkennt man zusätzlich, daß bei dem Goldpartikel die – im Rahmen der Meßgenauigkeit – gleiche Bestrahlung in einem Fall zur Blasenbildung führt und in einem anderen Fall nicht.)

In Abb. 5.18 sind Transmissionsmessungen für Melanosomen denen für Goldpartikel gegenüber gestellt. Man erkennt, daß die Blasendynamik bei diesen Partikelsorten ähnlich ist. Dies ist für die Bestrahlung mit Pulsdauern von $12ns$ und $240ns$ ebenfalls der Fall, so daß hier auf eine Darstellung typischer Transmissions-signale für die Goldpartikel bei einer Bestrahlung mit diesen Pulsdauern verzichtet wird. Der einzige qualitative Unterschied bei den Goldpartikeln im Vergleich zu den Melanosomen ist, daß bei den Goldpartikeln auch bei hoher Bestrahlung keine Blasen mit einer Lebensdauer oberhalb von wenigen Mikrosekunden auftreten. Man erkennt in Abb. 5.18 auch wieder deutlich, daß die Nukleation bei größerer Bestrahlung zu einem früheren Zeitpunkt relativ zum Bestrahlungspuls stattfindet. Bei einer Bestrahlung mit einer Pulslänge von $1.8\mu s$ (Abb. 5.18) ist das Phänomen der mehrfach oszillierenden Blasen noch deutlicher ausgeprägt als bei der Bestrahlung mit $240ns$ (Abb. 5.17, rechts). Es ist auch zu erkennen, daß sich zwischen zwei zeitlich aufeinanderfolgenden Blasen ein Zeitraum befindet, in dem keine Blase vorhanden ist, d. h. nach dem Blasenkollaps ist eine gewisse Wartezeit notwendig, um eine erneute Nukleation stattfinden zu lassen. Diese Wartezeit sinkt tendenziell bei höherer Bestrahlung, was in Abb. 5.18 am Beispiel der Goldpartikel besonders deutlich zu erkennen ist.

Eine systematische Erfassung der Blasenanzahl in Abhängigkeit von der Bestrahlung und der Pulslänge ist in Abb. 5.19 dargestellt. Da die Pulslänge die

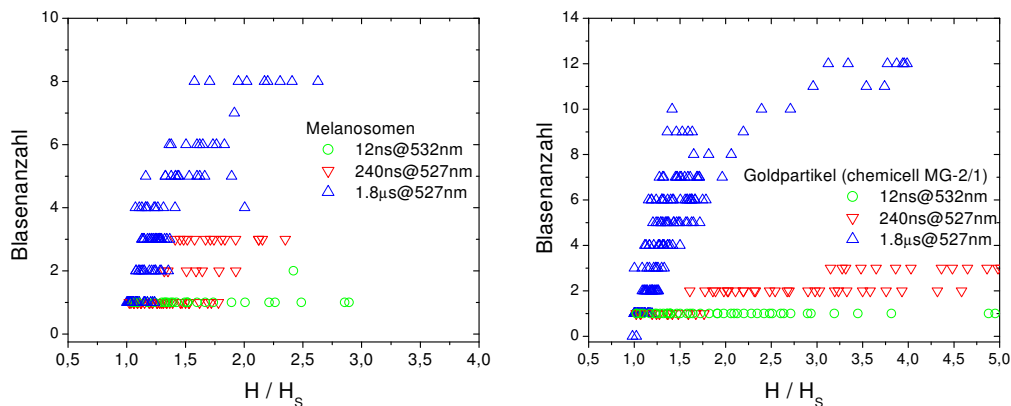


Abbildung 5.19: Anzahl der Blasenoszillationszyklen, die durch einen einzigen Laserpuls erzeugt werden. Zum besseren Vergleich zwischen den einzelnen Pulsdauern wird die applizierte Bestrahlung H jeweils auf die Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle H_S normiert.

Blasenbildungsschwellen maßgeblich beeinflusst, ist in Abb. 5.19 für eine bessere Vergleichbarkeit die Bestrahlung auf die Blasenbildungsschwelle des jeweiligen Partikels H_S normiert. Hier finden sich die bereits anhand der exemplarischen Transmissionskurven in den Abbildungen 5.17 und 5.18 getroffenen Aussagen zur Anzahl der Blasenoszillationszyklen wieder: Bei einer Bestrahlung mit Pulsdau-

ern von $12ns$ bildet sich in den meisten Fällen nur eine einzige Blase, während bei Pulsdauern von $240ns$ bis zu drei aufeinanderfolgende Blasen und bei Pulsdauern von $1.8\mu s$ bis zu 8 bzw. 12 Blasen beobachtet werden.

5.3.2 Blasengröße

Nach dem Studium der Blasenoszillationen und der Blasenlebensdauern stellt sich nun die Frage, welchen Zusammenhang es zwischen der Blasenlebensdauer und der Blasengröße zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung gibt, denn letztere liefert eine Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe. Zu diesem Zweck werden einzelne Blasen innerhalb der aufeinanderfolgenden Schwingungen genauer untersucht.

Um die Blasenlebensdauer, die auf einfache Weise mit einer Transmissionsmessung bestimmt werden kann, mit der Blasengröße zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung zu korrelieren, muß zunächst festgestellt werden, zu welchem Zeitpunkt innerhalb ihres Lebenszyklus die Blase ihre maximale Ausdehnung erreicht. Dazu kann die in Abschnitt 4.4.5 beschriebene interferometrische Methode verwendet werden: Während der Blasenexpansion verringert sich die Blasenwandgeschwindigkeit, was zu einer Frequenzabnahme im Interferenzsignal führt. Zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung geht die Blasenexpansion in eine Blasenkontraktion über. Die Blasenwandgeschwindigkeit besitzt also einen Nulldurchgang. Bei der anschließenden Blasenkontraktion nimmt die Frequenz des Interferenzsignals aufgrund des Anstiegs der Blasenkontraktionsgeschwindigkeit wieder zu, so daß sich der Zeitpunkt der maximalen Blasenexpansion aus dem detektierten Interferenzsignal entnehmen läßt. Ein typisches Interferenzsignal und das zugehörige Transmissionssignal des Abfragelasers für die Blasenbildung an Melanosomen sind in Abb. 5.20 dargestellt. Das charakteristische Interferenzsignal, das sich als Richtungsumkehr der Blasenwandgeschwindigkeit interpretieren läßt und somit dem Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung entspricht, tritt in Abb. 5.20 etwa bei der halben Blasenlebensdauer auf. Daraus kann man folgern, daß die Blasendynamik zeitlich symmetrisch verläuft, d. h. die Expansionszeit der Blase ist genauso lang wie die Kontraktionszeit.

Durch diese zeitliche Symmetrie der Blasendynamik, die typisch für eine trägheitsbegrenzte Blasendynamik ist (Abschnitt 3.5.1), kann man nun die maximale Blasenausdehnung während eines Blasenzyklus bestimmen, indem die Blasenausdehnung zum Zeitpunkt der halben Blasenlebensdauer photographisch bestimmt wird. Exemplarische Photos der Blase um ein Melanosom zum Zeitpunkt der halben Blasenlebensdauer sind für Bestrahlungspulsdauern von $12ns$ in Abb. 5.21 und für Pulsdauern von $240ns$ und $1.8\mu s$ in Abb. 5.22 dargestellt. Für die Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von $12ns$ läßt sich mit Hilfe der Beispielphotographien in Abb. 5.21 erkennen, daß eine längere Blasenlebensdauer auch mit einer größeren Blasenausdehnung verbunden ist. Exemplarische Photographien

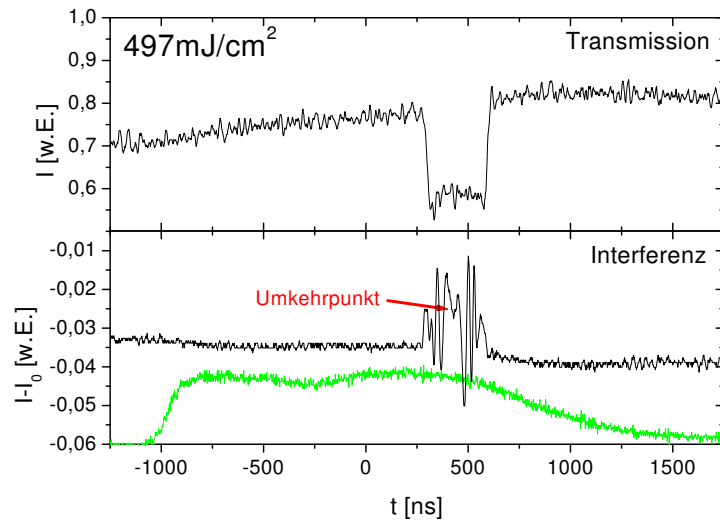


Abbildung 5.20: Bestrahlung eines Melanosoms mit $H = 497\text{mJ/cm}^2$ bei einer Pulsdauer von $1.8\mu\text{s}$. Im oberen Graph ist die transmittierte Intensität des Abfragelasers, mit deren Hilfe auf die Blasenlebensdauer geschlossen werden kann, dargestellt. Das simultan gemessene Interferenzsignal des von der Blase zurückgestreuten Lichts, in dem der Umkehrpunkt der Richtung der Blasenwandgeschwindigkeit von Expansion nach Kontraktion gekennzeichnet ist, zeigt exemplarisch die zeitliche Symmetrie zwischen Blasenexpansion und Blasen kollaps. Zusätzlich ist im unteren Graphen der Bestrahlungspuls (grüne Kurve) in willkürlichen Einheiten aufgetragen.

für die Bestrahlung der Goldpartikel, die auch in etwa zum Zeitpunkt der halben Blasenlebensdauer aufgenommen wurden, sind in Abb. 5.23 dargestellt.

Bestimmt man die Blasengrößen in den Photographien, die zum Zeitpunkt der halben Blasenlebensdauer aufgenommen wurden, systematisch und trägt sie als Funktion der Blasenlebensdauer auf, so erhält man die in Abb. 5.24 dargestellte lineare Beziehung. Die Genauigkeit, mit der die Blasendurchmesser gemessen werden können, liegt je nach Photographie zwischen $0.5\mu\text{m}$ und $1\mu\text{m}$. Insbesondere die auf den Photographien erkennbaren Beugungsringe erschweren oftmals die Bestimmung der Blasendurchmesser (vgl. z. B. Abb. 5.21). Aufgrund der zeitlichen Symmetrie der Blasendynamik (Abb. 5.20) kann die erweiterte Rayleigh-Beziehung aus Gl. 3.37 für den Zusammenhang zwischen dem Blasendurchmesser d_{Blase} zum Zeitpunkt der maximalen Ausdehnung und der Blasenlebensdauer τ_{Blase} benutzt werden. Vergleicht man diesen auf der Rayleigh-Beziehung basierenden Zusammenhang von Blasenlebensdauer und Blasengröße bei trägheitsbegrenzter Blasendynamik mit den experimentellen Werten, so lässt sich in Abb. 5.24 eine relativ gute Übereinstimmung feststellen. In den folgenden Messungen wird deshalb von der mit Hilfe der weniger aufwendigen Transmissionsmessung

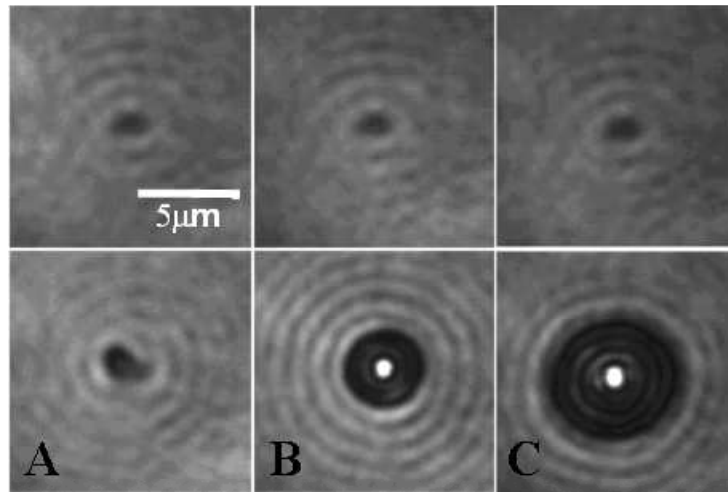


Abbildung 5.21: Photographien bestrahlter Melanosomen bei halber Blasenlebensdauer. In der oberen Reihe ist jeweils das Melanosom vor der Bestrahlung dargestellt. Die Bestrahlungsparameter für die Photographien in der unteren Reihe sind:

- A:** $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$, $H = 115\text{mJ}/\text{cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 119\text{ns}$, $t_{\text{Photo}}^{\text{B}} = 54\text{ns}$;
B: $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$, $H = 213\text{mJ}/\text{cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 316\text{ns}$, $t_{\text{Photo}}^{\text{B}} = 169\text{ns}$;
C: $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$, $H = 369\text{mJ}/\text{cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 533\text{ns}$, $t_{\text{Photo}}^{\text{B}} = 255\text{ns}$.

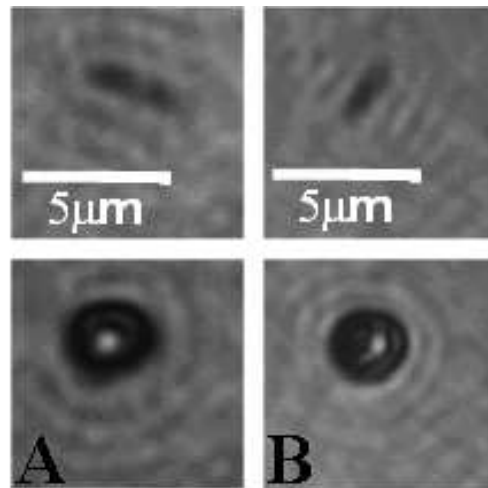


Abbildung 5.22: Photographien bestrahlter Melanosomen bei halber Blasenlebensdauer. In der oberen Reihe ist jeweils das Melanosom vor der Bestrahlung dargestellt. Die Bestrahlungsparameter für die Photographien in der unteren Reihe sind:

- A:** $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$, $H = 422\text{mJ}/\text{cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 223\text{ns}$, $t_{\text{Photo}}^{\text{B}} = 110\text{ns}$;
B: $\tau_{\text{Laser}} = 1.8\mu\text{s}$, $H = 765\text{mJ}/\text{cm}^2$, $\tau_{\text{Blase}} = 220\text{ns}$, $t_{\text{Photo}}^{\text{B}} = 120\text{ns}$.

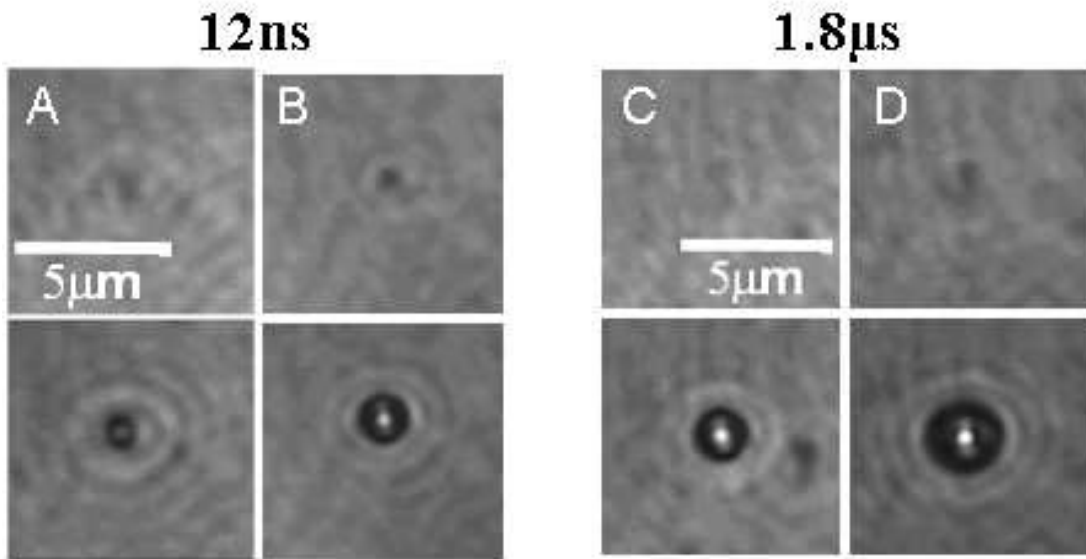


Abbildung 5.23: Photographie bestrahlter Goldpartikel bei halber Blasenlebensdauer: In der oberen Reihe ist jeweils das Goldpartikel vor der Bestrahlung dargestellt. Die Bestrahlungsparameter für die Photographien für die Photographien in der unteren Reihe sind:

A: $\tau_{Laser} = 12ns$, $H = 42mJ/cm^2$, $\tau_{Blase} = 80ns$, $t_{Photo}^B = 42ns$;

B: $\tau_{Laser} = 12ns$, $H = 495mJ/cm^2$, $\tau_{Blase} = 119ns$, $t_{Photo}^B = 70ns$;

C: $\tau_{Laser} = 1.8\mu s$, $H = 1410mJ/cm^2$, $\tau_{Blase} = 135ns$, $t_{Photo}^B = 75ns$;

D: $\tau_{Laser} = 1.8\mu s$, $H = 826mJ/cm^2$, $\tau_{Blase} = 235ns$, $t_{Photo}^B = 140ns$.

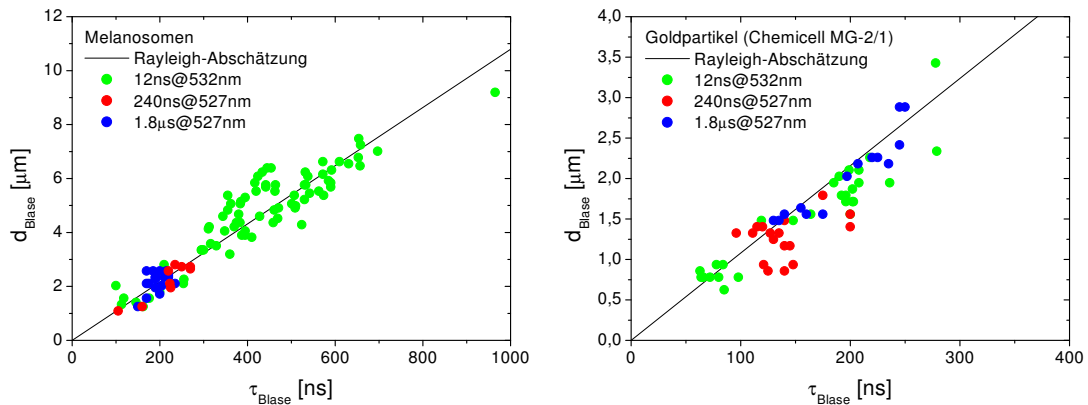


Abbildung 5.24: Darstellung des Blasendurchmessers d_{Blase} photographiert bei $(0.5 \pm 0.1)\tau_{Blase}$ als Funktion der mit Hilfe der Transmissionsmessung gemessenen Blasenlebensdauer für Melanosomen (links) und Goldpartikel (rechts). Zusätzlich ist die Rayleigh-Abschätzung für $p_{sat}(20^\circ C)$ nach Gl. 3.37 aufgetragen.

bestimmten Blasenlebensdauern direkt auf die Blasendurchmesser zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung zurückgeschlossen.

Im folgenden wird die Blasengröße sowohl für die Melanosomen als auch für die Goldpartikel als Funktion der applizierten Bestrahlung bei Pulsdauern von 12ns , 240ns und $1.8\mu\text{s}$ untersucht. In Abb. 5.25 sind die mit Hilfe der Rayleigh-Beziehung (Gl. 3.37) aus den Transmissionsmessungen berechneten Blasendurchmesser dargestellt. Im Falle des Auftretens von mehrfachen Blasenoszillationen wurde in Abb. 5.25 nur die größte Blase, d. h. die Blase mit der größten Lebensdauer innerhalb der aufeinanderfolgenden Blasenoszillationen berücksichtigt. Dieses Vorgehen ist insofern sinnvoll, als daß die Blasengröße eine Abschätzung für den Schadensradius im Gewebe liefern kann. Der Schadensradius um einzelne Absorber wird jedoch bei der selektiven Photothermolyse maßgeblich durch die größte Blase innerhalb der aufeinanderfolgenden Oszillationen bestimmt.

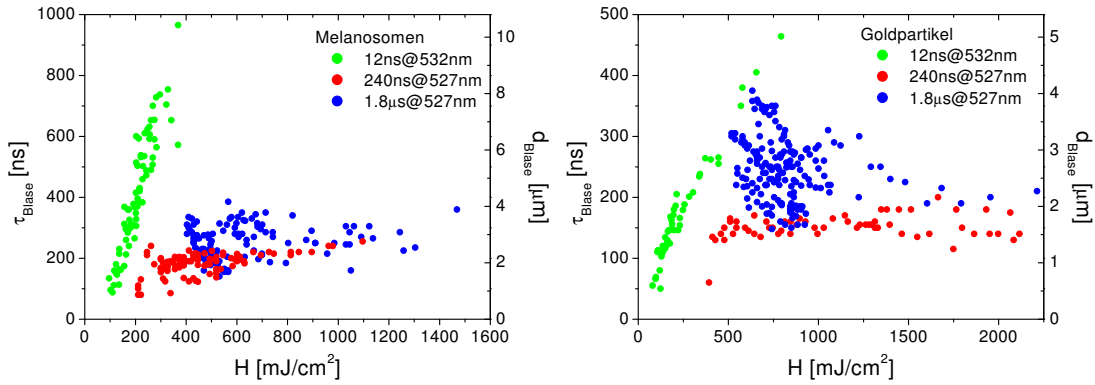


Abbildung 5.25: Mit Hilfe von Transmissionsmessungen bestimmte Blasenlebensdauer τ_{Blase} und nach der Rayleigh-Abschätzung (Gl. 3.37) berechneter Blasendurchmesser d_{Blase} in Abhängigkeit von der Bestrahlung H . Beim Auftreten von Blasenoszillationen wird jeweils nur die Blase mit der größten Lebensdauer berücksichtigt.

In Abb. 5.25 kann man sowohl für die Goldpartikel als auch für die Melanosomen ein qualitativ ähnliches Verhalten beobachten. Für die Bestrahlung mit Laserpulsen, die eine Dauer von 12ns besitzen, steigt die Blasengröße linear mit der applizierten Bestrahlung an, während die Blasenausdehnung bei der Bestrahlung mit längeren Laserpulsen (240ns und $1.8\mu\text{s}$), bei denen Blasenoszillationen auftreten können, weitgehend unabhängig von der Bestrahlung ist. Die laserinduzierten Blasen infolge einer Bestrahlung mit Laserpulsdauern von $1.8\mu\text{s}$ sind etwas größer als die bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von 240ns entstehenden Blasen. Bei der Bestrahlung mit einer Pulsdauer von 12ns nimmt bei den Melanosomen die Blasengröße stärker zu als bei den Goldpartikeln.

Betrachtet man bei der Bestrahlungsdauer von $1.8\mu\text{s}$ jeweils nur die erste Blase innerhalb einer Serie von aufeinanderfolgender Blasenoszillationen, so kann

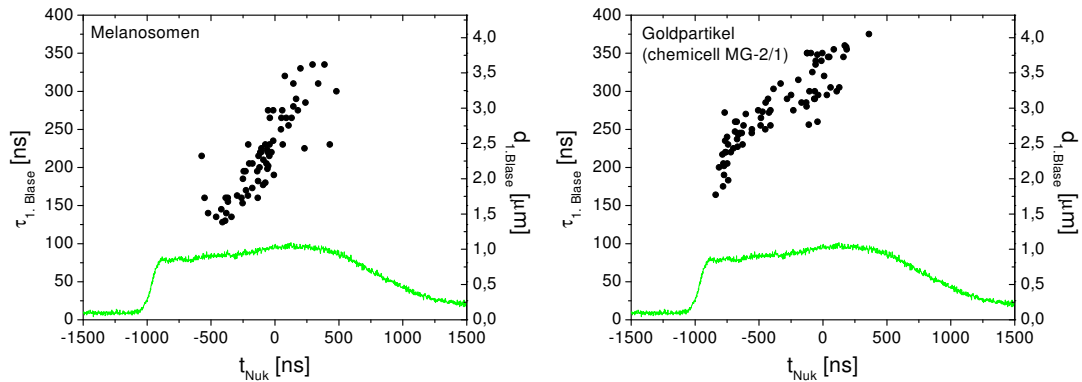


Abbildung 5.26: Mit Hilfe der Transmissionsmethode bei der Bestrahlung von Melanosomen (links) und Goldpartikeln (rechts) gemessene Blasendauer $\tau_{1,Blase}$ der jeweils ersten Blase innerhalb einer Serie von Blasenoszillationen als Funktion des Nukleationszeitpunktes. Der zugehörige Blasendurchmesser $d_{1,Blase}$ wurde mit der Rayleigh-Abschätzung (Gl. 3.37) berechnet. Zusätzlich ist der Bestrahlungspuls mit einer Dauer von $\tau_{Laser} = 1,8\mu s$ in willkürlichen Einheiten aufgetragen.

man in Abb. 5.26 eine Abhängigkeit der Blasengröße vom Nukleationszeitpunkt feststellen. Man erkennt in Abb. 5.26, daß die Lebensdauer der Blase sinkt, je früher die Nukleation stattfindet. Eine Nukleation zum früheren Zeitpunkt ist wiederum mit einer höheren Bestrahlung verbunden.

Die Blasendauer innerhalb einer Sequenz von Oszillationen, die für Goldpartikel exemplarisch in Abb. 5.18 dargestellt ist, zeigt keine einheitlichen Tendenzen auf. Nur bei stark überschwelliger Bestrahlung ist – wie in Abb. 5.27 exemplarisch gezeigt wird – festzustellen, daß die Blasendauer während des Mikrosekundenpulses zunächst zunimmt und bei einem Abfall der eingestrahlten Intensität am Pulsende wieder leicht abnimmt.

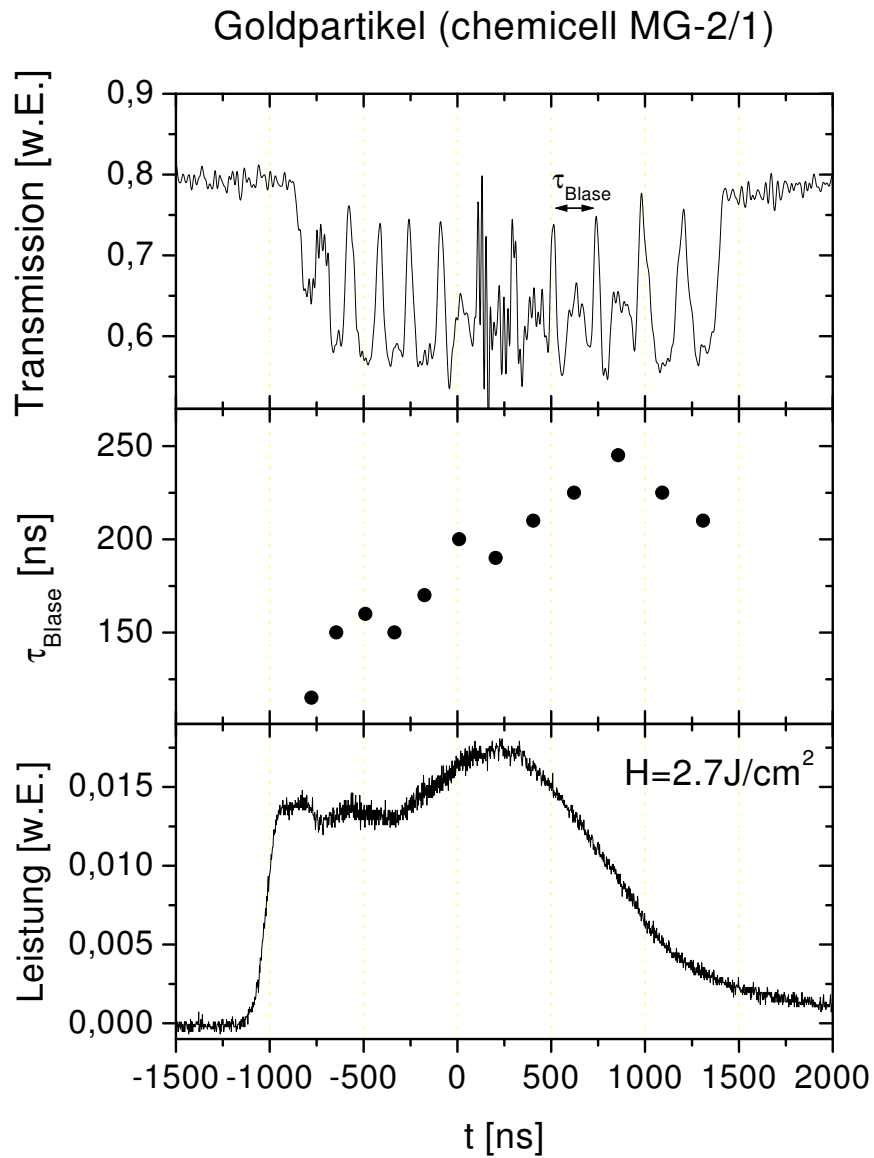


Abbildung 5.27: Transmissionssignal des Abfragelasers bei etwa vierfach überschweiliger Bestrahlung von Goldpartikeln (oben). Die daraus extrahierten Blasenlebensdauern τ_{Blase} innerhalb der Oszillationssequenz (Mitte) und der Bestrahlungspuls mit einer Dauer von $\tau_{\text{Laser}} = 1.8 \mu\text{s}$ (unten) sind ebenfalls dargestellt.

5.3.3 Bildung stabiler Blasen nach Bestrahlung von Melanosomen

In Abschnitt 5.3.1 wurde anhand von exemplarischen Transmissionskurven festgestellt, daß sich bei einer Bestrahlung von Melanosomen, die etwa dreifach oberhalb der Blasenbildungsschwelle liegt, Blasen mit einer Lebensdauer von mehr als einer Mikrosekunde bilden. Diese Lebensdauer ist erheblich länger als bei einer geringfügig niedrigeren Bestrahlung. Die Bildung stabiler Blasen trat bei allen verwendeten Laserpulsdauern auf. Dieses Phänomen wurde genauer untersucht, indem diese Blasen auch zu späteren Zeitpunkten photographiert wurden, was in Abb. 5.28 exemplarisch dargestellt ist. Auf diese Weise läßt sich feststellen, daß die Lebensdauer dieser Blasen im Bereich von Millisekunden und manchmal auch im Sekundenbereich anzusiedeln ist. In einigen Fällen läßt sich sogar ein Aufstei-

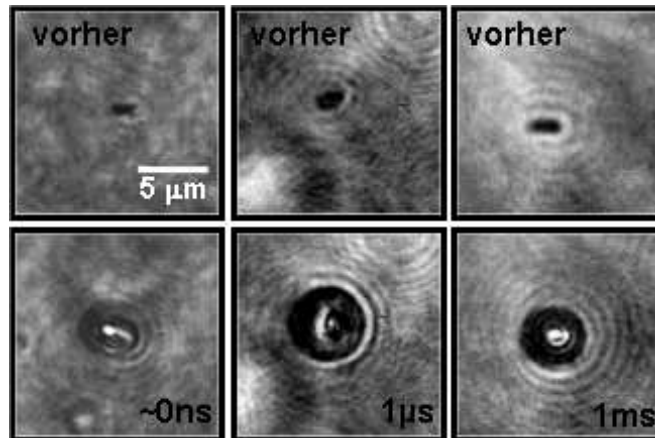


Abbildung 5.28: Kurzzzeit-Photographie von stabilen Blasen infolge der Bestrahlung von Melanosomen mit $H = 1.5 \text{ J/cm}^2$ bei einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 500 \text{ ns}$ zu verschiedenen Zeitpunkten. In der oberen Reihe ist jeweils das Melanosom vor der Bestrahlung dargestellt. In der unteren Reihe sieht man stabile Blasen zu verschiedenen Zeitpunkten bezogen auf den halben Pulsenergieeintrag.

gen der Blasen infolge des hydrostatischen Auftriebs beobachten, so daß es sich auch in diesem Fall nicht um einen thermischen Linseneffekt (vgl. Abschnitt 5.1) handeln kann. Ein zusätzliches Argument gegen einen thermischen Linseneffekt ist auch die lange Lebensdauer der hier beobachteten Struktur im Vergleich zur thermischen Einschlußzeit für Melanosomen von $\tau_T^{H_2O} = 440 \text{ ns}$ (Tab. 4.1).

Nach Verschwinden der Blase läßt sich – wie in Abb. 5.29 gezeigt wird – oftmals eine offensichtliche Formveränderung des Melanosoms, die mit einer Erhöhung der Blasenbildungsschwelle bei erneuter Bestrahlung einhergeht, beobachten. Nach Bestrahlung der anorganischen, chemisch inerten Gold- und magnetischen Silikatpartikeln ließen sich keine stabilen Blasen beobachten. Die lang-

lebigen Blasen bestehen offensichtlich aus chemischen Zersetzungsprodukten der Melanosomen (vgl. Diskussion in Abschnitt 5.4.3).

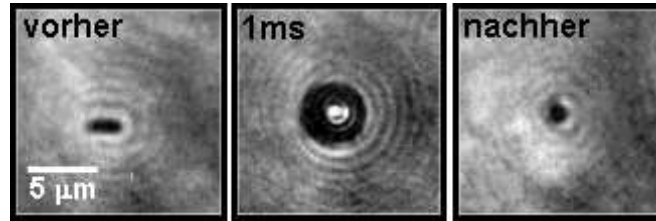


Abbildung 5.29: *Stabile Blase um ein Melanosom infolge der Bestrahlung mit $H = 1.5\text{J}/\text{cm}^2$ bei einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 500\text{ns}$. **Links:** vor der Bestrahlung, **Mitte:** 1ms nach der Bestrahlung, **rechts:** einige Sekunden nach der Bestrahlung. Das nach der Bestrahlung aufgenommene Bild rechts zeigt eine Formveränderung des Melanosoms. Eine zufällige Drehung des Melanosoms infolge der Bestrahlung ist aufgrund der Reproduzierbarkeit dieser Formveränderung unwahrscheinlich.*

5.3.4 Blasenexpansionsgeschwindigkeit nach der Nukleation

In Abschnitt 5.2.8 wurde der Nukleationszeitpunkt bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von 12ns photographisch untersucht. Aus den kurzzeitphotographischen Untersuchungen läßt sich auch ein Weg-Zeit-Diagramm der Blasenexpansion kurz nach der Nukleation erstellen (Abb. 5.30). Die Anfangsphase der Blasenbildung ließ sich für die Bestrahlung mit längeren Pulsdauern nicht bestimmen, da die Schwankungen des Nukleationszeitpunktes in einem so großen Zeitfenster lagen (vgl. Abb. 5.15), daß der Beleuchtungspuls, der einen Jitter von etwa $\pm 20\text{ns}$ besitzt, kaum exakt auf den Zeitpunkt der Blasen nukleation abgestimmt werden konnte.

Die Messung der Weg-Zeit-Diagramme für den Blasendurchmesser kurz nach der Nukleation als Funktion der Bestrahlung ist bei einer Pulsdauer von 12ns interessant, weil in diesem Fall nach Abb. 5.25 die maximale Blasengröße im Gegensatz zur Bestrahlung mit längeren Pulsen stark von der applizierten Bestrahlung abhängt.

Die Blasendurchmesser wurden in einem Zeitintervall von etwa 50ns nach der Nukleation anhand von Photographien ausgemessen und als Funktion der Zeit aufgetragen. Wegen der Streuung der Datenpunkte wurde als grobe Näherung eine lineare Interpolation gewählt, so daß sich eine mittlere Blasen anfangsgeschwindigkeit ergibt, was exemplarisch in Abb. 5.30 zu sehen ist. Die durch lineare Interpolation ermittelten mittleren Blasen anfangsgeschwindigkeiten sind in Abb. 5.31 als Funktion der applizierten Bestrahlung dargestellt. Während bei der niedrigsten in dieser Messung verwendeten Bestrahlung von $180\text{mJ}/\text{cm}^2$ das Melanosom mehrfach bestrahlt werden konnte, wurde bei $460\text{mJ}/\text{cm}^2$ und $1\text{J}/\text{cm}^2$

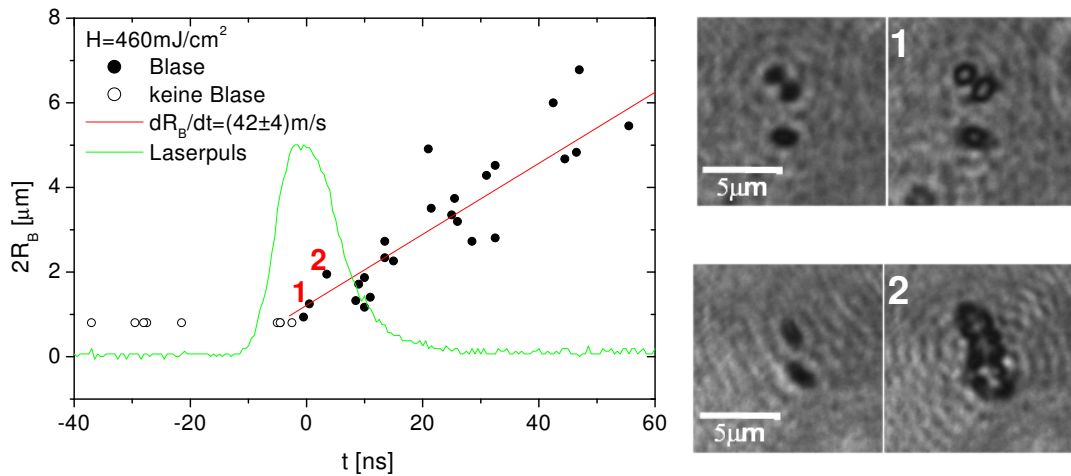


Abbildung 5.30: Weg-Zeit-Diagramm des Blasendurchmessers nach der Nukleation bei einer Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von 12 ns . Der Blasendurchmesser wurde jeweils aus kurzzeitphotographischen Aufnahmen ermittelt. Durch eine lineare Interpolation im Weg-Zeit-Diagramm des Blasendurchmessers wird die mittlere Blasenexpansionsgeschwindigkeit bestimmt. Da im linken Graphen die Blasendurchmesser $2R_B$ aufgetragen sind, muß zur Berechnung der mittleren radialen Ausbreitungsgeschwindigkeit dR_B/dt die Geradensteigung durch 2 dividiert werden. Rechts sind exemplarische Photographien dargestellt. Das linke Photo zeigt jeweils die Melanosomen vor der Bestrahlung. Die Photos rechts gehören entsprechend ihrer Ziffern zu den Meßpunkten aus dem linken Graph.

für jeden Bestrahlungsvorgang ein neues Partikel verwendet, da sich zum Teil eine Degeneration der Partikel und die Bildung von stabilen Blasen bemerkbar machte. Man erkennt in Abb. 5.31, daß sich die mittlere Blasenanzugsgeschwindigkeit mit zunehmender Bestrahlung erhöht. Bei einer Bestrahlung von 180 mJ/cm^2 , die etwa der 1.3-fachen Blasenbildungsschwelle entspricht, mißt man typische Werte von 10 m/s . Bei Bestrahlungen von 1 J/cm^2 steigt diese bis auf etwa 90 m/s an.

In Abb. 5.32 sind exemplarische Kurzzeitphotographien bei einer überschwelligen Bestrahlung eines Melanosoms mit 170 mJ/cm^2 dargestellt. Auf diesen Bildern zeigt sich, daß sich kurz nach der Nukleation zunächst einzelne nicht zusammenhängende Blasen auf der Oberfläche des Melanosoms bilden. Diese Blasen wachsen bei weiterer Expansion zusammen und bilden nach einiger Zeit eine größere Blase, die das Partikel vollständig umgibt. Bei einer höheren Bestrahlung von 460 mJ/cm^2 hingegen erkennt man in Abb. 5.30, daß das Melanosom fast instantan ($\lesssim 5 \text{ ns}$) vollständig von einem homogenen Gasfilm umgeben ist.

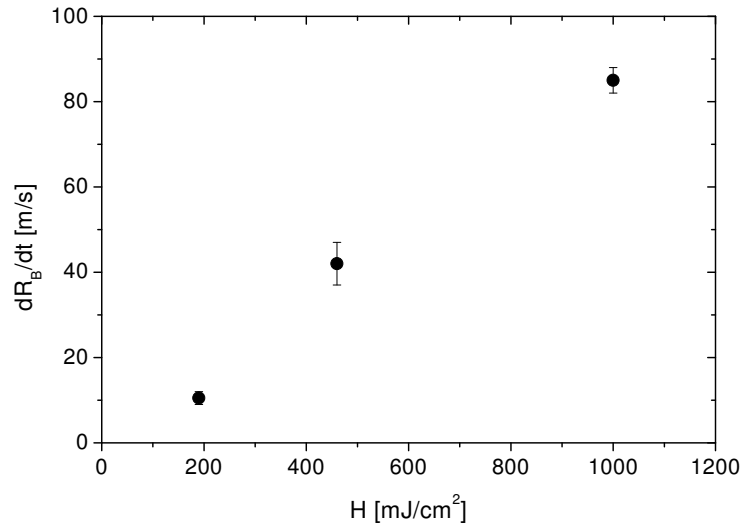


Abbildung 5.31: Über einen Zeitraum von 50ns nach der Nukleation gemittelte Blasenanzugsgeschwindigkeit (vgl. Abb. 5.30) bei der Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von 12ns.

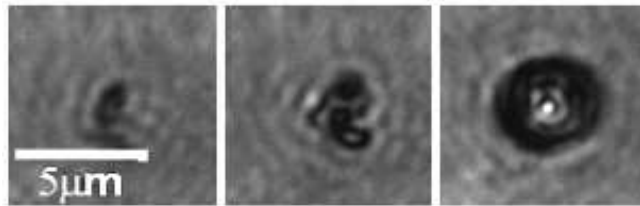


Abbildung 5.32: Kurzzeitphotographische Beobachtung der Blasenbildung an einem Melanosom infolge der Laserbestrahlung mit $H = 170\text{mJ/cm}^2$ bei einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 12\text{ns}$. **Links:** Melanosom vor der Bestrahlung, **Mitte:** Melanosom mit Blase zum Zeitpunkt $t_{\text{photo}}^B \lesssim 5\text{ns}$ nach der Nukleation, **rechts:** Melanosom mit Blase zum Zeitpunkt $t_{\text{photo}}^B = 85\text{ns}$ nach der Nukleation. Die Blasenbildungsschwelle für dieses spezielle Melanosom lag bei 120mJ/cm^2 .

5.4 Diskussion

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse zur Blasenbildung um isolierte Mikropartikel diskutiert. Zunächst wird in Abschnitt 5.4.1 auf die Bestrahlungsschwellen für die Blasenbildung und deren thermische Modellierung eingegangen. Die Ursachen für die starke Streuung der Blasenbildungsschwellen zwischen unterschiedlichen Partikeln der gleichen Sorte werden erörtert. In Abschnitt 5.4.2 werden die experimentell ermittelten Nukleationstemperaturen mit Literaturwerten verglichen. Zudem können anhand dieser Nukleationstemperaturen die in Frage kommenden Nukleationsmechanismen identifiziert werden. Anschließend wird in Abschnitt 5.4.3 ein qualitatives Modell entwickelt, mit dem die beobachtete Blasendynamik erklärt werden kann. Dieses Modell wird dann in Abschnitt 5.4.4 mit bereits existierenden Modellen aus der Literatur verglichen, um deren Gültigkeit zu überprüfen.

5.4.1 Blasenbildungsschwellen

Streuung der Blasenbildungsschwellen

Es wurde in Abschnitt 5.2.2 festgestellt, daß die Blasenbildungsschwelle für individuelle Partikel, deren Position in Bezug auf die Strahlquelle nicht verändert wird, eine sehr kleine relative Standardabweichung ($S - 1 \lesssim 1\%$) besitzt. Zudem konnten keine Hystereseeffekte der Blasenbildungsschwelle bei repetierender Laserbestrahlung beobachtet werden. Die Schwellenverteilung unterschiedlicher Partikel derselben Sorte weist aber nach Tab. 5.4 eine relative Standardabweichung von etwa 20% bis 30% der Blasenbildungsschwelle auf.

Ein Grund für diese Schwankungen zwischen Partikeln der gleichen Sorte könnte in den Größenunterschieden begründet sein, so daß gleiche Bestrahlungsbedingungen zu unterschiedlichen Temperaturerhöhungen auf der Partikeloberfläche führen. In Abb. 5.33 ist die berechnete Temperaturerhöhung auf der Partikeloberfläche bei konstanter Bestrahlung in Abhängigkeit von dem Partikelradius R für die verwendeten Pulsdauern dargestellt. Zur Berechnung der Oberflächentemperatur wurde für die Goldpartikel die mit der Mie-Theorie berechnete Absorptionseffizienz aus Abb. 3.1 benutzt. Für die Melanosomen wurde die Absorptionseffizienz mit Hilfe von Gl. 3.3 aus dem experimentell bestimmten Absorptionskoeffizienten von $\mu_{abs} = 0.7\mu\text{m}^{-1}$ (Tab. 5.5) berechnet. Da sich aufgrund der Linearität der Wärmeleitungsgleichung die relative Standardabweichung der Bestrahlungsschwelle für die Blasenbildung direkt auf die laserinduzierte Temperaturerhöhung an der Schwelle übertragen läßt, ist in Abb. 5.33 für die berechnete Nukleationstemperatur ein grauer Balken eingezeichnet, der die bei der Blasenbildungsschwelle experimentell gefundene relative Standardabweichung von $\pm 30\%$ kennzeichnet (vgl. Tab. 5.4).

Für die Berechnung der dargestellten Temperaturverläufe an der Melanoso-

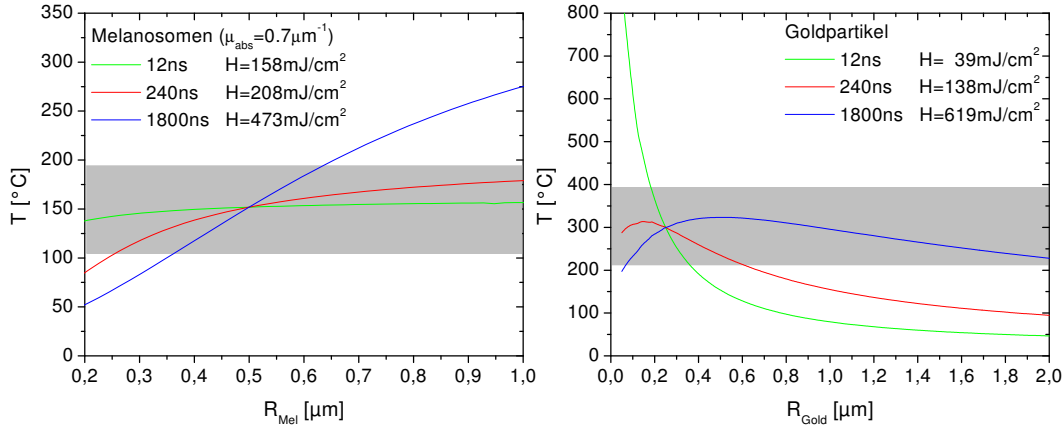


Abbildung 5.33: Berechnete Oberflächentemperatur als Funktion des Partikelradius R für Melanosomen (links) und Goldpartikel (rechts) zum Zeitpunkt des Laserpulsendes. Für die Berechnung wurden zeitliche Rechteckpulse mit einer Dauer von 12 ns, 240 ns und 1.8 μs verwendet. Die Bestrahlung wurde für jede Pulslänge so ausgewählt, daß für Melanosomen bei einem Radius $R = 0.5 \mu\text{m}$ und für die Goldpartikel bei $R = 0.25 \mu\text{m}$ die experimentell bestimmte Nukleationstemperatur von $T_{\text{Nuk}} \approx 150^{\circ}\text{C}$ bzw. von $T_{\text{Nuk}} \approx 300^{\circ}\text{C}$ erreicht wird. Die grauen Balken entsprechen einer Abweichung von $\pm 30\%$ zur mittleren experimentell bestimmten Nukleationstemperatur.

menoberfläche wurde die Annahme eines optisch dünnen Partikels mit räumlich homogener Wärmezufuhr benutzt (vgl. Abschnitt 3.2.1). Daher erhält man eine konstante volumetrische Energiedichte

$$\frac{E_{\text{abs}}}{V}(R) = \text{const.}$$

im Partikel, so daß bei Bestrahlung im thermischen Einschluß ($\tau_{\text{Laser}} = 12 \text{ns} \ll \tau_T^{H_2O}$) die Temperaturerhöhung des optisch dünnen Partikels nahezu unabhängig vom Partikelradius ist. Außerhalb des thermischen Einschlusses, d. h. bei sehr kleinen Partikeln und langen Bestrahlungspulsen, findet während des Laserpulses aufgrund von Wärmeleitung ein nennenswerter Wärmetransport vom Partikel in die Umgebung statt. Mit zunehmendem Partikelradius R , also bei Annäherung an die thermische Einschlußbedingung, steigt die Effektivität des Heizvorgangs.

Für die optisch dicken Goldpartikel hingegen gilt nach Abb. 3.1 näherungsweise $Q_{\text{abs}} \approx \text{const.}$, so daß sich bei einer Bestrahlung unter thermischen Einschlußbedingungen für die volumetrische Energiedichte

$$\frac{E_{\text{abs}}}{V}(R) = \frac{Q_{\text{abs}} \pi R^2 H}{\frac{4}{3} \pi R^3} \propto \frac{1}{R} \quad (5.3)$$

ergibt. Die Laserstrahlung wird wegen ihrer geringen Eindringtiefe nur nahe der bestrahlten Partikeloberfläche absorbiert ($E_{abs} \propto R^2$). Die dort deponierte Energie verteilt sich jedoch aufgrund von Wärmeleitung auf das ganze Partikel ($V \propto R^3$). Daher steigt die nach Gl. 5.3 gemittelte volumetrische Energiedichte mit abnehmender Partikelgröße. Bei einer Bestrahlung mit einer Pulsdauer von $12ns$, die im thermischen Einschluß stattfindet, ist die Temperaturerhöhung proportional zur volumetrischen Energiedichte. Deshalb gilt mit Gl. 5.3

$$\Delta T_{Laser} \propto \frac{1}{R}.$$

In diesem Fall steigt also – anders als bei den Melanosomen – die Temperatur mit Verringerung des Partikeldurchmessers. Bei langen Pulsen und kleinen Partikelradien, für die die thermische Einschlußbedingung nicht erfüllt ist, wird der Heizvorgang jedoch wieder ineffektiver, so daß die Temperaturerhöhung pro Bestrahlung abnimmt (vgl. Abb. 5.33).

Die Rechnungen in Abb. 5.33 zeigen, daß eine Variation der Partikelgrößen tatsächlich zu Schwankungen der Blasenbildungsschwelle führen kann. Allerdings variierte der Radius der kleinen Halbachse der elliptischen Melanosomen, der nach Pustovalov [189] die Wärmeleitung maßgeblich bestimmt, nur im Bereich von $(0.4 \pm 0.05)\mu m$ (vgl. Abschnitt 4.1.1). Die Variation der Goldpartikelgröße lag deutlich unterhalb von 50%, so daß sich im ungünstigsten Fall Radien R_{Gold} von $0.1\mu m$ bis $0.4\mu m$ ergeben. In diesen Bereichen sind die berechneten Temperaturschwankungen für die meisten verwendeten Pulsdauern deutlich geringer als die durch den grauen Balken markierte experimentelle Standardabweichung von $\pm 30\%$ (Tab. 5.4). Die experimentellen Schwankungen sind daher nur teilweise auf eine statistische Variation der Partikelgröße zurückführbar.

Für Melanosomen, die – wie man in der TEM-Aufnahme aus Abb. 4.1 erkennen kann – die Form eines Rotationsellipsoiden besitzen, können bei gleicher Bestrahlung sowohl Unterschiede bezüglich der Form als auch der Lage zur Bestrahlungsquelle zu unterschiedlichen Temperaturerhöhungen auf der Partikeloberfläche führen [165]. Insbesondere läßt sich anhand der elektronenmikroskopischen Aufnahmen aus Abb. 4.1 erkennen, daß im TEM einige Melanosomen eine geringere Absorption für Elektronen aufweisen als andere, was vermutlich auf einen unterschiedlichen Melaningehalt zurückzuführen ist [67, 31]. Eine Variation hinsichtlich des Melaningehalts führt zu Unterschieden in der Absorptionseffizienz des Partikels und damit zu Unterschieden in der deponierten Wärmemenge. Zudem weist das Bestrahlungsprofil aufgrund von Speckle-Bildung eine räumliche Bestrahlungsmodulation von maximal $\Delta H = 15\%$ auf (Abb. 4.11), was je nach Position des Partikels in der bestrahlten Fläche ebenfalls zu unterschiedlichen Temperaturerhöhungen führen kann.

Neben den unterschiedlichen Temperaturerhöhungen auf der Partikeloberfläche infolge leicht variierender Partikeleigenschaften wie Größe, Form und Absorptionsverhalten sowie der relativen Lage des Absorbers zur Bestrahlungsquelle und

der räumlichen Bestrahlungsmodulation aufgrund von Speckle-Bildung kann auch die Nukleationstemperatur für verschiedene Partikel derselben Sorte unterschiedlich sein. In Tabelle 5.2 wird deutlich, daß die relative Standardabweichung der experimentell bestimmten Nukleationstemperaturen von Melanosomen und magnetischen Silikatpartikeln im Bereich von 15% bis 25% liegt, was ebenfalls zu einer Streuung der zur Blasenbildung notwendigen Bestrahlung führt. Da man bei der Bestimmung der Nukleationstemperatur in Abschnitt 5.2.4 jeweils ein einziges Partikel unter Änderung der Suspensionstemperatur bestrahlt, spielen bei diesen Messungen der Nukleationstemperatur Variationen in der Partikelgröße, -form und -absorption keine Rolle. Die Ursachen für die Schwankungen in der Nukleationstemperatur zwischen individuellen Partikeln sind deshalb typischerweise in der Oberflächenmorphologie der Partikel zu suchen. So wurde bei Untersuchungen zur Nukleation von Kavitationsblasen in einer Partikelsuspension nachgewiesen, daß die Zugspannung, bei der die Nukleation stattfindet, weniger von der Partikelgröße, sondern vielmehr von den Eigenschaften der Partikeloberfläche abhängt [152]. Bei den in dieser Arbeit verwendeten Partikeln wird sicherlich auch die Oberflächenbeschaffenheit zwischen den einzelnen Partikeln der gleichen Sorte statistisch variieren, was dann zu unterschiedlichen Nukleationstemperaturen führt und somit zu den beobachteten Schwankungen in der für die Blasenbildung notwendigen Bestrahlung beiträgt.

Die Schwankungen in der zur Blasenbildung notwendigen Bestrahlung sind also zum einen in Variationen bezüglich der Partikelgröße, -form, und -absorption begründet. Diese führen bei gleicher Bestrahlung zu einer unterschiedlichen Temperaturerhöhung. Zusätzlich spielt aber auch die Oberflächenmorphologie der Partikel eine Rolle, die mit einer Variation der Nukleationstemperatur einhergeht. Außerdem weist der Bestrahlungsfleck aufgrund von Speckle-Bildung eine räumliche Bestrahlungsmodulation auf.

Vergleich der Blasenbildungsschwellen mit Literaturwerten

Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Blasenbildungsschwellen werden im folgenden mit anderen photographisch bestimmten Blasenbildungsschwellen an RPE-Melanosomen verglichen: Bei Rögner bzw. Brinkmann et al. betragen nach Abb. 5.34 die Blasenbildungsschwellen von Schweine-RPE-Melanosomen bei ähnlichen Bestrahlungspulsdauern nur etwa 70% der in der vorliegenden Arbeit gemessenen mittleren Werte [193, 36]. Allerdings stimmen die minimalen in dieser Arbeit gemessenen Schwellen gut mit den Werten von Rögner und Brinkmann et al. überein. Die von Kelly verwendeten Rinder-RPE-Melanosomen besitzen eine ähnliche Größe wie die Melanosomen vom Schwein (vgl. Abschnitt 4.1.1). Sie haben ebenfalls die Form eines Rotationsellipsoiden. Die lichtmikroskopisch bestimmten mittleren Durchmesser sind $d_1 = d_2 = (1.1 \pm 0.1)\mu m$ und $d_3 = (2.5 \pm 0.4)\mu m$ [118]. Die Blasenbildungsschwelle dieser Melanosomen lag bei Laserpulsdauern von $20ns$ mit $H_S = (55 \pm 5)mJ/cm^2$ nur halb so hoch wie in die-

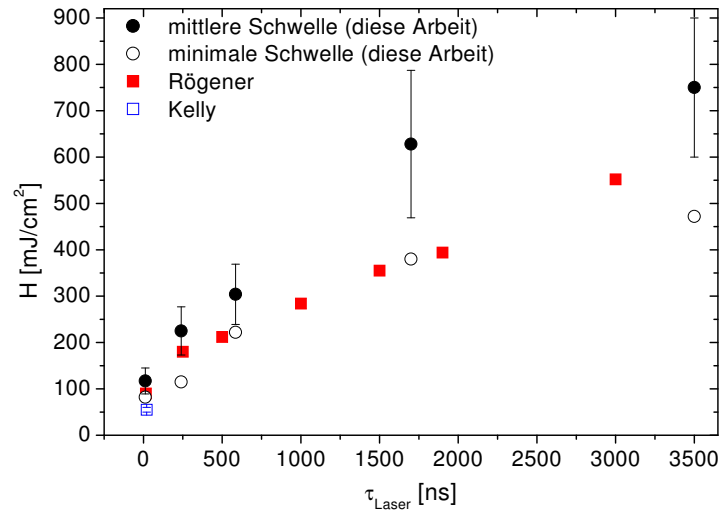


Abbildung 5.34: Vergleich der Blasenbildungsschwellen für Melanosomen bei verschiedenen Laserpulsdauern aus dieser Arbeit (Tab. 5.4) mit Messungen von Rögner bzw. Brinkmann et al. [193, 36] bzw. Kelly [118].

ser Arbeit (vgl. Tab. 5.4: $H_S = (117 \pm 28) \text{ mJ/cm}^2$ bei $\tau_{\text{Laser}} = 12 \text{ ns}$). Es besteht die Möglichkeit, daß RPE-Melanosomen vom Rind andere optische Eigenschaften als die vom Schwein besitzen. Die Bestrahlung erfolgte bei Kelly allerdings mit einem Gaußschen Strahlprofil, was die exakte Berechnung der applizierten Bestrahlung am Ort des Melanosoms erschwerte und möglicherweise die Unterschiede in den Bestrahlungsschwellen erklärt. Bei Angabe des Durchschnittswertes der Bestrahlung im $1/e^2$ Intensitätsbereich als Schwellenwert der Bestrahlung liegt der Spitzenwert der Bestrahlung (tatsächliche Schwelle) doppelt so hoch, was gut mit den Blasenbildungsschwellen der vorliegenden Arbeit übereinstimmt. Kelly beobachtete allerdings trotz einer optischen Auflösung von $1 \mu\text{m}$ bei der Bestrahlung dieser Melanosomen an der Blasenbildungsschwelle nach einer Zeitverzögerung von 125 ns einen Blasendurchmesser von $4.4 \mu\text{m}$ [118, S. 78]. Wie man aus Abb. 5.25 entnehmen kann, erhält man in den Experimenten der vorliegenden Arbeit einen Blasendurchmesser von $4.4 \mu\text{m}$ erst bei doppelter Schwellenwertbestrahlung, so daß die von Kelly ermittelte Blasenbildungsschwelle vermutlich schon bei einer stark überschwelligen Bestrahlung lag. Diese Beobachtung erhöht die Diskrepanz zwischen den Schwellenwerten aus dieser Arbeit und den Messungen von Kelly.

5.4.2 Nukleationstemperaturen und Nukleationsmechanismen

In diesem Abschnitt erfolgt eine detaillierte Diskussion der Nukleationsmechanismen, die anhand der experimentell bestimmten Nukleationstemperaturen vorge-

nommen wird. Bei der Messung der Nukleationstemperaturen wurde festgestellt, daß sich die mittleren Nukleationstemperaturen für die verschiedenen Partikelarten signifikant voneinander unterscheiden (Tab. 5.7).

Durch die gepulste Laserbestrahlung mit gütegeschalteten Pulsen lassen sich nach Tab. 5.7 sehr große Heizraten realisieren. Zur Abschätzung der Heizraten auf der Partikeloberfläche wird die zur Nukleation benötigte laserinduzierte Temperaturerhöhung $\Delta T_{Laser} = T_{Nuk} - T_0$ und die Laserpulsdauer τ_{Laser} als Heizzeit benutzt, so daß man mit Hilfe der Näherung

$$\dot{T} \approx \Delta T_{Laser} / \tau_{Laser} \quad (5.4)$$

die in Tab. 5.7 dargestellten mittleren Heizraten für eine Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle erhält. Bei überschweelliger Bestrahlung der Partikel ergeben sich dann entsprechend höhere Heizraten. Es zeigte sich in den Experimenten, daß die Nukleationstemperatur unabhängig von der verwendeten Pulsdauer (12ns und 1.8µs) ist (Tab. 5.2), was bedeutet, daß sich die Nukleationstemperatur bei den resultierenden Heizraten von $10^8 K/s$ bis $10^{10} K/s$ nur geringfügig, d. h. innerhalb der gemessenen Standardabweichung für die Nukleationstemperatur verändert.

	$T_{Nuk} [^{\circ}C]$	$\dot{T} [K s^{-1}]$	
		$\tau_{Laser} = 12ns$	$\tau_{Laser} = 1.8\mu s$
Melanosomen	147 ± 20	$(1.1 \pm 0.2) \cdot 10^{10}$	$(0.7 \pm 0.2) \cdot 10^8$
magnetische Silikatpartikel	244 ± 30	$(1.9 \pm 0.3) \cdot 10^{10}$	$(1.2 \pm 0.2) \cdot 10^8$
Goldpartikel	327 ± 112	$(2.6 \pm 1.0) \cdot 10^{10}$	$(1.7 \pm 0.7) \cdot 10^8$

Tabelle 5.7: Experimentell bestimmte Nukleationstemperaturen T_{Nuk} (vgl. Tab. 5.2 und Abb. 5.14) und daraus mit Gl. 5.4 abgeschätzte Heizraten \dot{T} bei Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle.

Eine Abschätzung für die Größenordnung des Wärmeflusses, der bei der Abkühlung des Partikels an der Grenzfläche F zum Wasser auftritt, läßt sich mit Hilfe der laserinduzierten Temperaturerhöhung ΔT_{Laser} und der thermischen Einschlußzeit $\tau_T^{H_2O}$ für das Partikel, die die charakteristische Zeitkonstante für die Abkühlung durch Wärmeleitung darstellt, berechnen. Es gilt somit die Abschätzung

$$q'' = \frac{1}{F} \frac{dQ}{dt} = \frac{4/3\pi R^3}{4\pi R^2} \rho c_p \dot{T} \approx \frac{1}{3} R \rho c_p \frac{\Delta T_{Laser}}{\tau_T^{H_2O}}.$$

Die Werte für den Wärmefluß liegen demnach in der Größenordnung von $q'' \approx 100 \frac{MW}{m^2}$. Bei thermischen Grenzflächenleitwerten, die an einer Grenzfläche zu Wasser in der Größenordnung von $G_K \approx 100 \frac{MW}{m^2 K}$ liegen [261, 77, 53], ergeben sich daraus nach Gl. 3.5 Temperatursprünge zwischen der Partikeloberfläche und

der umgebenden Flüssigkeit von etwa $\Delta T = q''/G_K \approx 1K$. Diese Temperaturunstetigkeiten an der Partikeloberfläche können sowohl bei der Auswertung als auch bei der Modellierung der Experimente vernachlässigt werden.

Einfluß von Drucktransienten auf den Nukleationsvorgang

Um die Nukleationsbedingungen besser spezifizieren zu können, soll an dieser Stelle untersucht werden, inwieweit möglicherweise bipolare thermoelastische Druckwellen, die aufgrund ihres Zugwellenanteils zu einer transienten Erniedrigung der Phasenübergangstemperatur führen können, an der Nukleation beteiligt sind [32, 176, 256].

Die berechnete Spinodale von Wasser besitzt bei Normaltemperatur nach Abb. 3.2 einen Wert von etwa $-1.6kbar$ [121]. Für nicht entgastes Wasser mit submikroskopischen Verunreinigungen, die einen maximalen Durchmesser von weniger als $220nm$ besitzen, können nach Paltauf et al. allerdings schon thermoelastische Transienten mit Zugamplituden von $-8bar$ und Zugdauern von einigen $100ns$ einen Phasenübergang initiieren [177, 178]. Wurster et al. beobachteten in entgastem Wasser, das Verunreinigungen mit einem maximalen Durchmesser von $3\mu m$ enthielt, selbst bei Zugamplituden von $-590bar$, die etwa $250ns$ andauerten, keine Kavitationsblasenbildung [267]. In Wasser mit Verunreinigungen, die kleiner als $1\mu m$ waren, wurde von Marschall et al. bei einem statischen Unterdruck eine Kavitationsschwelle von $-1.5bar$ gemessen [152]. In diesem Experiment wurde bei einer gezielten Zugabe von Mikropartikeln festgestellt, daß weniger die Größe der Verunreinigungen, sondern vielmehr deren Oberflächenbeschaffenheit die Nukleationsschwelle beeinflusst [152].

Mit Hilfe der in Abschnitt 3.3 dargestellten Grundlagen zur thermoelastischen Druckentstehung werden nun die Druckamplituden an der Partikeloberfläche infolge der Bestrahlung mit einem gaußförmigen Laserpuls berechnet. Sie sind in Abb. 5.35 sowohl für die Melanosomen als auch für die Goldpartikel dargestellt. Man erkennt, daß der Druckverlauf auf der Partikeloberfläche proportional zur Ableitung der Laserpulsform ist (vgl. Abschnitt 3.3), so daß Druck- und Zuganteil der thermoelastischen Welle die gleiche Betragsamplitude besitzen. Der Einfluß der Wärmeleitung wird bei der Berechnung vernachlässigt, was strenggenommen nur für die Bestrahlung im thermischen Einschluß gilt. Allerdings erhält man bei zusätzlicher Berücksichtigung der Wärmeleitung noch niedrigere Druckamplituden [40], so daß die berechneten Druckamplituden für Pulse außerhalb des thermischen Einschlusses eine obere Abschätzung darstellen. Bei der Berechnung der Druckamplituden für Melanosomen ist anzumerken, daß ein gewisser Fehler in der Druckberechnung dadurch entsteht, daß der Grüneisen-Parameter von Melanosomen unbekannt ist. Typische Werte für Grüneisen-Parameter von organischen Polymeren liegen bei $\Gamma \approx 1$ [176]. Allerdings enthält das Melanosom neben seinem Hauptbestandteil, dem organischen Polymer Melanin, auch eine Proteinmatrix, in die das Melanin eingelagert wird, und Wasser, das im Me-

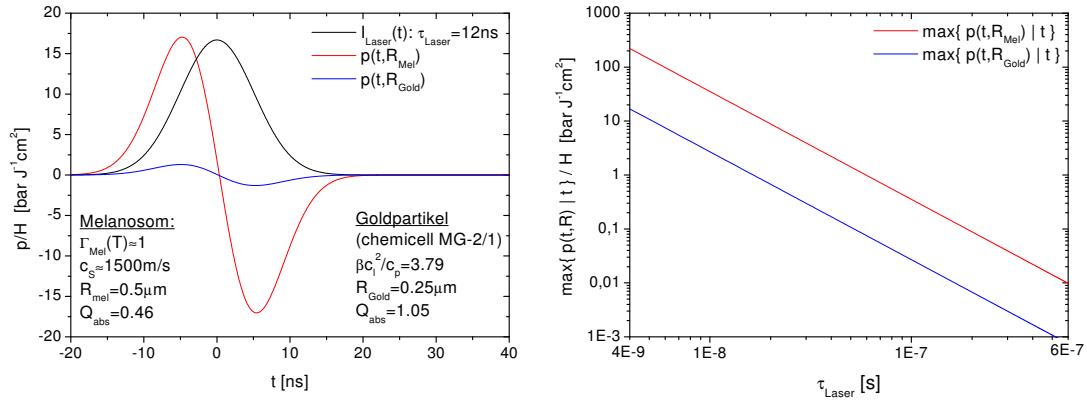


Abbildung 5.35: **Links:** Berechneter Druckverlauf auf der Partikeloberfläche von Goldpartikeln (Gl. 3.19) und Melanosomen (Gl. 3.21) infolge thermoelastischer Druckentstehung während einer Bestrahlung mit $H = 1J/cm^2$. Der thermoelastische Druck ist proportional zur Bestrahlung H . **Rechts:** Maximale Druckamplituden für eine Bestrahlung mit $H = 1J/cm^2$ in Abhängigkeit von der Laserpulsdauer ohne Berücksichtigung der Wärmeleitung. Wegen der Vernachlässigung der Wärmeleitung stellen die berechneten Druckamplituden eine obere Abschätzung dar.

lanosom chemisch gebunden ist [20, 35]. Der Grüneisen-Parameter von Wasser weist eine starke Temperaturabhängigkeit auf [179]. Nach Abb. A.5 im Anhang besitzt der Grüneisen-Parameter von Wasser bei Normaltemperatur einen Wert von $\Gamma = 0.1$, der bei $100^\circ C$ auf einen Wert von etwa $\Gamma = 0.45$ ansteigt. Für die Berechnung der Druckamplituden an der Melanosomenoberfläche wurde für das Melanosom als obere Abschätzung ein Grüneisen-Parameter von $\Gamma = 1$ gewählt.

Die Druckamplituden hängen nach Abschnitt 3.3 linear von der applizierten Bestrahlung ab. In Abb. 5.35 sind sie für eine Bestrahlung von $1J/cm^2$ berechnet worden. Bei den kürzesten verwendeten Pulsdauern von $12ns$, für die die höchsten Druckamplituden erwartet werden, liegt die Blasenbildungsschwelle bei etwa $100mJ/cm^2$ (vgl. Tab. 5.4), so daß sich nach Abb. 5.35 maximale Druck- und Zugamplituden von weniger als $2bar$ ergeben. Diese reichen nach Paltauf et al. [177, 178] nicht aus, um einen Phasenübergang an inhomogenen Nuklei zu initiieren. Sie könnten aber die Temperatur für homogene und heterogene Nukleation ändern. Die Änderung der spinodalen Temperatur bei einer Zugamplitude von $2bar$ ist allerdings ebenfalls sehr gering (vgl. Abb. 3.2).

Eine Beteiligung von Zugwellen an der Nukleation ist aufgrund der obigen Berechnungen sehr unwahrscheinlich. Gegen eine durch Zugwellen induzierte Nukleation sprechen auch experimentelle Indizien: In den Experimenten wurde kein signifikanter Unterschied in der Nukleationstemperatur zwischen den beiden verwendeten Pulsdauern von $12ns$ und $1.8\mu s$ festgestellt (vgl. Tab. 5.2). Ein Beitrag

von Zugwellen zur Nukleation kann nur bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von $12ns$ auftreten, da nach Abb. 5.35 nur in diesem Fall eine nennenswerte Zugamplitude entsteht. Man würde allerdings erwarten, daß dann die Nukleationstemperatur im Vergleich zur Bestrahlung mit Pulsdauern von $1.8\mu s$ sinkt [180]. Außerdem waren bei der Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von $12ns$ (wie auch bei allen Experimenten in dieser Arbeit) im Gegensatz zur Bestrahlung mit Pulsdauern von $30ps$, die im akustischen Einschluß stattfindet, photographisch keine akustischen Transienten anhand von druckinduzierten Brechungsindexveränderungen beobachtbar [143].

Allerdings läßt sich bei der kurzzeitphotographischen Untersuchung der Nukleationszeitpunkte an Melanosomen in Abb. 5.16, ein innerhalb der Fehlergrenzen leicht verzögerter Phasenübergang im Vergleich zur thermischen Modellierung beobachten. Ein verzögerter Phasenübergang kommt dadurch zustande, daß der Druckanteil der thermoelastischen Welle, die die Partikeloberfläche passiert, eine transiente Siedepunktserhöhung verursacht, so daß die Nukleation erst während des Zuganteils stattfindet. Dieses Phänomen wurde für die laserinduzierte Blasen-nukleation an Glasoberflächen unter Druckeinschlußbedingungen experimentell von Brendel beobachtet [32].

Zusammenfassend kann man aus den Berechnungen zur thermoelastischen Druckentstehung in Übereinstimmung mit den Experimenten folgern, daß bei den verwendeten Pulsdauern die Amplituden der bipolaren Druckwelle auf der Partikeloberfläche nicht ausreichend sind, um den Nukleationsvorgang nennenswert zu beeinflussen. Deshalb wird in der folgenden Diskussion eine rein thermisch induzierte Nukleation angenommen.

Vergleich mit Nukleationstemperaturen aus ähnlichen Experimenten

Die in dieser Arbeit verwendeten anorganischen Gold- und Silikat/Magnetit-Partikel besitzen eine hydrophile Oberfläche. Die für diese Partikel gemessenen mittleren Nukleationstemperaturen lagen oberhalb von etwa $250^{\circ}C$. Diese Werte stimmen gut mit Literaturwerten für Nukleationstemperaturen an Grenzflächen zu anorganischen Festkörpern überein: So haben Brendel und Brinkmann entgastes und gefiltertes Wasser, das Verunreinigungen mit einem Partikeldurchmesser von weniger als $200nm$ enthielt, mit Hilfe eines freilaufenden Thulium-Lasers (Cr:Tm:YAG, $\lambda = 2.01\mu m$, $\tau_{Laser} = 300\mu s$) an einer polierten Glasgrenzfläche erhitzt und dabei eine Nukleationstemperatur von etwa $230^{\circ}C$ bestimmt [33]. Typische Nukleationstemperaturen von Wasser auf elektrisch geheizten hydrophilen Metalloberflächen liegen bei Heizraten von $10^6 K/s$ bis $10^8 K/s$ im Bereich von $270^{\circ}C$ bis $303^{\circ}C$ [107, 80, 236]. Die Nukleationstemperatur für die Melanosomen, die aus organischem Material bestehen, ist mit ungefähr $150^{\circ}C$ deutlich niedriger.

Einfluß der Heizrate auf die Nukleationstemperatur

Die Heizraten bei den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten liegen nach Tab. 5.7 im Bereich von $10^8 K/s$ bis $10^{10} K/s$. Mit elektrisch betriebenen flächigen Mikroheizelementen aus Tintenstrahlschreibwerken (vgl. Abschnitt 2.2.2) erreicht man in der Praxis Heizraten von $10^6 K/s$ bis zu $10^8 K/s$ [107, 19]. Bei diesen Werten wird die maximal erreichbare Heizrate durch die Wärmekapazität des Heizelements in Kombination mit dem maximal verfügbaren Stromfluß, der aufgrund der dissipierten Jouleschen Wärme den Heizvorgang bewirkt, begrenzt. Weil in dem aus lasererhitzten Mikropartikeln bestehenden Modellsystem – ebenso wie bei den elektrisch betriebenen Heizelementen – die Nukleation nicht durch Zugwellen beeinflusst wird, ist die Nukleation an lasererhitzten Mikropartikeln ein weiteres Modell für rein thermisch induzierte Phasenübergänge. Die Nukleationsvorgänge an lasererhitzten Partikeln können deshalb als eine Erweiterung der elektrisch betriebenen Modellsysteme zu höheren Heizraten betrachtet werden. Ebenso wie bei den elektrisch betriebenen Heizelementen kann der Nukleationsvorgang aufgrund einer Blasengröße im Mikrometerbereich mit Hilfe der Kurzzeit-Mikrophotographie untersucht werden – im Gegensatz zu Systemen mit noch kleinerer Wärmekapazität wie Nanopartikel, wo die erzeugten Blasen in der Regel kleiner als die optische Auflösungsgrenze sind.

Bei den Experimenten mit elektrisch betriebenen Mikroheizelementen hängt die Nukleationstemperatur bei den untersuchten Heizraten im Bereich von $10^6 K/s$ bis $10^8 K/s$ nur schwach von der Heizrate ab [107, 80], d. h. die Nukleationstemperaturen ändern sich bei einer Variation der Heizrate um eine Größenordnung nur um wenige Grad. Dieser Sachverhalt stimmt gut mit den Messungen aus Tab. 5.2 überein, bei denen man keine signifikante Abhängigkeit der Nukleationstemperatur von der Laserpulsdauer feststellen konnte.

Einfluß der Oberflächenmorphologie auf die Nukleationstemperatur

Thomas et al. haben auf elektrisch betriebenen Mikroheizelementen bei Heizraten von $10^7 K/s$ eine starke Abhängigkeit der Nukleationstemperatur von der Benetzbarkeit der Oberfläche beobachtet [236]. Während bei unbeschichteten Goldoberflächen bzw. auf hydrophil beschichteten Goldoberflächen ($\Theta < 15^\circ$) Nukleationstemperaturen von etwa $270^\circ C$ gemessen wurden, fand die Nukleation auf hydrophob beschichteten Goldoberflächen ($\Theta \approx 115^\circ$) bei nur $200^\circ C$ statt. Als Erklärung für dieses Phänomen wurde bei hydrophober Beschichtung eine inhomogene Nukleation durch Nanoblasen (vgl. Abschnitt 3.4.4) vermutet [236]. Bei den hydrophilen Oberflächen wurde eine heterogene Nukleation (vgl. 3.4.3) angenommen, die keine stabilisierten Keimblasen an der Grenzfläche voraussetzt.

Zur Bestimmung der Nukleationstemperatur beim Steam-Laser-Cleaning, das in Abschnitt 2.2.3 beschrieben wurde, wurden verschiedene Materialien mit unterschiedlicher Oberflächenrauigkeit, auf denen sich ein Wasserfilm befand, mit einem frequenzverdoppelten, gütegeschalteten Nd:YAG-Laser ($\lambda = 532 nm$, $\tau_{Laser} = 9 ns$) bei einem Strahldurchmesser von $8 mm$ außerhalb des akustischen Einschlus-

ses bestrahlt [161, 53]. Die in Tab. 5.8 dargestellten Nukleationstemperaturen wurden analog zu dem Verfahren aus Abschnitt 5.2.4 durch eine Variation der Umgebungstemperatur bestimmt. Die Blasenbildungsschwelle zeigte – wie auch in den Experimenten zu dieser Arbeit – keine Hysterese bezüglich der Heiz- und Abkühlungszyklen der Flüssigkeitstemperatur [53]. Aus Tab. 5.8 kann man ent-

	T_{Nuk} [°C]
Silizium Wafer [53]	250 ± 29
Silanisierter Silizium Wafer (atomar glatt, $\Theta \gtrsim 100^\circ$) [53]	277 ± 9
Silizium Wafer mit Löchern ($\emptyset \approx 300nm$, $h \approx 40nm$) [53]	160 ± 13
Aufgedampfter Silberfilm (rauh) [53]	133 ± 30

Tabelle 5.8: *Typische beim Steam Laser Cleaning gemessene Nukleationstemperaturen von Wasser infolge laserinduzierter Temperatursprünge ($\tau_{Laser} = 9ns$) [161, 53]. Aufgrund der geringen optischen Eindringtiefe von $D = 1\mu m$ für Silizium und $D = 10nm$ für Silber bei $\lambda = 532nm$ [53] ist bei der Bestrahlung die akustische Einschlußbedingung nicht erfüllt.*

nehmen, daß die Struktur der erhitzten Oberfläche maßgeblich die Nukleationstemperatur beeinflusst. So wurde für Silizium-Wafer, auf die eine hydrophobe Monolage Silan (SiH_4) aufgebracht wurde, bei einem gemessenen Kontaktwinkel von $\Theta > 100^\circ$ zum Wasser eine Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = 277^\circ C$ gefunden. Versieht man einen Silizium-Wafer, der unbehandelt eine Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = 250^\circ C$ aufweist, mit Löchern, die einen typischen Durchmesser von etwa $300nm$ und eine Tiefe von etwa $h \approx 40nm$ besitzen, so sinkt die Nukleationstemperatur drastisch auf $T_{Nuk} = 160^\circ C$. Ebenso erhält man für einen auf Quarz aufgedampften Silberfilm, dessen Rauigkeit nicht näher spezifiziert wurde, eine ähnlich niedrige Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = 133^\circ C$. Allerdings wurde in diesen Experimenten, bei denen die Blasenbildung mit einem Abfragelaser in Reflektionsgeometrie detektiert wurde, die Grenzfläche des Festkörpers zum Wasser nicht mikroskopisch auf stabilisierte Blasenkeime, die die Nukleationstemperatur nach Abschnitt 3.4.4 stark herabsetzen können, untersucht. Experimentell erhält man also nach Tab. 5.8 um so höhere Nukleationstemperaturen, je glatter die Oberfläche ist, auf der die Nukleation stattfindet. An der Festkörpergrenzfläche stabilisierte Nanoblasen, die besonders auf hydrophoben Oberflächen zu finden sind, können die Nukleationstemperatur herabsetzen. Die typischen Nukleationstemperaturen für transient geheizte glatte und hydrophile Oberflächen stimmen gut mit den in dieser Arbeit für anorganische Partikel gemessenen Nukleationstemperaturen von $T_{Nuk} \gtrsim 250^\circ C$ überein.

Nukleationstemperatur bei Melanosomen

Für Melanosomen erhält man deutlich niedrigere Nukleationstemperaturen von $T_{Nuk} = 150^{\circ}\text{C}$. Man kann mit Hilfe rasterkraftmikroskopischer Untersuchungen feststellen, daß die Melanosomenoberfläche glatt im Nanometerbereich ist (Abb. 5.36). Nur in der Oberflächenfestigkeit zeigen sich in Abb. 5.36 Substrukturen mit Durchmessern von etwa 20nm . Wegen dieser relativ glatten Oberfläche sollte man für Melanosomen deutlich höhere Nukleationstemperaturen als die gemessenen erwarten. Die Gründe für die Abweichung sind noch nicht gut verstanden.

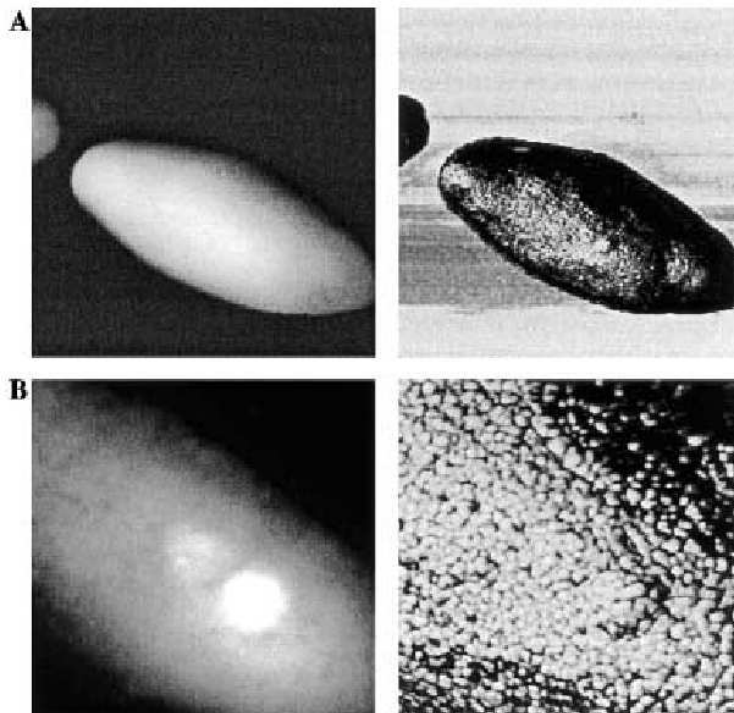


Abbildung 5.36: Rasterkraftmikroskopische Aufnahme der Oberfläche von RPE-Melanosomen vom Rind nach Liu und Simon [146]. **A:** Bildausschnitt $3.08\mu\text{m} \times 3.08\mu\text{m}$, **B:** Bildausschnitt $800\text{nm} \times 800\text{nm}$. **Links:** Höhendarstellung, **Rechts:** Phasendarstellung. Der Bildkontrast in der Phasendarstellung beruht auf der Messung der Phasendifferenz zwischen dem Oszillator, der die Sonde des Rasterkraftmikroskops in Schwingung versetzt, und der tatsächlichen Bewegung der Sonde, die durch die Wechselwirkung mit der zu untersuchenden Probe beeinflusst wird. Die Phase ist deshalb ein Maß für die Festigkeit des abgetasteten Bereichs. Die Phasenbilder zeigen Substrukturen mit Durchmessern von etwa 20nm an der Melanosomenoberfläche. Trotz dieser Unterschiede in der Oberflächenfestigkeit ist das Melanosom in der Höhendarstellung im Nanometerbereich glatt.

Eine mögliche Ursache für die unerwartet niedrige Nukleationstemperatur könnte auch mit Variationen in den mechanischen und vielleicht auch chemischen Eigenschaften der Melanosomenoberfläche zusammenhängen (vgl. Abb. 5.36). Diese spiegeln sich nicht unmittelbar in der Oberflächenrauigkeit wider, könnten aber zu lokalen Maxima des Kontaktwinkels bewirken, die zu einem Absinken der Temperatur für eine heterogene Nukleation führen. Da aber nach den Experimenten zu Tab. 5.8 und den Rechnungen in Abb. 3.8 selbst große Kontaktwinkel mit $\Theta \gtrsim 100^\circ$ die Nukleationstemperatur kaum herabsetzen, ist für die Melanosomen eine inhomogene Nukleation an stabilisierten Gaskeimen am wahrscheinlichsten. Dieses Gas wird möglicherweise bei der Erhitzung des Melanosoms freigesetzt. Dieser Erklärungsansatz wird im Rahmen der Nukleationsmechanismen im nächsten Abschnitt auf S. 143 diskutiert.

Abhängigkeit der Nukleationstemperatur von der Heizrate für Melanosomen

Die in dieser Arbeit ermittelten Werte für die Nukleationstemperatur an RPE-Melanosomen vom Schwein werden in Abb. 5.37 mit denen von Kelly [118] verglichen. Kelly hat die Nukleationstemperaturen an RPE-Melanosomen vom Rind analog zu Abschnitt 5.2.4 durch Messung der temperaturabhängigen Blasenbildungsschwellen für Pulsdauern im Bereich von $100fs$ bis $20ns$ ($\tau_{Laser} = 100fs, 30ps, 20ns$) gemessen. Für die Bestrahlung mit Nanosekundenpulsen findet man eine gute Übereinstimmung zwischen der von Kelly gemessenen Nukleationstemperatur und der aus dieser Arbeit. Die von Kelly ermittelten Nukleationstempe-

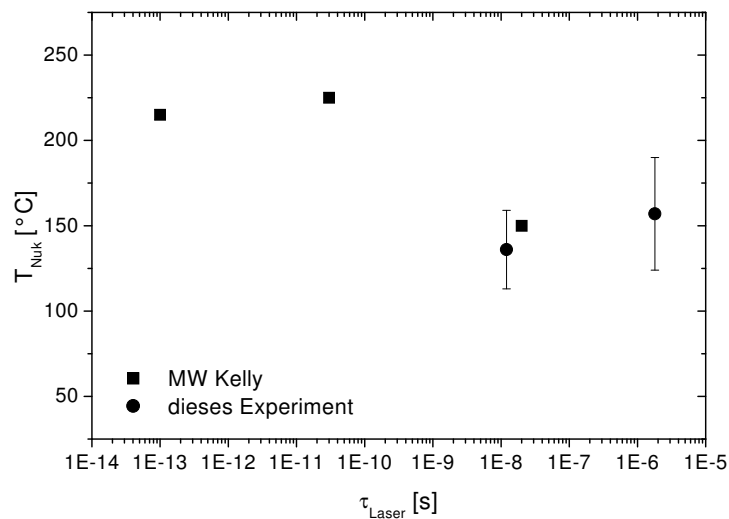


Abbildung 5.37: Nukleationstemperaturen für Melanosomen in Abhängigkeit von der Pulslänge. Zum Vergleich mit den Ergebnissen aus dieser Arbeit sind zusätzlich Messungen von Kelly [118] zur Nukleationstemperatur an Rinder-RPE-Melanosomen dargestellt.

raturen ändern sich aber beim Übergang von Nanosekunden- zu Pikosekunden-Pulsen. Eine mögliche Ursache für den Sprung der Nukleationstemperatur könnte darin liegen, daß auf einer Zeitskala von Pikosekunden- und Femtosekunden nicht mehr mit Sicherheit von der Gültigkeit der zur Extrapolation der Nukleationstemperatur benutzten Gl. 5.1 (vgl. Abschnitt 5.2.4) ausgegangen werden kann. Das eingestrahlte Licht wird von Elektronenübergängen in den Melaninmolekülen absorbiert. Bei hohen Intensitäten – wie sie bei der Bestrahlung mit Pikosekunden- und Femtosekundenpulsen vorliegen – können diese Übergänge gesättigt werden, was zu einer intensitätsabhängigen Lichtabsorption im Melanin führt [225, 169]. Dieses intensitätsabhängige Ausbleichen des Melanins kann nach Stolarski et al. bei kurzen Laserpulsen mit Spitzenintensitäten oberhalb von $1\text{GW}/\text{cm}^2$ zu einer merklichen Veränderung der gemessenen Bestrahlungsschwelle führen [225]. An der Blasenbildungsschwelle ergeben sich bei Kelly für eine Bestrahlung mit 30ps -Pulsen Intensitäten von etwa $1.6\text{GW}/\text{cm}^2$ [118], so daß die experimentell bestimmten Nukleationstemperaturen für Pulsdauern im Piko- und Femtosekundenbereich möglicherweise durch das intensitätsabhängige Ausbleichen verfälscht werden.

Die Dissipation der absorbierten Energie von den elektronisch angeregten Molekülzuständen auf die Phononen-Moden, die makroskopisch als Wärme interpretiert werden, erfolgt beim Melanin innerhalb einiger Pikosekunden [69, 169] und ist damit unter Umständen vergleichbar mit oder sogar langsamer als die applizierte Laserpulsdauer, so daß am Pulsende noch keine thermodynamisch wohldefinierte Temperatur vorliegt. Elektronen und Phononen besitzen zunächst unterschiedliche Temperaturen. Der Phasenübergang von Wasser findet nach Abschnitt 3.4.2 ebenfalls auf Zeitskalen von einigen zehn Pikosekunden statt. Diese Zeitspanne ist bei Bestrahlung mit Femtosekunden- und Pikosekunden-Laserpulsen ebenfalls länger oder vergleichbar mit der applizierten Laserpulsdauer. Zudem kann auch die klassische Wärmeleitungsgleichung 3.4 auf Zeitskalen von einigen Pikosekunden ihre Gültigkeit verlieren: Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der die Wärmeleitung vermittelnden Phononen bzw. Molekülschwingungen ist begrenzt. Dieses Phänomen wird in der klassischen Wärmeleitungstheorie nicht berücksichtigt, so daß die Wärmeausbreitung auf Zeitskalen von einigen Pikosekunden deutlich verzögert wird [115, 43]. Allerdings sollte eine endliche Thermalisierungszeit der elektronischen Anregung bzw. eine geringere Wärmeleitung nur zu einer Verzögerung der Temperaturerhöhung aber nicht zu einer Änderung der Nukleationstemperatur führen.

Außerdem findet die Bestrahlung von Melanosomen mit Pikosekunden- und Femtosekunden-Pulsen im akustischen Einschluß statt, was zu Kavitationsblasen und sogar zur Partikelfragmentation aufgrund von Zugwellen führen kann [273, 180]. Das Auftreten von akustischen Transienten sollte allerdings zu einer Verringerung der gemessenen Nukleationstemperatur führen, was experimentell nicht beobachtet wurde. Man kann deshalb annehmen, daß das intensitätsabhän-

gige Ausbleichen der Melanosomen einen stärkeren Effekt auf die Messung der Nukleationstemperatur hat als die akustischen Transienten.

Es existieren also zahlreiche Phänomene, die die Messung der Nukleationstemperatur bei Bestrahlung mit Pikosekunden- und Femtosekunden-Laserpulsen verfälschen können, so daß der Grund des von Kelly beobachteten Sprungs in der Nukleationstemperatur (Abb. 5.37) letztlich nicht mit Sicherheit bestimmt werden kann. Die wahrscheinlichste Ursache liegt im Ausbleichen der Melanosomen.

Zusammenfassend läßt sich aus dem Vergleich mit ähnlichen Experimenten erkennen, daß bei Heizedauern im Nano- und Mikrosekundenbereich auf hydrophilen, mikroskopisch glatten anorganischen Oberflächen in Übereinstimmung mit den Experimenten aus dieser Arbeit typische Nukleationstemperaturen oberhalb von 250°C gemessen werden. Für rauhe Oberflächen bzw. stark hydrophobe Oberflächen, die eine Gasanlagerung begünstigen, können die Nukleationstemperaturen darunter liegen. Für Melanosomen, die nach Abb. 5.36 relativ glatte Oberflächen besitzen, findet man unerwartet niedrige Nukleationstemperaturen von etwa 150°C.

Nukleationsmechanismen

In diesem Kapitel wurde bereits gezeigt, daß die Nukleation durch Zugwellen bei den verwendeten Laserpulsdauern äußerst unwahrscheinlich ist (vgl. S. 130). Deshalb werden an dieser Stelle nur rein thermisch induzierte Nukleationsmechanismen zur Erklärung der experimentell bestimmten Nukleationstemperaturen herangezogen.

Homogene und heterogene Nukleation

Für die in Abschnitt 3.4.3 beschriebene heterogene Nukleation, bei der die Nukleationskeime auf der geheizten Festkörperoberfläche allein aufgrund thermodynamischer Dichtefluktuationen entstehen, läßt sich die Nukleationstemperatur anhand der Temperaturabhängigkeit der Keimanzahldichte (Gl. 3.29) abschätzen: Die Blasenbildungsschwelle ist so definiert, daß bei dieser Bestrahlung mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% eine Blase nukleiert, was einer mittleren Anzahl der pro Laserpuls erzeugten kritischen Keime von $n = 0.5$ entspricht.

Für eine Abschätzung des Beitrags der homogenen Nukleation wird eine Flüssigkeitsschicht um das Partikel betrachtet, die durch die thermische Diffusionslänge $r_T = \sqrt{4\kappa_{H_2O}\tau_{Laser}}$ begrenzt wird. In diesem Volumen wurde eine homogene, für die Dauer des Laserpulses zeitlich konstante Flüssigkeitstemperatur angenommen, die der Oberflächentemperatur des Partikels entspricht. Dann wurde die Anzahl der kritischen Blasenkeime für eine homogene Nukleation, die sich während eines Laserpulses mit einer Dauer von $\tau_{Laser} = 1.8\mu s$ bilden, nach Gl. 3.26 berechnet. Es ergibt sich, daß der Erwartungswert für die Keimanzahl bei einer homogenen Nukleation im Flüssigkeitsvolumen um das Partikel erst bei einer

Temperatur von 310.3°C einen Wert von $n = 0.5$ annimmt. Aufgrund der starken Temperaturabhängigkeit der Keimbildungsrate (vgl. Abb. 3.6) ist eine homogene Nukleation für $T_{Nuk} < 310^\circ\text{C}$ sicher vernachlässigbar. Darüber hinaus zeigen molekulardynamische Simulationen des Phasenübergangs von Wasserfilmen auf geheizten Goldoberflächen, daß die Nukleation selbst bei Gold, das laut Literatur einen sehr kleinen Kontaktwinkel von etwa 0° aufweist [4], sehr nahe der Grenze zum Festkörper stattfindet [56, 57], was in der klassischen Nukleationstheorie einer heterogenen Nukleation entsprechen würde.

Vernachlässigt man nun also zur Vereinfachung der Berechnung der mittleren Anzahl der kritischen Keime den Beitrag der homogenen Nukleation und nimmt die Temperatur für die Dauer des Laserpulses als konstant an, so erhält man mit Gl. 3.29 für die heterogene Nukleation

$$0.5 = \int_0^{\tau_{Laser}} J_{het}(T_{Nuk}(R), p_0, \Theta) 4\pi R^2 dt. \quad (5.5)$$

Als Lösung dieser impliziten Gleichung ist in Abb. 5.38 die Nukleationstemperatur $T_{Nuk}(\Theta, R, \tau_{Laser})$ in Abhängigkeit vom Kontaktwinkel Θ dargestellt. Da die heterogene Keimbildungsrate sehr stark temperaturabhängig ist (Abb. 3.8), wird die Nukleationstemperatur hauptsächlich durch die erreichte Maximaltemperatur bestimmt, so daß für den in dieser Arbeit untersuchten Parameterbereich sowohl

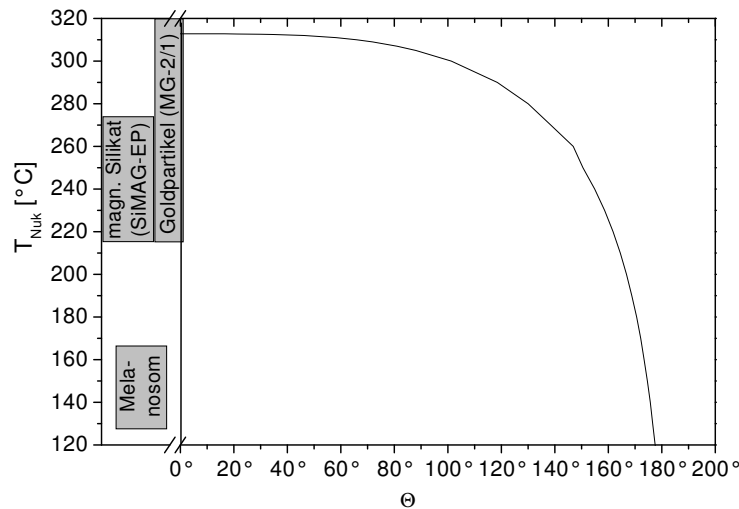


Abbildung 5.38: Nach Gl. 5.5 berechnete Nukleationstemperatur T_{Nuk} auf der Mikropartikeloberfläche als Funktion des Kontaktwinkels Θ . Zusätzlich sind die experimentell bestimmten Nukleationstemperaturen (mit Standardabweichung) aus Tab. 5.7 dargestellt. Der Partikelradius R hat nur minimale Auswirkungen auf den Verlauf der Kurve, so daß die Kurven für die verwendeten Partikelsorten, die sich geringfügig im Radius unterscheiden, annähernd zusammenfallen und deshalb in diesem Graphen nicht separat dargestellt werden.

die verwendete Partikelgröße R als auch die Laserpulsdauer τ_{Laser} bei der Berechnung eine untergeordnete Rolle spielen. Dieser Sachverhalt äußert sich darin, daß sämtliche Kurven der Nukleationstemperatur als Funktion des Kontaktwinkels für die verwendeten Laserpulsdauern und Partikelgrößen annähernd zusammenfallen. Sie wurden aus diesem Grunde in Abb. 5.38 nicht separat dargestellt.

In Abb. 5.38 sind ebenfalls die gemessenen Nukleationstemperaturen der drei verwendeten Partikelsorten mit ihrer Standardabweichung eingezeichnet. Aus diesen Nukleationstemperaturen kann man die zugehörigen Kontaktwinkel ablesen, die in Tab. 5.9 aufgelistet sind. In Tab. 5.10 sind typische Literaturwerte zu-

	T_{Nuk} [°C]	Θ [°]
Melanosomen	147 ± 20	175 ± 3
magnetische Silikatpartikel (SiMAG-EP)	244 ± 30	154_{-18}^{+10}
Goldpartikel (MG-2/1)	327 ± 112	0_{-0}^{+164}

Tabelle 5.9: Anhand von Gl. 5.5 für eine heterogene Nukleation berechnete Kontaktwinkel, bei denen die experimentell bestimmten Nukleationstemperaturen möglich werden (vgl. auch Abb. 5.38).

sammengestellt, die im Bereich von $\Theta \lesssim 100^\circ$ liegen. Die experimentell ermittelten Kontaktwinkel sind im Vergleich zu den Literaturwerten aus Tab. 5.10 sehr groß. Selbst Teflon, das ein sehr schlecht benetzbares Material ist, besitzt einen Kontaktwinkel von lediglich 108° , während bei den Melanosomen und den magnetischen Silikatpartikeln ein Kontaktwinkel von über 150° für eine heterogene Nukleation erforderlich wäre. Aus dieser Diskrepanz kann man schließen, daß ein

	Teflon	Glas	Gold
Θ	108°	$< 50^\circ$	$\approx 0^\circ$

Tabelle 5.10: Typische Literaturwerte für Kontaktwinkel bei der Benetzung mit Wasser [4]. Teflon weist eine äußerst schlechte Benetzbarkeit auf, so daß in der Praxis kaum größere Kontaktwinkel auftreten.

Phasenübergang des Wassers an der Oberfläche dieser Partikel durch heterogene Nukleation unwahrscheinlich ist. Die auf den Kurzzeitphotographien beobachteten Kontaktwinkel der Blase mit der Partikeloberfläche von $\Theta \lesssim 90^\circ$ in Abb. 5.1 und 5.2 C für Melanosomen und in Abb. 5.3 und 5.4 für magnetische Silikatpartikel widersprechen ebenfalls deutlich den in Tab. 5.9 berechneten Kontaktwinkeln. Ein durch heterogene Nukleation induzierter Phasenübergang würde nach Abb. 5.38 bei Kontaktwinkeln $\Theta \lesssim 100^\circ$ Nukleationstemperaturen oberhalb von 300°C

erwarten lassen. Für die Melanosomen und die magnetischen Silikatpartikel kann wegen der deutlich geringeren Nukleationstemperatur eine heterogene Nukleation ausgeschlossen werden. Es muß ein anderer Nukleationsmechanismus vorliegen. Die Nukleation an Goldpartikeln, die in der Nähe der Spinodalen stattfindet, ist hingegen konsistent mit der Blasenbildung durch heterogene Nukleation bei $\Theta \approx 0^\circ$ bzw. homogener Nukleation.

Inhomogene Nukleation

Ein weiterer Mechanismus, der zur Blasenbildung führen kann, ist die inhomogene Nukleation aus Abschnitt 3.4.4, bei der an der Festkörpergrenzfläche stabilisierte, gasförmige Blasenkeime durch die Temperaturerhöhung der benachbarten Flüssigkeit aktiviert werden. Eine Abschätzung, ob eine inhomogene Nukleation stattfinden kann, läßt sich mit Hilfe des Kriteriums von Hsu (Gl. 3.30) durchführen. Mit diesem Kriterium können die Radien der aktiven Keime auf der Partikeloberfläche anhand des räumlichen Temperaturverlaufs abgeschätzt werden. Für jeden Ort in der Partikelumgebung wurden die maximalen Temperaturen, die während des transienten, laserinduzierten Heizvorganges der Partikel auftreten, mit dem halbanalytischen Modell für zeitliche Rechteckpulse berechnet und in Abb. 5.39 dargestellt. Zusätzlich ist die Aktivierungstemperatur $T_e(R_e)$ für

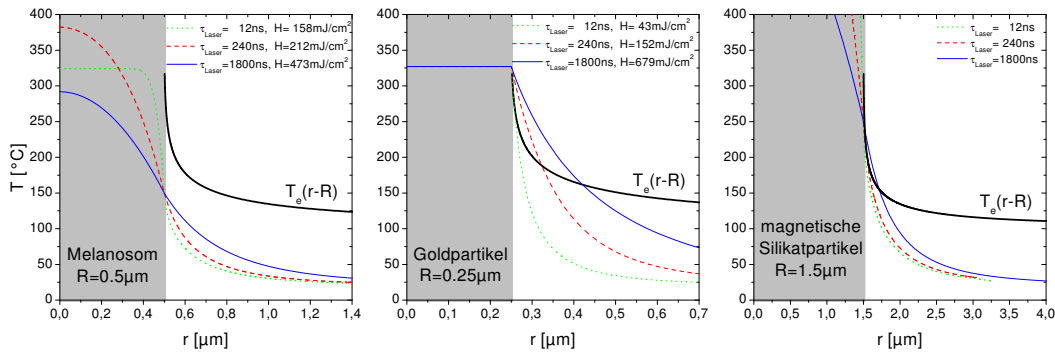


Abbildung 5.39: Kriterium von Hsu für inhomogene Nukleation angewendet auf Melanosomen, Goldpartikel (*chemicell MG-2/1*) und magnetische Silikatpartikel (*SiMAG-EP*): Vergleich der unter Zuhilfenahme der experimentellen Nukleationstemperaturen mit dem halbanalytischen Modell berechneten maximalen laserinduzierten Temperaturen $\max\{T(t, r) \mid t\}$ für verschiedene Pulslängen an der Blasenbildungsschwelle mit der Keimaktivierungstemperatur $T_e(r - R)$ für vorhandene stabilisierte Keimblasen.

halbkugelförmige Blasenkeime mit dem Radius R_e , die sich aus Gl. 3.24 ergibt, aufgetragen. Für die Keimradien R_e , für die in Abb. 5.39 die Kurve der Aktivierungstemperatur unterhalb der Kurven für die an der Blasenbildungsschwelle tatsächlich erreichten Temperaturen liegt, kann nach dem Kriterium von Hsu, die Nukleation stattfinden (vgl. Abb. 3.10). Man kann aus Abb. 5.39 entnehmen, daß

eine inhomogene Nukleation sowohl für die Goldpartikel als auch für die magnetischen Silikatpartikel stattfinden kann, während sie für die Melanosomen ausgeschlossen ist. Auf den elektrisch betriebenen Heizelementen wurden ebenso wie in Abb. 5.4 und 5.5 reproduzierbare Nukleationsorte gefunden [107, 170], die auf eine Nukleation durch stabilisierte Keimblasen hindeuten. Iida et al. beobachteten zudem, daß mit steigender Heizrate die Anzahl der aktivierten Nukleationsorte stark zunahm [107].

Sowohl bei den Goldpartikeln als auch bei den magnetischen Silikatpartikeln stellt sich die Frage nach der Herkunft der stabilisierten Blasenkeime für eine inhomogene Nukleation an der Partikeloberfläche. Aus der Darstellung des Gleichgewichtsradius $R_e(T)$ als Funktion der Temperatur in Abb. 3.5 läßt sich entnehmen, daß bei den experimentell gemessenen Nukleationstemperaturen für Gold- und magnetische Silikatpartikel, für die $T_{Nuk} \gtrsim 250^\circ$ gilt, schon submikroskopische Blasen mit Radien von weniger als $20nm$ für eine inhomogene Nukleation ausreichend sind. Unter Verwendung eines Rasterkraftmikroskops wurden mit Gas gefüllte stabilisierte Nanoblasen sowohl auf hydrophoben [243, 244] als auch auf hydrophileren Festkörperoberflächen wie Gold [99], die in Kontakt mit Wasser standen, nachgewiesen. Selbst ultraflache, mit Wasser benetzte Oberflächen, die durch ihre Glätte auf atomarer Skala die Anlagerung von Gas geometrisch keinesfalls begünstigen, konnten nicht nachhaltig von Nanoblasen befreit werden: Nach Entfernung der Blasen durch die Sonde des Rasterkraftmikroskops bildeten sich die Blasen innerhalb eines Zeitraums von wenigen Minuten neu [243]. Außerdem wurde beobachtet, daß die Nanoblasen auf einer ultraflachen Goldoberfläche verschwanden, sobald das Wasser durch Ethanol ersetzt wurde, ohne daß die Goldoberfläche in der Zwischenzeit der Umgebungsluft ausgesetzt war. Als Ursache für das Verschwinden der Nanoblasen wurde die bessere Benetzbarkeit der Oberfläche mit Ethanol vermutet. Wurde anschließend das Ethanol wieder durch Wasser ersetzt, so bildeten sich die Nanoblasen erneut [99]. Aus diesen Experimenten wurde geschlossen, daß das Gas für die Bildung der stabilisierten Nanoblasen aus dem Wasser stammt, d. h. zuvor im Wasser gelöst war. Bei der Blasen nucleation an transient erhitzten elektrisch betriebenen Mikroheizelementen hatte allerdings nach O'Horo und Andrews das Entgasen von Wasser keinen nennenswerten Einfluß auf die Blasenbildungsschwelle [170].

Neben den obigen theoretischen Überlegungen zum Ausschluß der inhomogenen Nukleation als Nukleationsmechanismus bei Melanosomen durch das Kriterium von Hsu zeigt Abb. 5.36, daß die Oberflächenrauigkeit von Melanosomen typischerweise nur in der Größenordnung von wenigen Nanometern liegt, was die Anlagerung größerer Gasmengen in Oberflächenspalten verhindern sollte. Unter Vernachlässigung des Temperaturgradienten um das Melanosom wäre in einer homogen erwärmten Flüssigkeit nach Abb. 3.5 ein initialer Blasenradius von $R_e = 250nm$ notwendig, um einen Phasenübergang bei $150^\circ C$ zu initiieren. Eine solche Blase müßte mikroskopisch sichtbar sein, wurde aber in den Experimenten nicht beobachtet.

Die Nukleationstemperatur bei inhomogener Nukleation wird oftmals mit Hilfe der Young-Laplace-Gleichung

$$p_{\text{sat}}(T_{\text{Nuk}}) = p_0 + 2\sigma/R \quad (5.6)$$

abgeschätzt [103, 193, 142]. In diesem Fall wird das gesamte Partikel als Blasenkeim betrachtet, was einem unrealistischen Kontaktwinkel von $\Theta = 180^\circ$ entspräche, der lediglich die minimal mögliche Nukleationstemperatur liefert. Diese Abschätzung ist also nicht in der Lage, eine inhomogene Nukleation realistisch zu beschreiben. Experimentelle Untersuchungen zur inhomogenen Nukleation durch statischen Unterdruck, bei der ähnliche Mechanismen wie bei der thermisch induzierten Nukleation zum Phasenübergang führen, ergeben zudem, daß die Blasenbildungsschwelle weniger von der Partikelgröße als vielmehr von deren Oberflächenbeschaffenheit abhängt [152]. Die Bestimmung der Nukleationstemperatur durch Gl. 5.6 widerspricht daher auch den experimentellen Ergebnissen.

Blasennukleation an Melanosomen

Nachdem die experimentell gefundene Nukleationstemperatur für Melanosomen weder durch heterogene noch durch inhomogene Nukleation zufriedenstellend erklärt werden kann, muß ein anderer Mechanismus für die Blasenbildung verantwortlich sein. Eine mögliche Ursache für die unerwartet niedrige Nukleationstemperatur von Melanosomen könnte auf eine begrenzte Temperaturstabilität des Melanosoms zurückzuführen sein. In Abschnitt 5.3.3 wurde gezeigt, daß eine Bestrahlung weit oberhalb der Blasenbildungsschwelle die Bildung von stabilen Blasen aus nicht-kondensierbarem Gas bewirkt. Zugleich wurde in Abb. 5.29 eine morphologische Veränderung des Melanosoms nach Bildung der stabilen Blasen unter dem Lichtmikroskop beobachtet. Nach einer Bestrahlung von Melanosomen oberhalb der Blasenbildungsschwelle mit Laserpulsdauern von 10ns fanden Glickman et al. anhand von Raster-Elektronenmikroskopischen Aufnahmen, die in Abb. 5.40 dargestellt sind, eine offensichtliche Beschädigung der Melanosomen [79]. Glickman et al. führten diese Zerstörung auf eine Verdampfung des im Melanin chemisch eingelagerten Hydratwassers zurück. Allerdings kann bei diesen Experimenten auch nicht ausgeschlossen werden, daß die Beschädigung des Melanosoms durch den Kollaps der am Partikel erzeugten Blasen verursacht wird.

Zur Temperaturstabilität von Melanosomen oder dessen Hauptbestandteil Melanin gibt es nur wenige Erkenntnisse: So erhitzen Hayes und Wolbarsht getrocknete RPE-Melanosomen vom Hund an Luft bis zu einer Temperatur von 350°C . In der anschließenden Untersuchung der Melanosomen mit einem Raster-Elektronen-Mikroskop konnten keine morphologischen Veränderungen der Melanosomen festgestellt werden [96]. An dieser Untersuchung ist aber zu bemängeln, daß aufgrund unzureichender Vergrößerung nur grobe morphologische Veränderungen hätten beobachtet werden können. Außerdem konnte mit der benutzten experimentellen Anordnung keine Freisetzung von Gas aus den Melanosomen detektiert werden. In Untersuchungen zur thermischen Stabilität von Melanin, dem

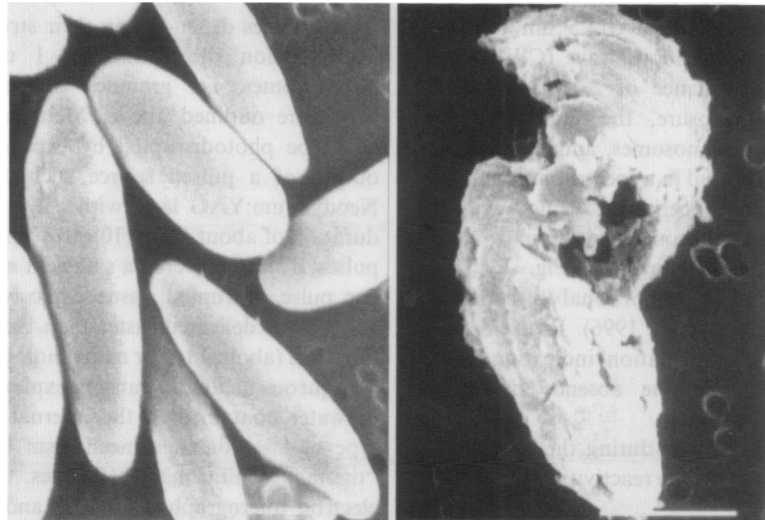


Abbildung 5.40: REM von Rinder-RPE-Melanosomen vor (linkes Bild) und nach der Bestrahlung (rechtes Bild) mit 1800 Laserpulsen ($\lambda = 532\text{nm}$) bei $H = 214\text{mJ/cm}^2$ nach Glickman et al. [79]. Die Laserpulsdauer betrug $\tau_{\text{Laser}} = 10\text{ns}$. Der Maßstab hat eine Länge von $1\mu\text{m}$. Zum Vergleich: Die in dieser Arbeit gefundene Blasenbildungsschwelle beträgt 117mJ/cm^2 (Tab. 5.4).

Hauptbestandteil von Melanosomen, wurde während eines kontinuierlichen Heizvorgangs ein Verdampfen des im Melanin chemisch gebundenen Hydratwassers bei Temperaturen von 100°C bis 130°C beobachtet [20, 35]. Bei Temperaturen von 140°C bis 150°C wurde von Piatelli und Nicolaus eine thermische Decarboxylierung von Melanin, d. h. eine chemische Abspaltung von Kohlendioxid, nachgewiesen [182].

Eine solche Freisetzung von nicht-kondensierbarem Gas könnte durch die Bereitstellung von hinreichend großen Blasenkeimen den inhomogenen Nukleationsprozeß unterstützen. Allerdings wäre an der Blasenbildungsschwelle nur eine Freisetzung von kleinen Mengen nicht-kondensierbaren Gases konsistent mit den experimentellen Ergebnissen dieser Arbeit, denn in den Transmissionsmessungen zur Blasendynamik wurde an der Blasenbildungsschwelle keine langsame Komponente während des Blasenkollapses identifiziert, die der Diffusion des nicht kondensierbaren Gases aus einer Restblase in die Flüssigkeit entspräche. Zudem würde eine thermisch induzierte Freisetzung größerer Mengen nicht-kondensierbaren Gases und anschließender Diffusion in die Flüssigkeit bei repetierender Bestrahlung mit gleicher Pulsenergie wahrscheinlich zu einem Rückgang der pro Puls freigesetzten Gasmenge und somit zu einer Erhöhung der Blasenbildungsschwelle führen. Auf der anderen Seite könnten durch die Bestrahlung erzeugte Gasblasen auch an der Oberfläche stabilisiert werden, was wiederum die Schwelle für die Blasenbildung bei repetierender Bestrahlung herabsetzen könnte. Allerdings

wurde Abb. 5.6 zufolge bei schwelennaher Bestrahlung kein Hystereseverhalten der Blasenbildungsschwelle beobachtet.

Eine laserinduzierte Beschädigung der Melanosomenmembran wie in Abb. 5.40 hätte zur Folge, daß das Melanosom oxidativen Streß in den RPE-Zellen verursachen würde [79]. Dieser Effekt würde für den Wirkmechanismus der SRT bedeuten, daß er nicht ausschließlich auf den mechanischen Folgen der Blasenbildung beruht, sondern auch eine zytotoxische Komponente beinhaltet.

Man kann die obigen Überlegungen zu den Nukleationsmechanismen dahingehend zusammenfassen, daß die Nukleation auf der Partikeloberfläche durch eine Temperaturerhöhung und nicht durch eine transiente Druckerniedrigung verursacht wird. Für die magnetischen Silikatpartikel ist eine inhomogene Nukleation, die durch submikroskopische stabilisierte Keimblasen hervorgerufen wird, am wahrscheinlichsten. Bei der Nukleation an Goldpartikeln kann neben der inhomogenen Nukleation auch eine heterogene und möglicherweise sogar auch eine homogene Nukleation stattfinden. Die Nukleation an Melanosomen läßt sich nicht durch die klassische Nukleationstheorie erklären. Möglicherweise begünstigen in diesem Fall thermisch induzierte chemische Reaktionen im Melanosom, bei denen Gas freigesetzt wird, die Nukleation.

5.4.3 Qualitatives Blasenmodell

In diesem Abschnitt werden die experimentellen Beobachtungen zur Blasendynamik an Mikropartikeln aus Abschnitt 5.3 im Rahmen eines qualitativen Blasenmodells interpretiert. Zunächst wird die Blasendynamik unter energetischen Gesichtspunkten betrachtet. Anschließend soll darauf eingegangen werden, inwiefern eine thermoelastische Druckentstehung die Blasendynamik beeinflussen könnte. Da sich die Blasendynamik infolge der Bestrahlung mit Pulsdauern von $12ns$ nach Abschnitt 5.3.2 qualitativ von der Blasendynamik bei längeren Laserpulsen unterscheidet, wird sie im Laufe dieses Abschnitts separat behandelt.

Umwandlung von Wärmeenergie in Blasenenergie

Berechnet man die während des Laserpulses in den Partikeln deponierte Wärmeenergie, erhält man Werte in der Größenordnung von $1kJ/cm^3$ bis $10kJ/cm^3$. Es ist allerdings zu beachten, daß nur ein geringer Teil der im Partikel deponierten Wärmeenergie in mechanische Energie der Blase umgewandelt wird. Die mechanische Energie kann nach Gl. 3.35 durch die von der Blase während ihrer Expansion verrichtete Volumenarbeit abgeschätzt werden. Abb. 5.41 zeigt das Verhältnis von mechanischer Energie der Blase zur vom Partikel absorbierten Energie bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von $\tau_{Laser} = 12ns$. Es ergeben sich Wirkungsgrade für die Umwandlung von thermischer Energie in mechanische Blasenenergie von maximal einigen Prozenten. Glod et al. haben an transi-

ent geheizten dünnen Drähten für Blasenradien in der Größenordnung von $10\mu\text{m}$ ebenfalls Energieumwandlungseffizienzen von wenigen Prozenten ermittelt [80]. Da bei längeren Laserpulsdauern Blasenoszillationen auftreten, setzt sich in diesen Fällen die mechanische Energie aus der Summe der Energie der Einzelblasen zusammen, was an dieser Stelle nicht dargestellt wird.

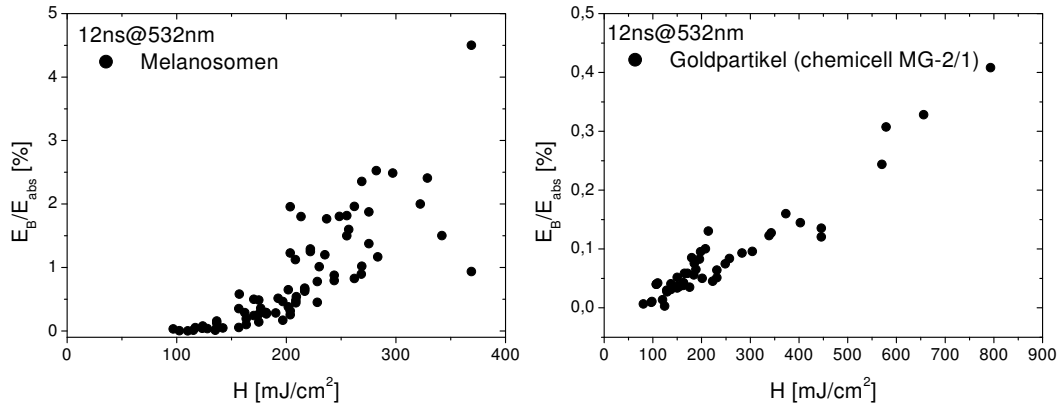


Abbildung 5.41: Anteil der mechanischen Energie der laserinduzierten Blase $E_B \approx \frac{4}{3}p_0(R_{B,max}^3 - R^3)$ (Gl. 3.35) an der absorbierten Bestrahlungsenergie $E_{abs} = Q_{abs}\pi R^2 H$ für Melanosomen (links) und Goldpartikel (rechts) bei Laserpulsdauern von $\tau_{Laser} = 12\text{ns}$. Man erkennt, daß die Energiekonversion von Wärme zur mechanischen Energie von der Bestrahlung abhängt.

Beeinflussung der Blasendynamik durch thermoelastische Druckwellen

Wie schon aus Abb. 5.35 des vorigen Abschnitts ersichtlich wird, sind die bei typischer Laserbestrahlung erreichten thermoelastischen Druckamplituden weitgehend vernachlässigbar gegenüber dem statischen Umgebungsdruck. Einzige Ausnahme bildet die Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von 12ns . In diesem Fall könnten bei Bestrahlungen oberhalb der Blasenbildungsschwellen Druckamplituden von einigen *bar* entstehen. Die Drücke lassen sich aufgrund der Unsicherheit in den thermoelastischen Eigenschaften von Melanin nicht exakt berechnen.

Nach Abb. 5.35 ergibt sich bei den Goldpartikeln für eine Bestrahlung mit $1\text{J}/\text{cm}^2$, die nach Tab. 5.4 etwa zehnfach oberhalb der Blasenbildungsschwelle liegt, rechnerisch eine maximale Zugamplitude von -2bar an der Partikeloberfläche. Die um die Goldpartikel entstehenden thermoelastischen Druckamplituden sind deshalb im Hinblick auf die Blasendynamik mit Sicherheit vernachlässigbar. In Abb. 5.25 steigt die Blasenlebensdauer bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von 12ns sowohl für die Goldpartikel als auch für die Melanosomen linear mit der applizierten Bestrahlung an. Da für Melanosomen kein qualitativer Unterschied

zur Blasendynamik um Goldpartikeln beobachtet wurde, ist es naheliegend, daß thermoelastische Druckeffekte auch für die Blasendynamik um Melanosomen eine untergeordnete Rolle spielen.

Ein weiteres Argument, das gegen den Einfluß der bipolaren Druckwelle auf die Blasendynamik spricht, ist die kurze Dauer des Zuganteils der Druckwelle bei der Bestrahlung mit Nanosekundenpulsen. Da die resultierende thermoelastische Welle für eine Bestrahlung außerhalb des akustischen Einschlusses der Ableitung des Laserpulses folgt (vgl. Abschnitt 3.3 bzw. Abb. 5.35), dauert ihr Zuganteil bei der Bestrahlung mit $12ns$ Pulsen nach Abb. 5.35 nur wenige Nanosekunden an. Die durch diese Zugwelle verursachte Beschleunigungsphase während der Blasenexpansion ist deshalb im Vergleich zur Blasenlebensdauer nur von sehr kurzer Dauer.

Der Einfluß der thermoelastischen bipolaren Druckwellen auf die Blasendynamik kann also in der weiteren Diskussion vernachlässigt werden.

Blasendynamik bei Bestrahlung mit Pulsdauern von 240ns und $1.8\mu s$

Es handelt sich bei der Blasenbildung an den Mikropartikeln um einen Siedevorgang auf mikroskopischer Skala, der in einer Umgebung mit räumlich inhomogener, zeitabhängiger Temperaturverteilung, die von dem erwärmten Mikropartikel erzeugt wird, stattfindet. Experimentell wurde anhand von Abb. 5.20 festgestellt, daß die während des Siedevorgangs entstehenden Blasen eine zeitlich symmetrische Dynamik besitzen, d. h. die Blasenexpansionsdauer und die Blasen-kollapszeit sind gleich. Zudem entspricht der Zusammenhang zwischen Blasenlebensdauer und Blasengröße der Rayleigh-Dynamik (Abb. 5.24), was auf eine trägheitsbegrenzte Blasendynamik schließen läßt. Trägheitseffekte sind bei der Blasenexpansion in stark überhitzten Wasser dominant [167]. Dieser Sachverhalt korrespondiert zu den gemessenen Nukleationstemperaturen in Tab. 5.7, die weit oberhalb der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur $T_{sat} = 100^\circ C$ von Wasser bei Normaldruck lagen.

Da die Flüssigkeit in der Umgebung der Blase beim trägheitsbegrenzten Blasenwachstum zu dem Zeitpunkt, an dem die Blase nach Gl. 3.24 ihren Gleichgewichtsradius mit $p_{ve} = p_0 + 2\sigma/R_e$ erreicht hat, noch kinetische Energie besitzt, expandiert die Blase über ihren Gleichgewichtsradius hinaus [254]. Dieses Wachstum über die Gleichgewichtsbedingung hinaus hat zur Folge, daß die Blase in die kältere Flüssigkeitsumgebung wächst. Einen solchen Siedevorgang an einer Festkörperoberfläche in einem Flüssigkeitsreservoir, bei dem die (mittlere) Temperatur des Flüssigkeitsreservoirs unterhalb der Verdampfungstemperatur liegt und die heizende Oberfläche eine Flüssigkeitsverdampfung an der Festkörpergrenzfläche bewirkt, nennt man unterkühltes Sieden [41]. Der Blasen-kollaps in der kälteren Umgebung erfolgt den Experimenten der vorliegenden Arbeit zufolge wieder nach trägheitsbegrenzter Blasendynamik (kavitationsartiger Blasen-kollaps). Daher gilt insgesamt die Rayleigh-Beziehung zwischen Blasenlebensdauer

und Blasendurchmesser aus Gl. 3.37. Das Partikel in der Blasenmitte scheint diesen Zusammenhang nicht nennenswert zu beeinflussen. Gunther beobachtete bei unterkühlten Siedevorgängen in Wasser, dessen mittlere Temperatur 30-70°C betrug, eine ebenfalls zeitlich symmetrische Blasendynamik [87]. Die Blasen besaßen einen maximalen Radius von mehreren hundert Mikrometern. Die Dauer der Blasenschwingung entspricht jedoch bei Gunther eher der deutlich langsameren wärmediffusionsbegrenzten Blasendynamik, so daß in diesen Experimenten [87] die Rayleigh-Beziehung nicht erfüllt war.

Für ein tieferes qualitatives Verständnis der Blasendynamik müssen auch die Phasenübergangsprozesse an der Blasengrenzfläche mit einbezogen werden. Der Phasenübergang wird in den Blasen-Modellen von Nigmatulin aus Abschnitt 3.5.2 und Pustovalov aus Abschnitt 3.5.3 beschrieben. Es ist zu beachten, daß der Phasenübergang nicht im thermodynamischen Gleichgewicht erfolgt, da die Temperaturen an der Blasengrenzfläche sich bei trägheitsbegrenzter Blasendynamik im allgemeinen von der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur von Wasser unterscheiden. Schon die Nukleation findet nach Tab. 5.7 oberhalb der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur bei Normaldruck statt. Nach der Nukleation, wächst die Blase durch Verdampfung des überhitzten Wassers an der Blasengrenzfläche. Durch die Verdampfung an der Blasengrenzfläche wird Masse aus der umgebenden Flüssigkeit ins Blaseninnere transportiert, so daß die Blase aufgrund der damit einhergehenden Druckerhöhung weiter expandieren kann. Durch den Massetransport in die Blase wird die Druckminderung aufgrund der mit der Blasenexpansion einhergehenden Volumenvergrößerung vollständig oder teilweise kompensiert. Wie in Abschnitt 3.5.1 gezeigt wurde, wird bei trägheitsbegrenzter Blasendynamik die Blasenexpansion hauptsächlich durch den Blaseninnendruck vorangetrieben.

Ist die Blase auf eine solche Größe angewachsen, daß sie das Partikel vollständig umgibt, isoliert der in der Blase enthaltene Wasserdampf das Partikel thermisch. Trotz der größeren Wärmediffusivität des Wasserdampfes im Vergleich zu flüssigem Wasser kann wegen seiner geringen volumetrischen Wärmekapazität (Abb. A.3) nur ein geringer Anteil der im Partikel vorhandenen Wärme aus diesem abfließen [189]. Die absolute Wärmemenge, die in die Blase transportiert wird, ist aufgrund der geringen volumetrischen Wärmekapazität des Wasserdampfes gegenüber dem latenten Wärmefluß an der Blasengrenzfläche vernachlässigbar klein [189]. Aus diesem Grunde trägt die Wärme im Partikel, dessen Temperatur aufgrund der möglicherweise noch andauernden Laserbestrahlung, weiter erhöht werden kann, kaum zum Blasenwachstum bei. Wegen dieser thermischen Entkopplung des Blasenwachstums von der Partikeltemperatur kann der Blase, nachdem sie das Partikel vollständig umgibt, kaum noch zusätzliche Energie durch die Laserbestrahlung zugeführt werden. Bei energetischer Betrachtung bezieht deshalb die Blase die Energie für ihr Wachstum hauptsächlich aus der Verdampfung des Wassers an der äußeren Blasengrenzfläche. Da in der wäßrigen Umgebung der Blase nur eine begrenzte Wärmemenge zur Verfügung steht, handelt sich

beim Blasenwachstum um erhitzte Partikel also um ein sich selbst begrenzendes System [142]. (Die Blasendynamik bei Laserpulsdauern von $12ns$ wird in einem separaten Abschnitt diskutiert.)

Das weitere Blasenwachstum nach der thermischen Entkopplung vom Partikel wird hauptsächlich durch die Temperatur an der äußeren Phasengrenzfläche, den Dampfdruck in der Blase und den Energie- und Massetransport zwischen den Phasen bestimmt. Die Temperaturverteilung in der Umgebung der Blase (thermische Randschicht) wird während des Blasenwachstums den Modellen von Nigmatulin (Abschnitt 3.5.2) und Pustovalov (Abschnitt 3.5.3) zufolge dadurch beeinflusst, daß durch die Verdampfung an der Phasengrenzfläche dem Wasser der thermischen Randschicht Wärmeenergie in Form von latenter Wärme entzogen wird. Zusätzlich findet im Wasser um die Blase herum eine Temperaturerniedrigung aufgrund von Wärmediffusion in die Umgebung statt. Durch die Blasenexpansion wird auch die umgebende Flüssigkeit radial nach außen bewegt. Dieser konvektive Wärmetransport in radialer Richtung bewirkt zusätzlich eine Ausdünnung der thermischen Randschicht, so daß sich irgendwann die Richtung des Massetransports an der Blasengrenzfläche von Verdampfung zu Kondensation umkehrt. Die Kondensation an der Phasengrenzfläche und die Expansion der Blase bewirken eine Abnahme des Drucks innerhalb der Blase. Aufgrund der kinetischen Energie des Wassers in der Blasenumgebung schwingt die Blase bei trägheitsbegrenzter Blasendynamik noch über ihren Gleichgewichtsradius und kollabiert dann wieder.

Die Abhängigkeit der maximalen Blasengröße von der Dicke der thermischen Randschicht läßt sich experimentell dadurch nachweisen, daß an der Blasenbildungsschwelle bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von $1.8\mu s$ größere Blasen beobachtet werden als bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von $240ns$ (Abb. 5.25). Da die Nukleationstemperatur bei Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle erst gegen Ende des Laserpulses erreicht wird, bildet sich bei konstanter Nukleationstemperatur für kürzere Pulse wegen der kürzeren Heizzeiten eine dünnere thermische Randschicht um das Partikel aus. Dieser Sachverhalt läßt sich auch aus den radialen Temperaturverläufen in Abb. 5.42 entnehmen. Wenn die Temperatur in der Partikelumgebung jedoch schneller abfällt bzw. weniger Wärmeenergie in der thermischen Randschicht der Blase gespeichert ist, wird die Phase des Blasenwachstums in der überhitzten Flüssigkeit kürzer, so daß an der Blasenbildungsschwelle bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von $240ns$ kleinere Blasen als bei Pulsdauern von $1.8\mu s$ beobachtet werden (Abb. 5.25).

Der Einfluß der thermischen Randschicht auf die Blasengröße läßt sich auch gut studieren, indem man die Blasengröße mit dem Nukleationszeitpunkt bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von $1.8\mu s$ korreliert. In Abb. 5.26 erkennt man, daß sowohl für die Melanosomen als auch für die Goldpartikel die Lebensdauer der jeweils ersten Blase innerhalb einer Blasenoszillationssequenz sinkt, wenn die Nukleation früher während des Bestrahlungspulses stattfindet. Die Erklärung für diese Beobachtung ist, daß bei konstanter Nukleationstemperatur ein frühe-

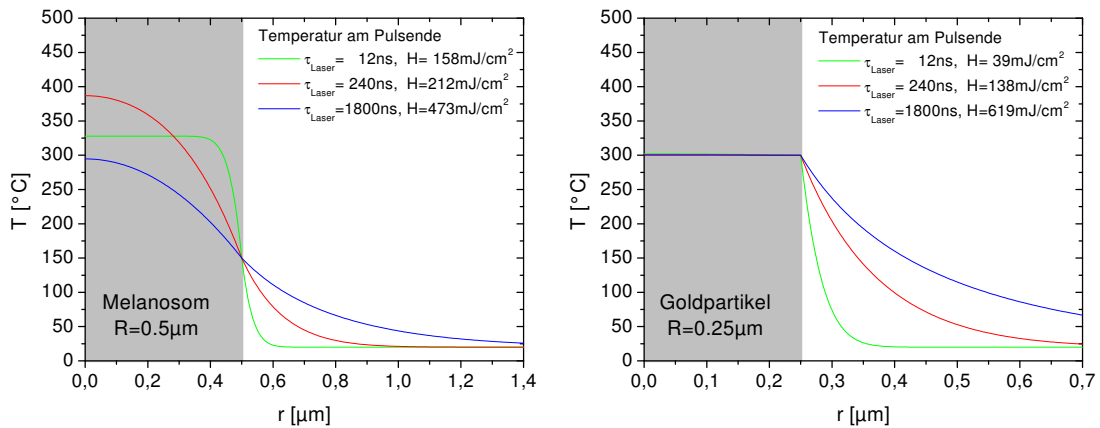


Abbildung 5.42: Berechneter radialer Temperaturverlauf um Melanosomen (links) und Goldpartikel chemicell MG-2/1 (rechts) bei Erreichen der experimentell bestimmten Nukleationstemperatur am Pulsende eines Rechteckpulses. Die Temperaturverteilungen sind für Laserpulsdauern von 12ns, 240ns und 1.8µs dargestellt. Je kürzer die applizierte Pulsdauer ist, desto dünner ist die durch Wärmediffusion entstandene thermische Randschicht um das Partikel und desto kleiner ist die resultierende Blase bei Bestrahlung mit Pulsdauern von 240ns und 1.8µs (vgl. Abb. 5.25). Die Bestrahlung mit 12ns Pulsen wird auf S. 154 gesondert diskutiert.

rer Nukleationszeitpunkt eine kürzere Heizzeit bis zur Blasenbildung bedeutet. Deshalb diffundiert auch weniger Wärme in die wässrige Umgebung, was wiederum zu einer dünneren thermischen Randschicht um das Partikel führt. Dieser Sachverhalt ist in Abb. 5.43 veranschaulicht und führt zu dem zunächst paradox erscheinenden Phänomen, daß in Abb. 5.26 mit zunehmender Bestrahlung die Lebensdauer der ersten Blase innerhalb einer Oszillationssequenz sinkt.

Zusammenfassend kann man festhalten, daß neben der Partikelgröße selbst hauptsächlich die Nukleationstemperatur und der (instationäre) Temperaturgradient um das Partikel die Blasengröße bestimmen. Während die Nukleationstemperatur nur wenig von der Heizdauer abhängt, wird der Temperaturgradient um das Partikel stark von der Heizdauer beeinflusst und hat daher in den Experimenten den größten Einfluß auf die Blasendynamik.

Sequenzen von Blasenoszillationen bei der Bestrahlung mit Laserpulsdauern von 240ns und 1.8µs

Dauert der Laserpuls länger als die durch Nukleationstemperatur und thermische Randschicht vorgegebene Blasenlebensdauer an, so wurde nach dem Kollaps der ersten Blase nach einer gewissen Wartezeit ein erneutes Aufschwingen einer Blase beobachtet. Diese mehrfachen Blasenoszillationen wurden Abb. 5.17 bis 5.19 zufolge sowohl für die Bestrahlung von Melanosomen als auch von Goldpartikeln mit

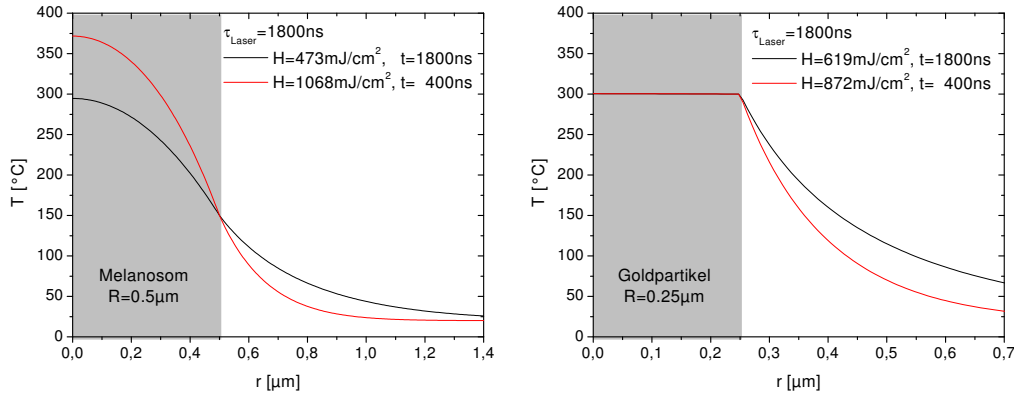


Abbildung 5.43: Berechneter radialer Temperaturverlauf um Melanosomen (links) und Goldpartikel chemicell MG-2/1 (rechts) bei Erreichen der experimentell bestimmten Nukleationstemperatur zu verschiedenen Zeitpunkten (400ns und $1.8\mu\text{s}$) während des Laserpulses, der eine Dauer von $1.8\mu\text{s}$ besitzt. Je höher die applizierte Bestrahlung ist, desto früher wird die Nukleationstemperatur während des Pulses erreicht und desto dünner ist die thermische Randschicht und desto kleiner ist die resultierende Blase (vgl. Abb. 5.26).

Pulsdauern von 240 ns und $1.8\mu\text{s}$ beobachtet. Die Wartezeit zwischen zwei Blasen verringert sich bei steigender Bestrahlung. Sie sinkt bei Pulsdauern von $1.8\mu\text{s}$ von einigen 100 ns auf Werte von weniger als 10 ns (z. B. Abb. 5.17 rechts, 5.18, 5.27). Letzteres Zeitintervall ist mit den Transmissionsmessungen nicht mehr zuverlässig auflösbar. Innerhalb einer Blasenoszillationssequenz lassen sich nach Abb. 5.18 keine eindeutigen Parameterabhängigkeiten für die Blasenlebensdauern ermitteln. Nur bei Goldpartikeln, für die eine mehrfach oberhalb der Blasenbildungsschwelle liegende Bestrahlung (Abb. 5.27) ohne stabile Blasenbildung möglich ist, läßt sich erkennen, daß die Blasenlebensdauer innerhalb einer Oszillationssequenz wegen der Aufheizung der wässrigen Umgebung im Verlauf des Laserpulses ansteigt und gegen Ende des Laserpulses bei niedrigerer Laserintensität wieder abnimmt.

Die beobachteten Blasenoszillationen lassen sich qualitativermaßen folgendermaßen erklären: Während der thermischen Isolation durch die Blase wird das Partikel durch den noch andauernden Laserpuls stark erhitzt, da nur ein vernachlässigbar geringer Anteil der Wärme in die Blase diffundieren kann und den in ihr enthaltenen Wasserdampf erwärmt. In der Endphase des Blasenkollapses gerät das im Laufe der Blasenexpansion und -kontraktion abgekühlte Wasser der Blasenrenzfläche mit dem erhitzten Partikel in Kontakt, so daß ein Wärmeausgleich stattfinden kann. Ist die Wärmeenergie im Partikel ausreichend, um das Wasser auf die Nukleationstemperatur zu erhitzen, kann ohne nennenswerte Wartezeit die Blase erneut aufschwingen, was beispielsweise in Abb. 5.27 beobachtet werden kann. Ist die Wärmeenergie für eine instantane Nukleation nicht ausreichend, so

muß das Partikel weiter durch die noch andauernde Laserstrahlung aufgeheizt werden, um die Nukleationstemperatur nach einer gewissen Zeit erneut zu erreichen. Dieser Vorgang ist in Abb. 5.18 zu sehen. Die während der thermischen Isolationsphase in den Partikeln akkumulierte Wärme reicht bei den in dieser Arbeit verwendeten Laserparametern nicht aus, um nach Ende des Pulses noch weitere Blasenzyklen auszulösen. Dieses wird beispielsweise in Abb. 5.27 anhand vierfach überschwelliger Bestrahlung demonstriert.

Für eine quantitative Analyse der Wärmetransportphänomene muß berücksichtigt werden, daß die Blasenexpansion nicht nur von der Wärmeleitung, sondern auch von dem Strahlungstransport durch die Blase, die das Partikel umgibt, beeinflusst wird. Da der Wasserdampf innerhalb der Blase einen niedrigeren Brechungsindex ($n = 1.0$) als das umliegende Wasser ($n = 1.3$) aufweist, wirkt die Blase als Zerstreulinse, so daß die Bestrahlung, die das Partikel erreicht, durch die Blasenbildung erniedrigt wird. Eine mit Hilfe der geometrischen Optik berechnete einfache Abschätzung zum Strahlungstransport in der Blase befindet sich in Anhang A.4. Die Wärmetransportvorgänge während einer mehrfachen Blasenoszillation sind in Abb. 5.44 dargestellt. Da die Abschätzung des Strahlungstransports in der Blase mit einiger Unsicherheit behaftet ist und in die Rechnung einige willkürliche Annahmen hinsichtlich der Blasenlebensdauer und der Phasengrenzflächentemperatur zum Zeitpunkt des Blasenkollapses einfließen, kann diese Graphik nur ein qualitatives Bild der Wärmetransportvorgänge liefern. Sie veranschaulicht aber das Zustandekommen der Wartezeiten zwischen den Blasenoszillationen.

Bei Metallkugeln mit Durchmessern von einigen Millimetern, die nach einer Erhitzung auf mehrere hundert Grad Celsius in einen Wasserbehälter gegeben wurden, beobachteten Stevens und Witte ebenfalls Blasenoszillationen auf der Kugeloberfläche [223, 224]. Ebenso wie in einigen Experimenten aus Abschnitt 5.2.1 umgeben die Blasen das Partikel nicht vollständig. Da die Partikelabkühlung durch Siedevorgänge an der Kugeloberfläche ($\propto R^2$) erfolgt und die in der Kugel gespeicherte Wärmemenge vom Volumen ($\propto R^3$) abhängt, halten die Blasenoszillationen an großen Metallkugeln wegen des günstigeren Oberflächen zu Volumenverhältnisses deutlich länger an als bei den Mikropartikeln.

Vergleichbare oszillierende Dampfblasen, die eine zeitlich symmetrische, trägheitsbegrenzte Blasendynamik aufweisen, wurden – allerdings mit Blasendurchmessern von einigen Zentimetern – auch bei Experimenten zur Untersuchung von Dampfexplosionen in industriellen Produktionsabläufen beobachtet [23, Abb. 7]. In diesen Experimenten wurden Tropfen einer Eisenoxidschmelze mit Massen im Bereich von 0.05g bis 5g in Wasser gegeben. Es bildete sich zunächst ein stationärer Dampf Film um die Schmelze (inverses Leidenfrost-Phänomen [94]). Infolge einer Instabilität dieses Dampf Films, die spontan auftreten kann oder durch eine Druckwelle induziert wird, kommt das flüssige Wasser in Kontakt mit der Schmelze, was die eigentliche Dampfexplosion auslöst. Im Verlauf dieser Dampfexplosion treten die oben erwähnten oszillierenden Blasen auf. Bei deren Kollaps

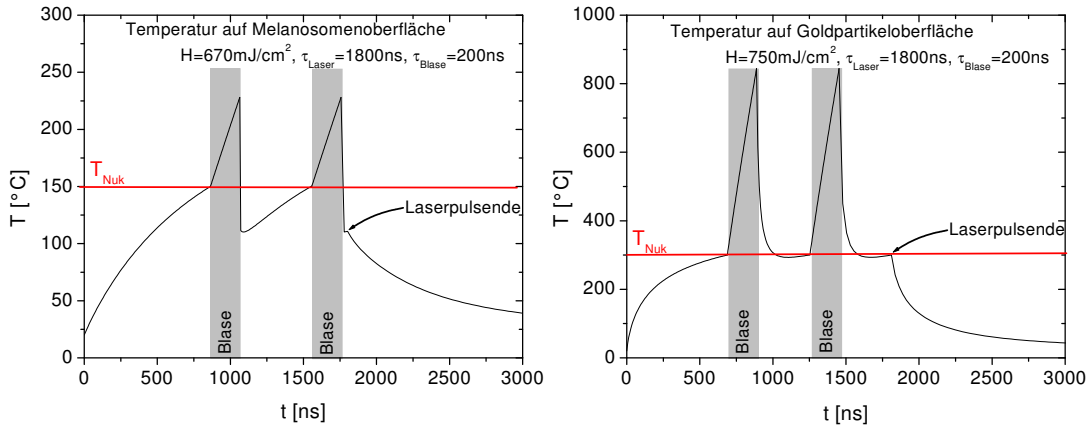


Abbildung 5.44: Numerische Simulation von Wärmetransportvorgängen an Partikeln (links: Melanosom, rechts: Goldpartikel chemicell MG-2/1) unter Einbeziehung der Blasenbildung bei einer Bestrahlung durch zeitliche Rechteckpulse mit einer Dauer von $1.8\mu\text{s}$. Für die Rechnung wurde willkürlich eine Blasenlebensdauer von 200ns gewählt. Der Strahlungstransport in der Blase wurde mit Hilfe der geometrischen Optik nach Anhang A.4 abgeschätzt. Es ergab sich durch den Einfluß der Blase eine Bestrahlungsabschwächung um einen Faktor von $(n_{\text{Dampf}}/n_{\text{H}_2\text{O}})^2 = 9/16$. Der Wärmetransport wurde mit Hilfe der halbanalytischen Lösung der Wärmeleitungsgleichung aus Abschnitt 3.2.1 modelliert. Bei Vorhandensein einer Blase wurde in der Simulation der Wärmeabfluß in die Umgebung aufgrund von Wärmeleitung vernachlässigt. Es wurde angenommen, daß beim Blasenkollaps Wasser mit Umgebungstemperatur auf das stark aufgeheizte Partikel trifft. Die Rechnungen illustrieren die Ursache der Wartezeiten zwischen aufeinanderfolgenden Blasenoszillationen.

wird allerdings die flüssige Schmelze fragmentiert, was aufgrund der damit einhergehenden Oberflächenvergrößerung zu einer Beschleunigung des Wärmetransports führt. Durch die Fragmentation der Schmelze und den damit verbundenen experimentellen Variationen in der Dynamik der Dampfexplosion ist ihr Verlauf wenig reproduzierbar und kann deshalb nicht quantitativ mit der Blasenbildung um Mikropartikel verglichen werden.

Zusammenfassend läßt sich das Auftreten von aufeinanderfolgenden Blasenoszillationen bei Laserpulsdauern von 240ns und $1.8\mu\text{s}$ dadurch erklären, daß die durch die Nukleationstemperatur und die Dicke der thermischen Randschicht vorgegebene Blasenlebensdauer kürzer ist als die Laserpulsdauer. Das Partikel kann also nach dem ersten Blasenkollaps weiter aufgeheizt werden, was zum Aufschwingen einer weiteren Blase führen kann.

Blasendynamik bei Bestrahlung mit Laserpulsdauern von 12ns

Die Blasendynamik infolge einer Bestrahlung mit Laserpulsdauern von 12ns unterscheidet sich insofern qualitativ von der Blasendynamik bei längeren Laserpulsen, als daß bei Nanosekunden-Pulsen die Blasengröße nach Abb. 5.25 mit steigender Bestrahlung zunimmt. Dieses Phänomen wurde bei Bestrahlungspulsdauern von 30ps und 20ns auch schon von Kelly dokumentiert, aber nicht systematisch untersucht [118, 143, 142]. Bei längeren Laserpulsen (240ns und 1.8µs) tritt mit der zuvor beschriebenen thermischen Entkopplung der Partikeltemperatur von der Blasendynamik während des Laserpulses ein selbstregelnder Mechanismus auf, der eine weitere nennenswerte Energiezufuhr in die Blase unterbindet und deshalb zu Blasenoszillationen führt. Bei einer Pulsdauer von 12ns tritt die Entkopplung wahrscheinlich gegen Ende des Laserpulses oder zumindest nach Erreichen der Nukleationstemperatur verzögert auf, wodurch die Bestrahlungsabhängigkeit der Blasengröße erhalten bleibt.

Die experimentell gemessene, über einen Zeitraum von etwa 50ns gemittelte Blasenanzugsgeschwindigkeit ist für Melanosomen in Abb. 5.31 dargestellt. Die bei einer Bestrahlung von 180mJ/cm^2 (1.5fache Blasenbildungsschwelle) beobachtete Geschwindigkeit von $(12 \pm 5)\text{m/s}$ entspricht der Blasenexpansionsgeschwindigkeit, die Abb. 3.11 zufolge asymptotisch für eine Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} \approx 150^\circ\text{C}$ (Tab. 5.7) bei trägheitsbegrenztem Blasenwachstum in überhitztem Wasser erwartet wird. Die beobachtete Zunahme der Blasenanzugsgeschwindigkeiten bei höheren Bestrahlungen aus Abb. 5.31 kann nach Abb. 3.11 auf eine entsprechende Erhöhung der Nukleationstemperatur schließen lassen. Diese Schlußfolgerung ist jedoch angesichts der in dieser Arbeit beobachteten Unabhängigkeit der Nukleationstemperatur von der Laserpulsdauer (Tab. 5.7) wohl verfehlt. Wahrscheinlicher ist ein Zusammenhang zwischen Blasengröße, Verteilung der Nukleationskeime und Wärmeleitung in die Partikelumgebung:

Es kann aus Abb. 5.32 entnommen werden, daß bei 1.4fach überschwelliger Bestrahlung die Blasen zunächst an mehreren Orten auf der Melanosomenoberfläche nukleieren und anschließend zu einer einzigen Blase zusammenwachsen, die dann das gesamte Partikel umgibt. Bei einer Blasenausdehnungsgeschwindigkeit von etwa $10\text{m/s} = 10\text{nm/ns}$, die für Melanosomen bei geringfügig überschwelliger Bestrahlung gemessen wurde, könnte es möglich sein, daß die wenigen aktivierten Nukleationskeime während des Laserpulses noch nicht auf eine solche Größe anwachsen, daß sie das gesamte Melanosom umgeben und somit vollständig thermisch isolieren. In Experimenten zum Optical Limiting (s. Abschnitt 2.2.1) durch absorbierende Graphit-Nanopartikel ($\varnothing \approx 10\text{nm}$) wurde bei Bestrahlungspulsdauern von 30ps eine Antwortzeit des Systems für Transmissionsänderungen im Bereich von mehreren hundert Pikosekunden gemessen [59]. Die Ursache der Abhängigkeit der Blasengröße von der Bestrahlung kann somit in einer solchen Verzögerung der thermischen Entkopplung der Flüssigkeit vom Partikel durch die endliche Blasenausdehnungsgeschwindigkeit liegen: In der Zeit, die die Blase zum

Aufschwingen benötigt, findet die thermische Entkopplung des Partikels von der umliegenden Flüssigkeit statt. Während dieser für die thermische Entkopplung benötigten Zeitspanne kann noch weiter Wärme vom Partikel in das benachbarte Wasser transferiert werden und in der thermischen Randschicht der Blase für das weitere Blasenwachstum zur Verfügung stehen. Zugleich steigt mit zunehmender Temperatur auch die Anzahl der aktivierten Keime auf der Partikeloberfläche, was mit der Beobachtung korrespondieren könnte, daß bei stark überschwelliger Bestrahlung in Abb. 5.30 wenige Nanosekunden nach der Nukleation nur noch ein gleichmäßiger Gasfilm um das gesamte Partikel beobachtet werden kann. Die maximale in Abb. 5.31 beobachtete Blasenausdehnungsgeschwindigkeit von $(85 \pm 5)m/s$ kommt der für trägheitsbegrenztes Blasenwachstum rechnerisch erwarteten Ausbreitungsgeschwindigkeit von $95m/s$ an der spinodalen Temperatur $T_{sp} = 309^\circ C$ in Abb. 3.11 sehr nahe. Allerdings könnte bei diesen Bestrahlungen, die etwa siebenfach oberhalb der Blasenbildungsschwelle liegen, auch die Produktion von nicht kondensierbarem Gas aufgrund thermischer Desintegration der Melanosomen die Blasenexpansionsgeschwindigkeit beeinflussen. Im Hinblick auf die thermische Entkopplung der Blasendynamik von der Partikeltemperatur ist zu beachten, daß prinzipiell auch Wärme vom Partikel in den Wasserdampf, der sich innerhalb der Blase befindet, transportiert wird. Insbesondere könnte man vermuten, daß durch das Gas, das zum Zeitpunkt der Nukleation noch eine hohe Dichte aufweist, eine mit der Flüssigkeit vergleichbare Wärmemenge transportiert werden könnte. Betrachtet man zur Abschätzung jedoch in Abb. A.3 des Anhangs den Verlauf der volumetrischen Wärmekapazität und der Wärmediffusivität von flüssigem und gasförmigen Wasser an der Sättigungslinie, so fällt auf, daß sich die volumetrische Wärmekapazität von Wasserdampf erst sehr nahe am kritischen Punkt an die Werte des flüssigen Wassers annähert. Deshalb ist bei Nukleationstemperaturen unterhalb des kritischen Punktes ($T_{Nuk} \lesssim T_{sp}$) die vom Partikel in die Blase transportierte Wärmemenge deutlich geringer als die zuvor vom Partikel direkt ins umliegende Wasser transportierte Wärmemenge, die in Form der thermischen Randschicht für das Blasenwachstum zur Verfügung steht.

Für die verwendete Pulsdauer von $12ns$ läßt sich also bei den Melanosomen anhand der Experimente die Ursache für die Zunahme der Blasengröße bei steigender Bestrahlung nicht eindeutig klären. Der plausibelste Grund liegt in der endlichen Blasenausdehnungsgeschwindigkeit. Dadurch wird für die thermische Entkopplung eine gewisse Zeitspanne benötigt, in der noch weiter Wärme aus dem Partikel in die flüssige Umgebung gelangen kann, so daß der Blase zusätzliche Energie zugeführt wird.

Für die Goldpartikel, bei denen eine Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = (327 \pm 112)^\circ C$ ermittelt wurde, würde man bei trägheitsbegrenztem Blasenwachstum nach Abb. 3.11 eine Blasenexpansionsgeschwindigkeit im Bereich von $40nm/ns$ bis $100nm/ns$ erwarten, was zu einer schnelleren thermischen Entkopplung der Blase vom Partikel als bei den Melanosomen führen sollte. Für Goldpartikel würde man also nach diesen qualitativen Überlegungen im Vergleich zu den Mela-

nosomen aufgrund der schnelleren thermischen Entkopplung einen langsameren Anstieg der Blasengröße bei steigender Bestrahlung erwarten. Da allerdings die Blasendynamik an den Goldpartikeln und den Melanosomen außer von der Bestrahlung auch von der Partikelgröße abhängt, ist kein direkter Vergleich der experimentellen Ergebnisse in Abb. 5.25 untereinander zur Überprüfung dieser Hypothese möglich.

Experimente anderer Autoren zeigen z. T. eine geringere mittlere Blasenanzugsgeschwindigkeit als nach Abb. 3.11 theoretisch für das trägheitsbegrenzte Blasenwachstum vorhergesagt. Zwar wurde von O'Horo et al. an elektrischen Mikroheizelementen für Tintenstrahldrucker analog zu Abb. 5.30 zunächst ebenfalls eine konstante Blasenausdehnungsgeschwindigkeit bei der Blasenexpansion gemessen [171]. Doch für eine berechnete Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = (272 \pm 41)^\circ\text{C}$ erhielt man bei einer Blasenlebensdauer von $\tau_{Blase} \approx 6.5\mu\text{s}$ während eines Zeitraums von $0.5\mu\text{s}$ nach der Nukleation eine konstante Blasenanzugsgeschwindigkeit von nur 24m/s [171]. Beim Steam-Laser-Cleaning wurde bis zum Blasenmaximum mit einem interferometrischen Verfahren, das Veränderungen der optischen Weglänge im Wasserfilm auf der zu reinigenden Oberfläche mißt, eine konstante Blasenausdehnungsgeschwindigkeit von etwa 1m/s gemessen [119]. Im Gegensatz dazu haben Lang et al. ebenfalls beim Steam-Laser-Cleaning experimentell typische Ablösegeschwindigkeiten des Flüssigkeitsfilms aus Isopropanol von der Wafer-Oberfläche im Bereich von 50m/s bis 100m/s ermittelt [130].

Ein erneutes Aufschwingen einer Blase nach Laserpulsende wurde bei einer Bestrahlungsdauer von 12ns nur sehr vereinzelt wie beispielsweise in Abb. 5.17 ($H = 237\text{mJ/cm}^2$) beobachtet. Die wiederaufschwingende Blase war deutlich kleiner als die vorhergehende Blase. Das Wiederaufschwingen hat wahrscheinlich andere Ursachen als bei längeren Pulsdauern und ähnelt eher dem Wiederaufschwingen kollabierender Kavitationsblasen. Bei laserinduzierten Kavitationsblasen mit Durchmessern von einigen hundert Mikrometern, die durch einen optischen Durchbruch [62] oder durch lokalisierte Absorption in wäßrigen Suspensionen von Graphit-Nanopartikeln [154, 155] oder Kohlenstoff-Nanoröhren [248] hervorgerufen wurden, beobachtet man ebenfalls ein Wiederaufschwingen der Blasen nach dem Kollaps. Dabei nimmt man an, daß während des ersten Blasenzyklus kleine Mengen an nicht-kondensierbarem Gas aus der Flüssigkeit oder durch thermo-chemische Reaktionen der Absorber [156] in die Blase gelangen. Beim trägheitsbegrenzten Kollaps der Blase wird das Gas in der Blase weit über den Gleichgewichtszustand hinaus komprimiert, so daß der darauf folgende Expansionsprozeß des komprimierten Gases ein erneutes Aufschwingen der Blase bewirkt [62, 6]. Diese ist aufgrund von Energiedissipation während der Blasendynamik, die vor allem von der Schallabstrahlung beim Kollaps herrührt [62], kleiner als die vorherige Blase.

Es ist als Ursache für das erneute Aufschwingen einer Dampfblase nach dem Laserpuls auch nicht ausgeschlossen, daß das Partikel so stark aufgeheizt wurde, daß es beim Blasen-kollaps noch eine hinreichend hohe Temperatur besitzt, um

einen weiteren Blasenzyklus auszulösen. Dieser Effekt kann hervorgerufen werden, wenn das Partikel während der thermischen Isolationsphase noch weit über die Nukleationstemperatur aufgeheizt wird.

Zusammenfassend kann bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von $12ns$ im Vergleich zur Bestrahlung mit längeren Pulsdauern ($240ns$, $1.8\mu s$) nur eine Verzögerung der thermischen Entkopplung des Partikels von der wässrigen Umgebung durch die Blasenbildung nach Erreichen der Nukleationstemperatur für die Abhängigkeit der maximalen Blasengröße von der Bestrahlung verantwortlich sein. Aufgrund des zusätzlichen Energietransports in die umliegende Flüssigkeit wird eine größere maximale Blausausdehnung und eine zunehmende initiale Blausausdehnungsgeschwindigkeit erreicht. Ursache hierfür ist wahrscheinlich die begrenzte Blausexpansionsgeschwindigkeit bei der Nukleation aufgrund der Massenträgheit der umgebenden Flüssigkeit, die eine sofortige thermische Isolation des Partikels nach Erreichen der Nukleationstemperatur verhindert. Eine Beeinflussung der Blausdynamik durch thermoelastische Drucktransienten ist nach den Abschätzungen auf S. 146 unwahrscheinlich.

Bedingungen für das Auftreten von mehrfachen Blausoszillationen

Es wurde experimentell beobachtet, daß sowohl für die Goldpartikel als auch für die Melanosomen bei Bestrahlungsdauern von $240ns$ und $1.8\mu s$ Blausoszillationen auftraten, aber nicht bei Bestrahlung mit Pulsdauern von $12ns$. Zur Erklärung dieses Unterschiedes wird im folgenden analysiert, bei welchen Laserpulsdauern und Partikelgrößen Blausoszillationen zu erwarten sind.

In Abb. 5.45 sind die thermische und die akustische Einschlußzeit (Gl. 3.8 und 3.20) von Partikeln mit dem Radius R aufgetragen. Für Anwendungen der selektiven Photothermolyse, für die thermische oder thermomechanische Effekte nur in der unmittelbaren Umgebung des Partikels erwünscht sind, sollte die applizierte Pulsdauer im Bereich des thermischen Einschlusses liegen, um eine thermische Schädigung des umliegenden Gewebes zu vermeiden. Zugleich sollte das Auftreten von starken akustischen Transienten verhindert werden, so daß die Bestrahlung außerhalb des akustischen Einschlusses stattfinden muß. Für spezielle Verfahren, bei denen eine laserinduzierte Blausbildung um Partikel stattfindet wie beispielsweise bei der Selektiven Retina-Therapie (SRT), der Nanopartikel-Zellchirurgie und dem Optical Limiting sind in Abb. 5.45 die typischerweise verwendeten Partikelgrößen und Laserpulsdauern zusätzlich dargestellt.

Möchte man wissen, unter welchen Bedingungen Blausoszillationen zu erwarten sind, muß man die Blauslebensdauer infolge der Bestrahlung mit der applizierten Laserpulsdauer und der Abkühlzeit des Partikels in Beziehung setzen. Letztere stimmt wegen der Siedevorgänge auf der Partikeloberfläche nicht zwangsläufig mit der thermischen Einschlußzeit überein, die nur die Wärmeleitung ohne Phasenübergänge berücksichtigt. Nur wenn nach dem ersten Blauskollaps noch eine genügend hohe Temperatur im Partikel herrscht, kann eine

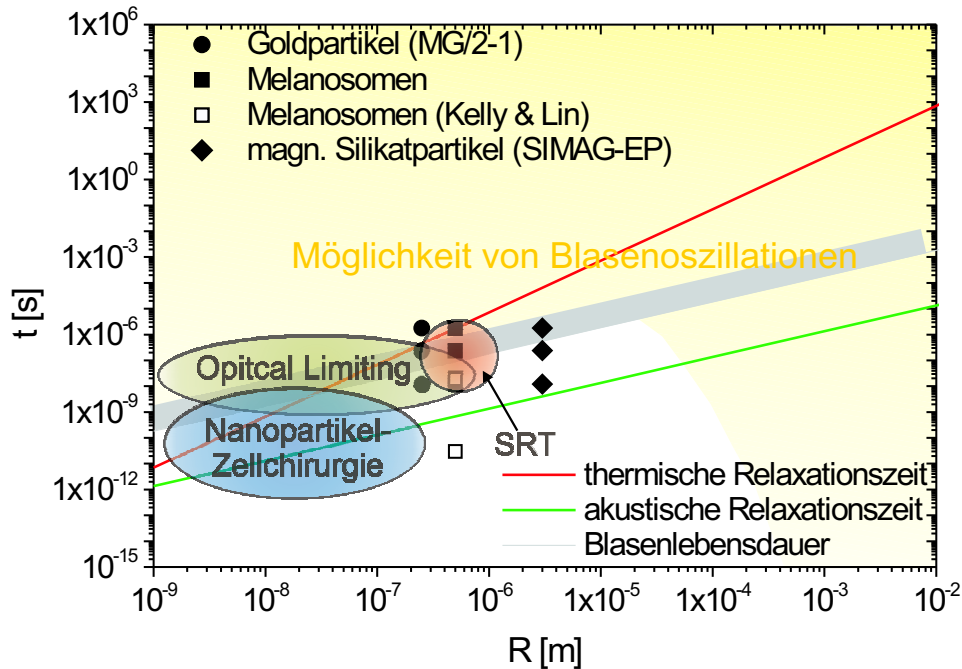


Abbildung 5.45: Analyse der Möglichkeit von mehrfachen Blasenoszillationen anhand eines Vergleichs zwischen Blasenlebensdauer und thermischer Relaxationszeit bei verschiedenen Partikelgrößen. Die Blasenlebensdauer wird anhand der Partikelgröße mit der Rayleigh-Beziehung aus Gl. 3.37 abgeschätzt. Dafür wird angenommen, daß die Blasengröße zwischen der einfachen und der zehnfachen Partikelgröße liegt (grauer Balken). Die akustischen und thermischen Einschlußzeiten sind in Abhängigkeit vom Partikelradius dargestellt. Wenn die Heizdauer (Laserpulsdauer) für das Partikel größer als die Blasenlebensdauer ist, können daraus mehrfache Blasenoszillationen während des Laserpulses resultieren. Ebenso können Blasenoszillationen auftreten, wenn die Abkühlzeit des Partikels, deren Größenordnung hier durch die thermische Einschlußzeit abgeschätzt wird, deutlich länger ist als die Blasenlebensdauer. Letzteres ist bei Partikelradien in der Größenordnung von etwa hundert Mikrometern und größer der Fall. Der Bereich, in dem die Möglichkeit für mehrfache Blasenoszillationen gegeben ist, ist gelb eingefärbt. Zusätzlich sind im Graphen die in dieser Arbeit verwendeten Partikelgrößen und Laserpulsauern eingetragen. Die für die SRT, das Optical Limiting und die Nanopartikel-Zellchirurgie benutzten Partikelgrößen und Laserpulsauern sind ebenfalls dargestellt.

zweite Blase aufschwingen. Eine hinreichend hohe Temperatur nach der ersten Blase kann durch einen Laserpuls, der länger als die Blasenlebensdauer andauert (z. B. Abb. 5.18), oder durch genügend große Partikel, bei denen das Verhältnis von gespeicherter Wärme ($\propto R^3$) zum Wärmeabfluß an der Partikeloberfläche ($\propto R^2$) günstiger wird, erreicht werden.

Die Abkühlungsprozesse des Partikels und die Blasenlebensdauer lassen sich allerdings aufgrund der komplizierten Vorgänge bei der Blasendynamik, in die nichtlineare Differentialgleichungen involviert sind [185, 167, 189], nur experimentell oder mit Hilfe aufwendiger Modelle (vgl. Abschnitt 3.5.3) bestimmen. Für die Analyse der Möglichkeit von mehrfachen Blasenoszillationen wird daher in Abb. 5.45 die Größenordnung der charakteristischen Abkühlzeit der Partikel nicht exakt bestimmt, sondern über die thermische Einschlußzeit abgeschätzt. Die Blasengröße infolge der Laserbestrahlung kann anhand der Partikelgröße abgeschätzt werden. Aufgrund der experimentellen Beobachtungen in dieser Arbeit (Abb. 5.25) wurde eine Blasengröße, die zwischen der einfachen und der zehnfachen Partikelgröße liegt, angenommen. Einzig bei fehlender thermischer Entkopplung der Blase vom Laserpuls, wie sie bei der Bestrahlung von Melanosomen mit Pulsdauern von einigen Nanosekunden und weniger beobachtet wurde, können sich bei stark überschwelliger Bestrahlung größere Blasen bilden. Ansonsten tritt mit der thermischen Entkopplung der Blase von der Partikeltemperatur ein die Blasengröße begrenzender Mechanismus auf. Im nächsten Schritt wurde dann aus der Blasengröße die entsprechende Blasenlebensdauer mit Hilfe der Rayleigh-Beziehung (Gl. 3.37) berechnet. Diese wird dann in Abb. 5.45 mit der thermischen Relaxationszeit der Partikel verglichen, um die Möglichkeit des Auftretens von Blasenoszillationen zu analysieren.

Der Bereich, in dem Blasenoszillationen auftreten sollten, liegt bei Laserpulsdauern oberhalb der Kurve für die Blasenlebensdauer in Abb. 5.45, da in diesem Fall die Heizzeit durch den Laser länger ist als die erwartete Blasenlebensdauer. Zusätzlich kann es – unabhängig von der applizierten Laserpulsdauer – bei Partikelradien oberhalb einer Größenordnung von etwa hundert Mikrometern zu Blasenoszillationen kommen, weil dann die Abkühlzeit der Partikel ($\propto R^2$) deutlich länger ist als die Blasenlebensdauer ($\propto R$). Da die Abkühlzeiten bei den Goldpartikeln und Melanosomen, die in dieser Arbeit verwendet wurden (vgl. Tab. 4.1), nach näherungsweise Abb. 5.45 in derselben Größenordnung wie die Blasenlebensdauer lagen, traten nur dann Blasenoszillationen auf, wenn die Blasenlebensdauer kürzer als der Laserpuls war. Bei Metallkugeln mit Radien von einigen Millimetern finden hingegen wegen der langen Abkühlzeiten auch einige Sekunden nach dem Aufheizvorgang noch Blasenoszillationen auf der Partikeloberfläche statt [223, 224].

Bildung stabiler Blasen nach Bestrahlung von Melanosomen

Bei mehrfach überschweiliger Bestrahlung von Melanosomen erhält man für alle in dieser Arbeit verwendeten Laserpulsdauern stabile Blasen, die nicht-kondensierbares Gas enthalten (vgl. Abschnitt 5.3.3). Diese kollabieren erst auf einer Zeitskala von mehreren Sekunden. Außerdem beobachtet man oftmals eine Formveränderung der Melanosomen nach der Bestrahlung, die mit einer Erhöhung der Blasenbildungsschwelle einhergeht. Stabile Blasen infolge stark überschweiliger Bestrahlung von Melanosomen wurden bereits von Kelly und Lin beobachtet [143].

Sowohl die Formveränderung der Melanosomen als auch die Erhöhung der Blasenbildungsschwelle bei erneuter Bestrahlung lassen eine thermische Beschädigung des Melanosoms vermuten. Beim Erhitzen von Melanin entsteht nach Abschnitt 5.4.2 unter anderem CO_2 . Ein solches nicht-kondensierbares Gas kann sich nur langsam in der Flüssigkeit lösen. Während der thermischen Isolation, bei der das Melanosom vollständig von einer Blase umgeben ist, können nach Abb. 5.44 besonders hohe Partikeltemperaturen erreicht werden, die eine thermische Desintegration des Melanosoms begünstigen.

In bestimmten Fällen kann eine Bildung stabiler Blasen auch durch gerichtete Diffusion in oszillierenden Blasen erfolgen [46], bei der in der Flüssigkeit gelöstes Gas in die Blase gelangt. Da allerdings bei der Bestrahlung von Goldpartikeln und magnetischen Silikatpartikeln trotz Blasenoszillationen keine stabilen Blasen beobachtet wurden, ist eine gerichtete Diffusion von Gas aus der Flüssigkeit in die Blase als Ursache der stabilen Blase auszuschließen. Zudem wurde beim optischen Durchbruch in Wasser beobachtet, daß die Restblasen, die durch gerichtete Diffusion entstehen, etwa nur 1/10 des ursprünglichen Blasendurchmessers betragen [255, 191], so daß stabile Blasen um die Melanosomen, die sich aufgrund gerichteter Diffusion bilden, deutlich kleiner als die experimentell beobachteten Blasen sein müßten.

5.4.4 Modellierung der Blasenbildung um lasererhitzte Mikropartikel

Zur Modellierung der Blasendynamik müssen die zugrunde liegenden hydrodynamischen und thermodynamischen Vorgänge in Form eines komplexen Systems partieller Differentialgleichungen beschrieben und mit Hilfe mathematisch aufwendiger numerischer Verfahren gelöst werden, was im Rahmen dieser Arbeit aus Zeitgründen nicht möglich war. Allerdings könnte die in dieser Arbeit erstmals systematisch untersuchte Blasendynamik um lasererhitzte Mikropartikel dazu dienen, vorhandene oder noch zu entwickelnde Blasenmodelle zu verifizieren, um dann mit diesen Blasenmodellen eine Vorhersage der Blasengröße als Funktion der Bestrahlungsparameter zu erhalten. Während die Blasendynamik um Mikropartikel noch mit optischen Methoden wie der Kurzzeit-Mikrophotographie gut

zugänglich ist, läßt sich die Blasendynamik bei der Nanopartikel-Zellchirurgie nicht mehr mit Hilfe lichtmikroskopischer Verfahren beobachten. Für diesen Fall wäre ein Blasenmodell zur Abschätzung der Schadensradien äußerst hilfreich. Um jedoch die Eignung der Modelle beurteilen zu können, müssen diese mit den experimentellen Beobachtungen zur laserinduzierten Blasenbildung um Mikropartikel verglichen werden. Aus diesem Grunde sollen die wenigen vorhandenen Modelle zur Beschreibung der Blasendynamik um lasererhitzte Partikel aus Abschnitt 3.5.3 auf ihre prinzipielle Konsistenz mit den Ergebnissen dieser Arbeit diskutiert werden.

Modell von Gerstman et al.

In das Modell von Gerstman et al. [75] fließen eine Vielzahl von falschen und willkürlichen Annahmen, die in Abschnitt 3.5.3 näher erläutert wurden, ein. Deshalb sind bei Verwendung von den in dieser Arbeit gemessenen Parametern wie Nukleationstemperatur und Absorptionseffizienz von Melanosomen keine zufriedenstellenden Ergebnisse des Modells hinsichtlich der maximalen Blasengröße zu erwarten. So geht Gerstman von einem Dampfdruck innerhalb der Blase zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung von $p_v(R_{B,max}) = 0.1 MPa$ aus, was der experimentell beobachteten trägheitsbegrenzten Blasendynamik widerspricht. Diese geht mit einem Überschwingen der Blase einher, so daß bei maximaler Blasenausdehnung im Widerspruch zu Gerstmans Modell in der Blase ein deutlich niedrigerer Druck als in der Umgebung herrscht [254]. Weitere Vergleichspunkte mit Experimenten, z. B. mit der Blasengröße, sind an dieser Stelle nicht sinnvoll, weil die Blasengröße in dem Modell von Gerstman et. al. sehr sensitiv vom Blaseninnendruck abhängt, der eigentlich nur mit Hilfe einer vollständigen Modellierung der hydro- und thermodynamischen Vorgänge unter Einbeziehung des Nichtgleichgewichts-Phasenübergangs ermittelt werden kann, was aber weit über das Gerstman-Modell hinausgeht.

Modell von Pustovalov

Das Modell von Pustovalov, das in Abschnitt 3.5.3 beschrieben wurde, berücksichtigt in einem mathematisch äußerst aufwendigen System aus partiellen Differentialgleichungen die meisten der in den Abschnitten 5.4.3 und 5.4.2 erwähnten Phänomene wie diffusiven und konvektiven Wärmetransport in nicht-homogenen Temperaturfeldern. Zudem wird die Nicht-Gleichgewichtsverdampfung an der Phasengrenzfläche berücksichtigt.

Da ein Computercode für dieses Modell nicht zur Verfügung stand, kann ein quantitativer Vergleich mit den Experimenten nur anhand der in der Veröffentlichung [189] durchgeführten Beispielrechnung erfolgen: Für einen zeitlichen Rechteckpuls mit einer Dauer von $10 ns$ wurde die Blasenbildung für einen kugelförmigen Absorber (Melanosom) mit einem Radius von $R = 0.5 \mu m$ berechnet. Das Pro-

dukt aus Laserintensität und Absorptionseffizienz betrug $IQ_{abs} = 1.775 \cdot 10^7 \frac{W}{cm^2}$. Im Modell wurde eine Nukleation an der Spinodalen bei einer Temperatur von $T_{Sp} = 305^\circ C$ angenommen, was nicht mit der experimentell bestimmten Nukleationstemperatur für Melanosomen von $T_{Nuk} = (147 \pm 20)^\circ C$ aus Tab. 5.2 übereinstimmt. Die Nukleation findet im Modell immer nach Pulsende statt, was den experimentellen Beobachtungen einer Nukleation während des Pulses in Abb. 5.16 widerspricht. Im Modell wird unter Berücksichtigung der Massen- und Energieerhaltung ein schlagartiges Zerfallen des Wasservolumens, das nach dem Laserpuls aufgrund von Wärmediffusion aus dem Partikel eine Temperatur oberhalb der Spinodalen besitzt, in die gasförmige und flüssige Phase angenommen (spinodale Dekomposition, vgl. Abschnitt 3.4.2).

Qualitativ zeigt sich im Modell eine zeitlich symmetrische Blasendynamik, wie sie in der vorliegenden Arbeit in Abb. 5.20 experimentell beobachtet wurde. In der Beispielrechnung von Pustovalov erhält man einen maximalen Blasendurchmesser von $d_{Blase} = 2\mu m$ und eine Blasenlebensdauer von $\tau_{Blase} = 150ns$. Im Gegensatz zu den Experimenten (Abb. 5.24) ist also in diesem Modell die Rayleigh-Beziehung (Gl. 3.37), die den Zusammenhang von Blasenlebensdauer und Blasengröße bei trägheitsbegrenzter Blasendynamik asymptotisch beschreibt, nicht streng erfüllt. Die initiale Blasenexpansionsgeschwindigkeit in der Beispielrechnung liegt bei $\dot{R}_B = 15 \frac{m}{s}$. Der minimale Dampfdruck im Blaseninneren beträgt $p_v = 0.06MPa$. Benutzt man die in der vorliegenden Arbeit experimentell bestimmte Absorptionseffizienz für Melanosomen von $Q_{abs} = 0.46$ aus Tab. 5.5, so erhält man für die von Pustovalov angegebenen Werte eine Bestrahlung von $H = IQ_{abs}\tau_{laser}/Q_{abs} = 390 \frac{mJ}{cm^2}$. Für diese Bestrahlungswerte ergeben sich in den Experimenten für einen gaußförmigen Puls mit einer Dauer von $\tau_{Laser} = 12ns$ Blasen mit Durchmessern von etwa $d_{Blase} = 10\mu m$ (vgl. Abb. 5.25). Selbst an der oberen Fehlergrenze der experimentell bestimmten Absorptionseffizienz von $Q_{abs} = 0.7$, die sich aus Tab. 5.5 ergibt, erhält man eine Bestrahlung von $H = IQ_{abs}\tau_{laser}/Q_{abs} = 254 \frac{mJ}{cm^2}$, bei der nach Abb. 5.25 noch Blasen mit Durchmessern von etwa $d_{Blase} = 5\mu m$ gemessen wurden. Das Modell von Pustovalov sagt also im Vergleich zu den Experimenten aus dieser Arbeit zu kleine Blasendurchmesser vorher.

Die Abweichung könnte partiell darin begründet sein, daß die Nukleationstemperatur im Pustovalov-Modell an der Spinodalen liegt, was nicht mit der für Melanosomen experimentell bestimmten Nukleationstemperatur von $T_{Nuk} = (147 \pm 20)^\circ C$ übereinstimmt. Außerdem findet im Modell die Nukleation immer nach dem Laserpuls und nicht wie experimentell beobachtet während des Laserpulses statt (Abb. 5.16). Diese beiden Unterschiede zwischen Modell und Experiment müßten aber eher zu einer Überschätzung der Blasengröße im Modell führen, da bei höherer Nukleationstemperatur und fehlender thermischer Entkopplung der Blase vom Partikel mehr Wärme in die Flüssigkeit transportiert werden kann, die dann in der thermischen Randschicht für das Blasenwachstum zur Verfügung steht. Bei der Modellierung berücksichtigt Pustovalov allerdings

nicht die Temperaturabhängigkeit der thermischen Eigenschaften von Wasser. Während sich die volumetrische Wärmekapazität und die Wärmediffusivität von flüssigem Wasser nach Abb. A.1 kaum verändert, nimmt die Oberflächenspannung mit steigender Temperatur stark ab (Abb. A.4), was im Modell prinzipiell zu größeren Blasen führen sollte. Auch die latente Verdampfungswärme h_{fg} von Wasser nimmt mit steigender Temperatur ab [141], so daß bei einer Berücksichtigung der Temperaturabhängigkeit der latenten Wärme weniger volumetrische Energie für die Verdampfung benötigt werden würde und mehr für die Blasenexpansion zur Verfügung stünde. Eine Modellierung der Temperaturabhängigkeit sollte somit zu einem größeren verdampften Volumen und damit zu größeren Blasen führen. Der Phasenübergang im thermodynamischen Ungleichgewicht wird gegenüber der von Schrage hergeleiteten Kinetik [213, 41] mit einigen Vereinfachungen modelliert, so daß auch hier Fehler hinsichtlich der berechneten Verdampfungs- bzw. Kondensationsrate an der äußeren Blasengrenzfläche entstehen könnten. Die Blasendynamik wird möglicherweise auch durch die elliptische Form der Melanosomen beeinflusst. Die Freisetzung von nicht-kondensierbarem Gas kann ebenfalls die Blasendynamik verändern und führt bei mehrfach überschwelliger Bestrahlung sogar zur Bildung von stabilen Blasen.

Zusammenfassend müßte für eine bessere Anpassung des Modells an die Realität die Nukleation während des Laserpulses bei einer je nach Partikeloberfläche frei wählbaren Nukleationstemperatur modelliert werden können. Im nächsten Schritt sollte die Temperaturabhängigkeit der Materialeigenschaften berücksichtigt werden. Ein solches Blasenmodell wird zur Zeit von Belousova et al. zur Simulation des Optical Limiting Effektes (vgl. Abschnitt 2.2.1) entwickelt [22, 21]. Zusätzlich müßte noch das Problem des Strahlungstransports von Licht innerhalb der Blase, die das Partikel umgibt, gelöst werden, um die Blasenoszillationen modellieren zu können. Hierfür müßte die Mie-Theorie auf zwei ineinander geschachtelte Sphären als Modell für ein Partikel in der Blase angewandt werden. Eine numerische Lösung für ein solches Problem findet sich zum Beispiel bei Schuh [215].

LATIS-Modell

LATIS ist ein am Lawrence Livermore National Laboratory entwickelter Computer Code zur Modellierung der Wirkung von Laserstrahlung auf Gewebe (LAsER TISSue). Dieser Code wird wegen des zugrunde liegenden Rechenaufwands auf Supercomputern und Workstations implementiert [148]. Der nicht frei verfügbare Code modelliert den Photonentransport mit der Monte-Carlo-Methode. Die absorbierte Energie wird an die hydrodynamischen Kontinuitätsgleichungen für Masse, Energie und Impuls gekoppelt. Den modellierten Zustandsphasen können elastische Eigenschaften, die einer Gewebematrix nahekommen, zugeordnet werden. Der Phasenübergang von Wasser wird mit der Zustandsgleichung von Haar [90] modelliert [11]. Die Oberflächenspannung an der Phasengrenzfläche wird bei

LATIS nicht berücksichtigt [228]. Mit Hilfe dieses Modells wurde die Entstehung und Ausbreitung von akustischen Transienten um Melanosomen [229] bzw. Graphit-Nanopartikeln in wässriger Suspension untersucht [97]. Im Rahmen der letztgenannten Untersuchungen wurde für die Bestrahlung mit Pikosekundenpulsen auch die Blasendynamik um die Graphitpartikel für Partikeldurchmesser im Bereich von $10nm$ bis $100nm$ untersucht. Aufgrund der unterschiedlichen Partikelgrößen und -eigenschaften können diese Modellrechnungen nicht mit der Blasenbildung um die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Partikel verglichen werden.

Insgesamt ist zur Modellierung der laserinduzierten Blasenbildung um Mikropartikel mit LATIS zu bemerken, daß mit der implementierten Zustandsgleichung von Haar [90] bis jetzt keine metastabilen Zustände des Wassers modelliert werden, sondern alle Phasenübergänge im thermodynamischen Gleichgewicht ablaufen [97, 11, 228]. Metastabile Zustände treten jedoch den Experimenten der vorliegenden Arbeit zufolge auf, denn die Nukleationstemperatur liegt bei allen verwendeten Partikelsorten weit oberhalb der Gleichgewichtsverdampfungstemperatur von Wasser. Zusätzlich wird der Einfluß der Oberflächenspannung oder einer Gewebematrix auf die Blasendynamik zur Zeit noch nicht berücksichtigt [228]. Es läßt sich somit a priori nicht sagen, wie gut trotz dieser Mängel die modellierte Blasendynamik mit der experimentell beobachteten übereinstimmt.

Kapitel 6

Blasenbildung im retinalen Pigmentepithel

Nachdem im vorigen Kapitel die Blasendynamik um isolierte Mikropartikel untersucht wurde, soll in diesem Kapitel näher auf die laserinduzierte Blasenbildung während der Selektiven Retina-Therapie (SRT) eingegangen werden. Bei der Bestrahlung des retinalen Pigmentepithels (RPE) liegen keine isolierten Melanosomen mehr vor, sondern vielmehr eine dicht pigmentierte monozelluläre Schicht (vgl. Abb.4.1), so daß die Blasen, die um einzelne Melanosomen entstehen, miteinander verschmelzen können.

Kurzzeitphotographische Untersuchungen der Blasendynamik an RPE-Explantaten in Transmission erweisen sich insofern als nicht durchführbar, als daß diese RPE-Präparate aufgrund ihrer Pigmentierung stark absorbieren und zudem noch die stark lichtstreuende Sclera und Aderhaut enthalten (vgl. Abschnitt 4.3.1). Deshalb wird in Abschnitt 6.1 die Blasenbildung zunächst nur an pigmentierten RPE-Zellfragmenten mittels Kurzzeitphotographie studiert, um dann in Abschnitt 6.2 mit Hilfe von Druckmessungen und einem interferometrischen Verfahren die Blasendynamik an RPE-Explantaten zu untersuchen. Die in Abschnitt 6.3 durch Vitalitäts-Assays nachgewiesene laserinduzierte Zellschädigung wird mit den gemessenen interferometrischen und akustischen Signalen korreliert, damit auf diese Weise in Abschnitt 6.4 die prinzipielle Eignung dieser Verfahren für eine Dosimetrie bei der SRT evaluiert werden kann.

6.1 Blasendynamik an RPE-Zellfragmenten

Da wegen der ungenügenden Lichttransmission von RPE-Explantaten eine kurzzeitphotographische Untersuchung der laserinduzierten Blasenbildung im RPE nicht möglich war, wurde zunächst auf Zellfragmente zurückgegriffen, deren Gewinnung in Abschnitt 4.2 beschrieben wird. Zur photographischen Untersuchung der Blasenbildung in den Zellfragmenten wurde der experimentelle Aufbau zur

Bestrahlung von Mikropartikeln aus Abb. 4.10 verwendet. Allerdings wurde das 40x Mikroskopobjektiv durch einen Achromaten mit der Brennweite $f = 10\text{mm}$ ersetzt, um ein größeres Bildfeld für die Photographie zu erhalten. Die Zellsuspension befand sich in einem versiegeltem Flüssigkeitsreservoir (vgl. Abb. 4.3 oben).

Wie aus den Abb. 6.1 und 6.2 ersichtlich wird, besitzen die Zellfragmente vor der Bestrahlung ähnlich wie die vitalen Zellen in Abb. 4.6 noch eine kugelförmige Struktur mit typischen Durchmessern von $10\mu\text{m}$ bis $20\mu\text{m}$. Allerdings kann in dem experimentellen Aufbau nicht überprüft werden, ob die verwendeten Zellen in den Abbildungen 6.1 und 6.2 noch vital sind, so daß im folgenden von Zellfragmenten gesprochen werden muß. Durch die starke Pigmentierung der Zellen

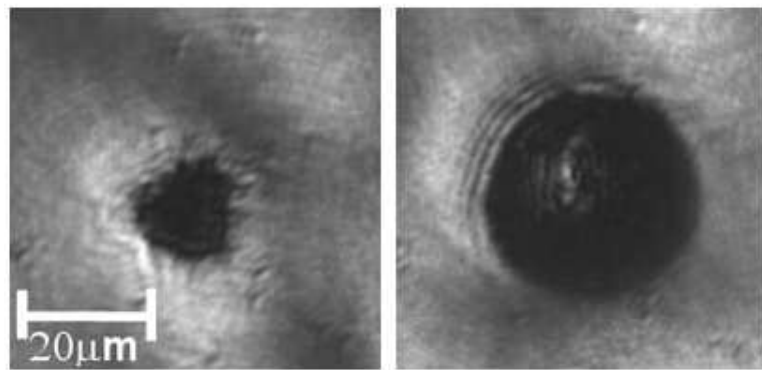


Abbildung 6.1: **Links:** RPE-Zellfragment vor der Laserbestrahlung. **Rechts:** Laserinduzierte Blasenbildung durch Bestrahlung mit $H = 296\text{mJ}/\text{cm}^2$ bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$. Die Blasenlebensdauer von $\tau_{\text{Blase}} = 2900\text{ns}$ wurde durch eine Transmissionsmessung in der Mitte des Zellfragments bestimmt. Es wurde zum Zeitpunkt $t_{\text{Photo}}^B = 1313\text{ns}$ nach der Blasen nukleation photographiert.

lassen sich auf der Photographie einzelne Melanosomen innerhalb der Zelle nur ungenügend von benachbarten Melanosomen abgrenzen (Abb. 6.1 und 6.2), so daß kleine laserinduzierte Blasen mit einer Ausdehnung von wenigen Mikrometern nicht zuverlässig erkannt werden können.

In der Suspension, die die Zellfragmente enthielt, variierte die Größe und der Pigmentierungsgrad der Fragmente sehr stark (vgl. Abb. 6.1 - 6.3), so daß keine systematischen Untersuchungen zur Quantifizierung der Blasendynamik an Zellfragmenten durchgeführt werden konnten. Zudem würde eine Mehrfachbestrahlung oberhalb der Blasenbildungsschwelle, wie sie für die Photographie zu verschiedenen Zeitpunkten während des Blasenzyklus notwendig ist (Abb. 6.3), zu einer Veränderung der Struktur des Zellfragments aufgrund der mechanischen Wirkung der Blase auf das Zellfragment führen, so daß man auch an einzelnen Fragmenten nur eine begrenzte Reproduzierbarkeit der Blasendynamik erhielt.

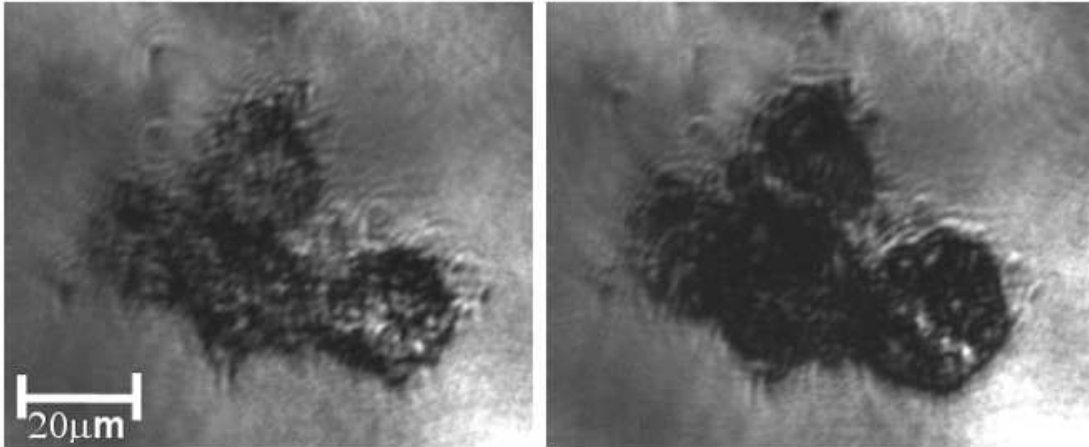


Abbildung 6.2: **Links:** Fragment bestehend aus 4 RPE-Zellen vor der Laserbestrahlung. **Rechts:** Laserinduzierte Blasenbildung durch Bestrahlung mit $H = 317 \text{ mJ/cm}^2$ bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240 \text{ ns}$. Es wurde zum Zeitpunkt $t_{\text{Photo}}^E = 577 \text{ ns}$ nach dem halben Laserpulsenergieeintrag fotografiert.

Die in den Abbildungen 6.1 und 6.2 gezeigten Blasen sind bei erstmaliger Bestrahlung des jeweiligen Zellfragments entstanden, während für die Erstellung der Photoserie in Abb. 6.3 eine Mehrfachbestrahlung desselben Zellfragments notwendig war.

Anhand der Abbildung 6.1, bei der die Blasenlebensdauer mit Hilfe einer Transmissionsmessung in der Mitte des Zellfragments bestimmt wurde, kann man abschätzen, daß in diesem Fall für die Blase an Zellfragmenten die Rayleigh-Beziehung aus Gl. 3.37 zwischen Blasenlebensdauer und Blasengröße annähernd erfüllt wird.

Man erkennt in Abb. 6.3 ebenfalls, daß die Blasen, die um einzelne Melanosomen wachsen, zu großen Blasen mit Durchmessern deutlich oberhalb von $10 \mu\text{m}$ fusionieren können. Aufgrund der Oberflächenspannung bildet sich nach dem Zusammenwachsen der Blasen in Abb. 6.3 eine kugelförmige Blase mit glatter Oberfläche aus. Man beobachtet dann im Gegensatz zu den Messungen zur Blasenbildung um isolierte Mikropartikel, daß bei einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240 \text{ ns}$ die zusammengewachsene Blase eine deutlich längere Lebensdauer als der Laserpuls aufweisen kann (Abbildungen 6.1, 6.2 und 6.3). In der Photoserie aus Abb. 6.3 kann man auch erkennen, daß die Blasenexpansion mit etwa 770 ns deutlich länger andauert als die Kontraktion mit etwa 280 ns . Ein Zusammenwachsen von einzelnen Blasen und ein anschließender Kollaps der Gesamtblase kann makroskopisch auch bei der extrakorporale Stoßwellenlithotripsie (ESWL) an den zu zertrümmernden Harnleiter- und Nierensteinen beobachtet werden [48, 113].

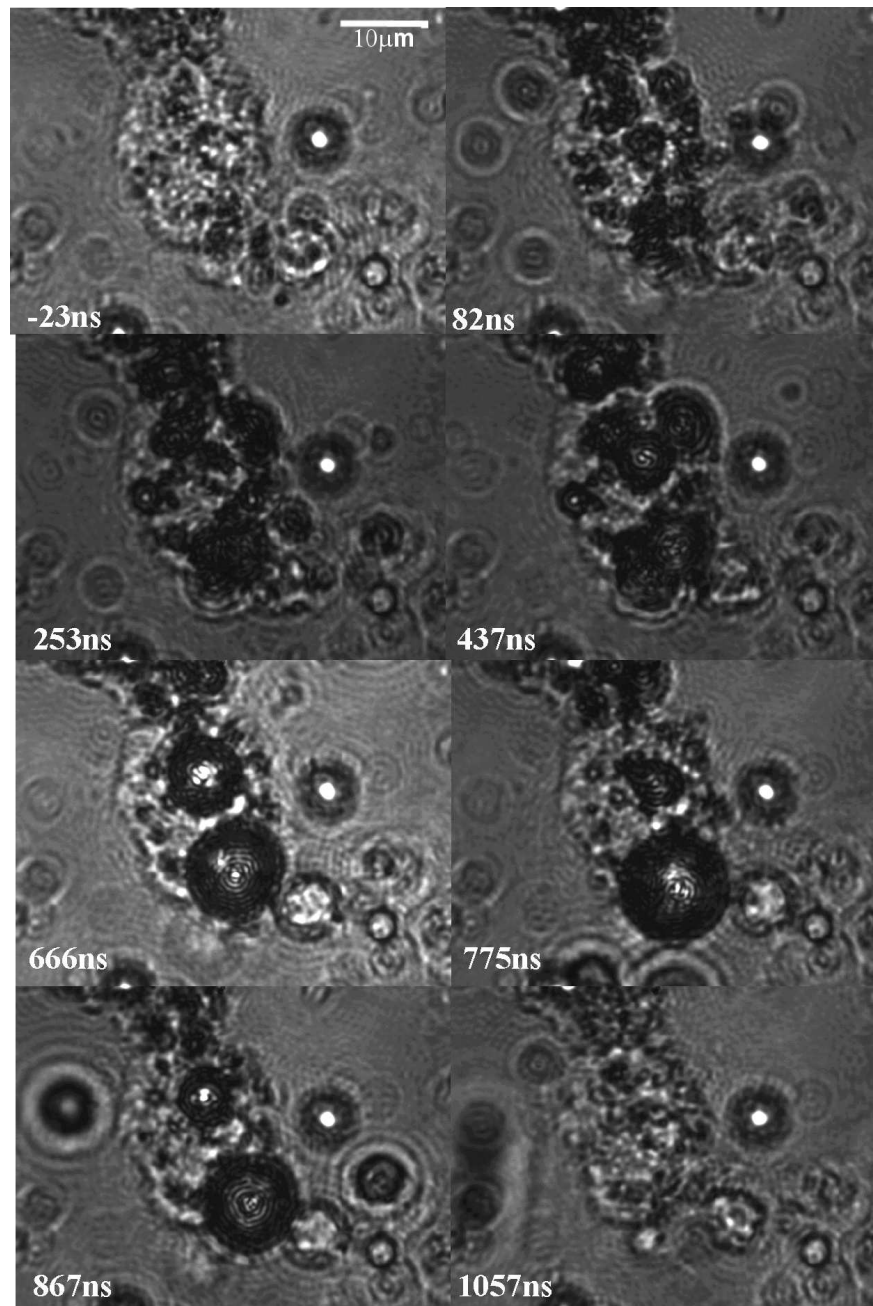


Abbildung 6.3: Blasendynamik an einem RPE-Zellfragment, das mit $H = 450\text{mJ/cm}^2$ bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 240\text{ns}$ bestrahlt wurde. Die Zeitangaben beziehen sich auf den Zeitpunkt der Photographien relativ zum halben Pulsenergieeintrag.

6.2 Blasendynamik in RPE-Explantaten

Da zur Untersuchung der Blasendynamik im RPE aufgrund der geringen Transmission der Explantate sowohl die Kurzzeitphotographie als auch die Transmissionsmessungen, wie sie in Kap. 5 und Abschnitt 6.1 zur Untersuchung der Blasendynamik um isolierte Mikropartikel und RPE-Zellfragmente benutzt wurden, ungeeignet sind, wird in diesem Abschnitt auf die Interferometrie und die Optoakustik ausgewichen. Typische interferometrische und optoakustische Signale, die bei Bestrahlungen weit oberhalb der Blasenbildungsschwelle entstehen, sind in Abb. 6.4 dargestellt. Im Interferenzsignal läßt sich das Auftreten von Blasen daran erkennen, daß eine Intensitätsmodulation auftritt. Bei Unterbrechung des Referenzstrahls des Interferometers verschwindet die Intensitätsmodulation, was bedeutet, daß das gemessene Interferenzsignal nicht durch störende Interferenzen zwischen der Blasenvorderseite und der Blasenrückseite [131] analog zu einem Fabry-Perot-Interferometer erzeugt wird. Die detektierten Frequenzen heben sich deutlich vom Untergrundrauschen ab, das durch mechanische Schwingungen des experimentellen Aufbaus hervorgerufen wird. Letztere erzeugen nur Interferenzsignale mit Frequenzen von einigen Kilohertz, während die durch Blasen hervorgerufenen Interferenzsignale in Abb. 6.4 Frequenzen von einigen Megahertz aufweisen. Es ist wahrscheinlich, daß die Blasen, die an den Melanosomen nukleieren, wie bei der Bestrahlung von Zellfragmenten in Abb. 6.3 zu größeren Blasen zusammenwachsen. Wie in Abschnitt 4.4.5 erklärt wurde, kann man dann

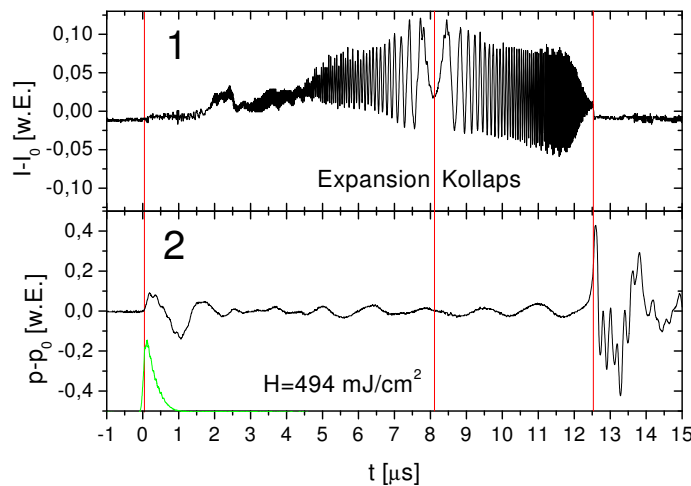


Abbildung 6.4: Vergleich zwischen Interferenzsignal (1) und optoakustischem Signal (2) infolge der RPE-Bestrahlung mit $H = 494 \text{ mJ/cm}^2$ bei einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 350 \text{ ns}$. Das optoakustische Signal ist um die Schalllaufzeit zum Hydrophon korrigiert. Zusätzlich ist die Laserpulsform im unteren Graphen als grüne Kurve dargestellt.

aus der Änderung der Modulationsfrequenz auf die Bewegung der Blasengrenzfläche und damit auf die Blasendynamik schließen. Eine sich zunächst verringernde Modulationsfrequenz entspricht einer abnehmenden Geschwindigkeit der Phasengrenzfläche bei der Blasenexpansion. Ist die maximale Blasenausdehnung erreicht, wird die Modulationsfrequenz minimal und nimmt bei der anschließenden Blasenkontraktion wieder zu. Zusätzlich läßt sich im Interferenzsignal auch beobachten, daß die Amplitude der Modulation zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung ihren größten Wert annimmt, da zu diesem Zeitpunkt die reflektierende Oberfläche der Blase am größten und glattesten ist. Außerdem erkennt man einen Anstieg der Untergrundintensität während eine Blase vorhanden ist. Dieser ist auf die Erhöhung des Reflexionsvermögens durch den Brechungsindexsprung an der Blasengrenzfläche zurückzuführen. Betrachtet man das simultan gemessene optoakustische Signal in Abb. 6.4, das um die Schalllaufzeit zum Hydrophon korrigiert wurde, erkennt man, daß zum Zeitpunkt der Laserbestrahlung eine Druckwelle entsteht, die vermutlich thermoelastischen Ursprungs ist. Zu dem Zeitpunkt, an dem das Interferenzsignal wieder verschwindet, beobachtet man eine weitere Druckwelle, die durch den Blasen kollaps verursacht wurde (vgl. Abschnitt 3.5.4). Interferometrie und Optoakustik liefern also konsistente Ergebnisse hinsichtlich der Blasenlebensdauer. Mit Hilfe der Interferometrie kann im Gegensatz zur Optoakustik zusätzlich noch der Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung bestimmt werden. Aus Abb. 6.3 und 6.4 kann man entnehmen, daß dieser bei laserinduzierten Blasen im RPE nicht zwangsläufig mit dem Zeitpunkt der halben Blasenlebensdauer zusammenfällt, sondern etwas nach hinten verschoben ist (vgl. auch Abb. 6.7).

Bei sehr niedrigen Bestrahlungen zeigt sich in Abb. 6.5 links keine durch die Bestrahlung hervorgerufene Veränderung im Interferenzsignal. Bei steigender Bestrahlung tauchen dann ab einer gewissen Bestrahlungsschwelle Amplitudenänderungen im Interferenzsignal auf (Abb. 6.5 rechts). Nahe der Schwelle ist jedoch keine klare Blasendynamik wie in Abb. 6.4 erkennbar. Ein solches Interferenzsignal könnte durch das Aufschwingen vieler einzelner Blasen, die nicht vollständig zusammenwachsen und daher keine einheitlich reflektierende glatte Oberfläche bilden (vgl. z. B. Abb. 6.2), erklärt werden. Um andere, nicht mit einer Blasenbildung zusammenhängende Ursachen für ein solches Interferenzsignal auszuschließen, soll an dieser Stelle abgeschätzt werden, inwieweit thermische Effekte das Interferenzsignal verfälschen könnten. Die rein thermische Ausdehnung des RPE läßt sich im Falle der Vernachlässigung der Wärmeleitung mit Hilfe einer laserinduzierten homogenen Temperaturerhöhung von $\Delta T_{\text{Laser}} = T_{\text{Nuk}} - T_0 \approx 130\text{K}$ bis zur Nukleation (Tab. 5.12) in der pigmentierten RPE-Schicht, auf die die Erwärmung wegen der kurzen Pulsdauer begrenzt bleibt, abschätzen. Bei einer Dicke der pigmentierten RPE-Schicht von $d_{\text{RPE}} \approx 5\mu\text{m}$ (vgl. Abb. 4.1) und unter Zuhilfenahme des thermischen Längenausdehnungskoeffizienten von Wasser

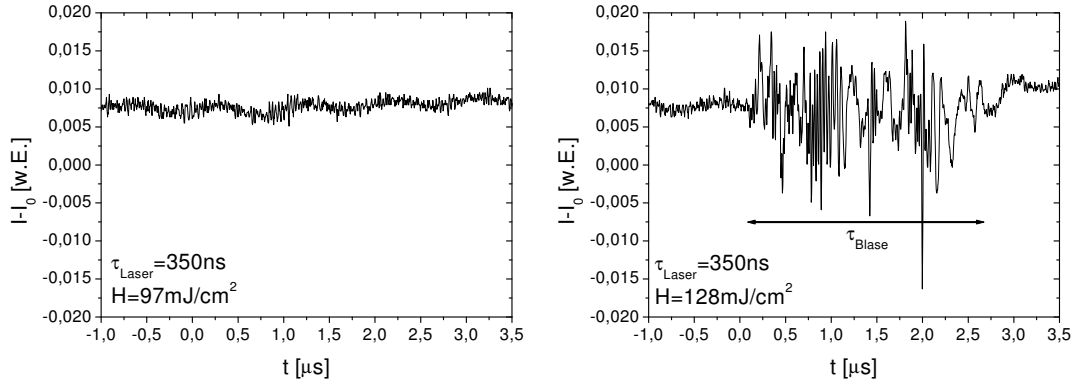


Abbildung 6.5: Interferenzsignal unterhalb (links) und oberhalb (rechts) der Blasenbildungsschwelle. Das Signal rechts wurde als Blasenbildung mit einer Blasenlebensdauer $\tau_{\text{Blase}} = 2,7 \text{ µs}$ interpretiert. Mit Hilfe der Interferometrie kann auf diese Weise eine Blasenbildungsschwelle bestimmt werden. Die Laserpulsdauer für die Bestrahlung des RPE-Explantats betrug $\tau_{\text{Laser}} = 350 \text{ ns}$.

$\alpha_{\text{H}_2\text{O}} = 6 \cdot 10^{-5} / \text{K}$ ergibt sich für die thermische Ausdehnung der RPE-Schicht ein Wert von maximal

$$\Delta s = \alpha_{\text{H}_2\text{O}} \Delta T_{\text{Laser}} d_{\text{RPE}} \approx 40 \text{ nm} \approx \lambda / 16,$$

so daß keine signifikanten Beiträge von rein thermischen Effekten im Interferenzsignal zu erwarten sind. Aus diesem Grunde sollten Amplitudenmodulationen, die auf Verschiebungswege im Bereich von $\Delta s \gtrsim \lambda$ hindeuten, thermomechanischen Ursprungs sein, d. h. mit einer Blasenbildung im RPE einhergehen. Deshalb kann mit Hilfe des interferometrischen Verfahrens wie in Abb. 6.5 eine Blasenbildungsschwelle bestimmt werden. Über die Empfindlichkeit des interferometrischen Blasennachweises läßt sich zunächst keine Aussage treffen. Dazu werden die Interferenzsignale in Abschnitt 6.4 mit dem laserinduzierten Zellschaden korreliert.

Mit Hilfe der Optoakustik und der Interferometrie wurden die Blasenlebensdauern für Laserpulsdauern von 350 ns und $1,7 \text{ µs}$ als Funktion der Bestrahlung gemessen und in Abb. 6.6 dargestellt. Man erkennt, daß die Blasenlebensdauer für den untersuchten Bestrahlungsbereich in etwa linear mit der applizierten Bestrahlung zunimmt. Zwischen den beiden verwendeten Pulsdauern von 350 ns und 1700 ns läßt sich in der auf die jeweilige Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle normierten Darstellung kein gravierender Unterschied hinsichtlich der Blasenlebensdauern erkennen. Das Auftreten von mehrfachen Blasenoszillationen im RPE kann nahe der Blasenbildungsschwelle mit den hier verwendeten Meßmethoden nicht von Blasen mit nur einem Oszillationszyklus unterschieden werden. Für größere Blasen kann man anhand des optoakustischen Signals den Blasen-

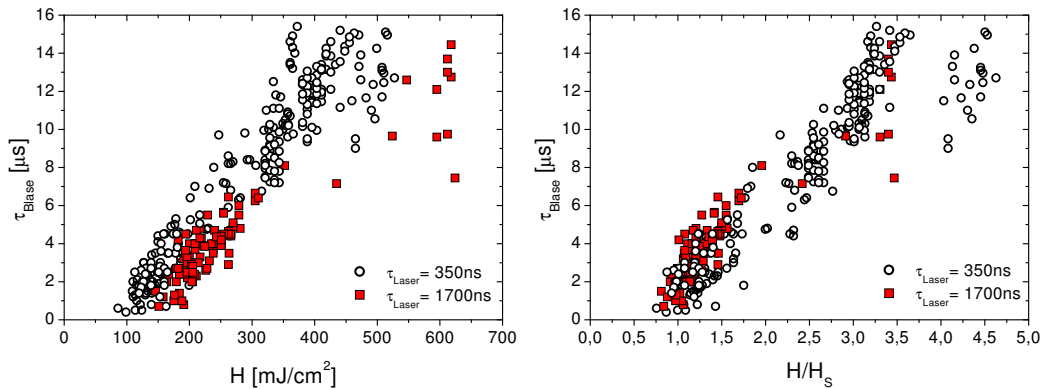


Abbildung 6.6: *Interferometrisch und optoakustisch bestimmte Blasenlebensdauern in Abhängigkeit von der applizierten Bestrahlung (links). Die Daten wurden nicht nach der verwendeten Meßmethode differenziert, weil die Ergebnisse beider Verfahren gleich sind (vgl. Abb. 6.4). Bei Normierung der Bestrahlung auf die jeweiligen Blasenbildungsschwellen ($\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$: $H_S = 129\text{mJ/cm}^2$ und $\tau_{\text{Laser}} = 1700\text{ns}$: $H_S = 180\text{mJ/cm}^2$, vgl. Tab. 6.1) zeigt sich, daß hinsichtlich der Blasendynamik kein gravierender Unterschied zwischen den beiden Pulslängen besteht.*

kollaps identifizieren (z. B. Abb. 6.4). In diesem Fall wurden keine mehrfachen Blasenoszillationen gemessen.

Oberhalb etwa zweifach überschwelliger Bestrahlung lassen die Interferenzsignale eine zuverlässige Bestimmung des Zeitpunktes der maximalen Blasenausdehnung zu. Es läßt sich wie in Abb. 6.4 erkennen, daß die Blasendynamik zeitlich asymmetrisch verläuft, d. h. die Dauer der Blasenexpansion, die während des Bestrahlungspulses beginnt, ist größer als die Dauer der Blasenkontraktion. In Abb. 6.7 ist das Verhältnis von Blasen kollapszeit zur Blasenlebensdauer aufgetragen. Im Mittel beträgt nach Abb. 6.7 die Kollapszeit nur etwa ein Drittel der Blasenlebensdauer.

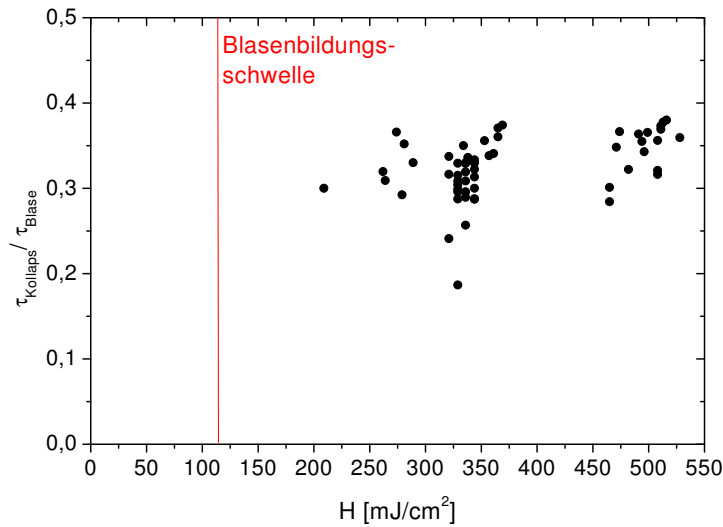


Abbildung 6.7: Interferometrisch gemessene Asymmetrie zwischen Blasenexpansions- und Blasenkollapszeit bei stark überschwelliger Bestrahlung mit einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$. Zusätzlich ist die interferometrisch bestimmte Blasenbildungsschwelle dargestellt, die sich aus den Messungen zu Abb. 6.5 und 6.6 ergab.

6.3 Laserinduzierte Zellschädigung

Die laserinduzierte Zellschädigung an RPE-Explantaten vom Schwein wurde mit dem in Abschnitt 4.3.2 vorgestellten Vitalitäts-Assay, das auf Calcein-AM basiert, untersucht. Dazu wurden die Explantate rasterförmig mit Einzelpulsen bestrahlt (Abb. 6.8), so daß den einzelnen Bestrahlungsflecken auf dem RPE-Präparat unter dem Fluoreszenzmikroskop die zugehörige Bestrahlung H zugeordnet werden kann. In Abb. 6.9 ist die Anzahl der toten Zellen pro Bestrahlungsfleck als Funktion der applizierten Bestrahlung aufgetragen. Die ED_{50} -Schwellen, bei denen die Hälfte der bestrahlten Zellen den Zelltod erleidet, wurden mit der in Anhang A.5 beschriebenen Probit-Statistik modelliert. Die Schwellen für laserinduzierten Zelltod wurden für verschiedene Pulsdauern bestimmt und in Tab. 6.1 dargestellt. Um Variationen hinsichtlich der interindividuellen Pigmentierung bzw. Schädigungsschwellen zu berücksichtigen, wurde jedes RPE-Explantat aus einem anderem Auge entnommen. Bei Bestrahlung mit gleicher Pulsdauer unterscheiden sich die ED_{50} -Werte unterschiedlicher RPE-Präparate um weniger als 15%. Aufgrund dieser geringen Abweichung wurden die Daten aller Exposition mit gleicher Pulsdauer aus den verschiedenen RPE-Explantaten zusammengefaßt. Danach wurde aus diesem Datenpool die gemeinsame ED_{50} -Schwelle in Tab. 6.1 bestimmt. Während man für einzelne RPE-Explantate typische Probit-Slopes von $S = ED_{84}/ED_{50} = 1.10$ erhält, vergrößert sich in Tab. 6.1 die Probit-Slope wegen des Zusammenfassens von Daten aus verschiedenen RPE-Explantaten mit

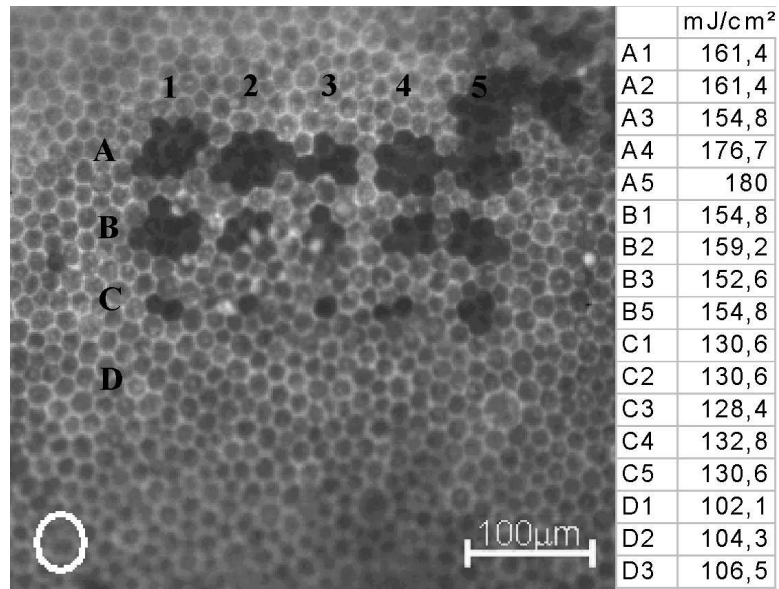


Abbildung 6.8: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme des mit Calcein-AM inkubierten RPE-Explantats. Tote Zellen fluoreszieren nicht und erscheinen im Bild dunkel. Rechts sind die zu den einzelnen Orten gehörigen Bestrahlungswerte tabelliert. Die verwendete Laserpulsdauer betrug $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$. Zum Vergleich mit den Laserläsionen ist die Größe des Bestrahlungsflecks in der linken unteren Ecke als weißer Ring dargestellt.

geringfügig unterschiedlichen ED_{50} -Werten [222]. Man erkennt in Tab. 6.1, daß die Bestrahlungsschwelle für den Zelltod, ebenso wie die Blasenbildungsschwellen bei den Melanosomen, mit zunehmender Laserpulsdauer aufgrund der Wärmediffusion während des Pulses ansteigt.

τ_{Laser} [ns]	ED_{50} [mJ/cm ²]	$S = ED_{84}/ED_{50}$	RPE-Explantate	Expositionen
250	114 ± 4	1.17	5	132
350	129 ± 5	1.13	3	52
1700	180 ± 5	1.14	5	146

Tabelle 6.1: ED_{50} -Schadensschwellen für RPE-Zellen bei verschiedenen Laserpulsdauern. Der Fehler der ED_{50} -Werte wurde durch ein Vertrauensintervall von 95% festgelegt. Die Probit-Slope $S = ED_{84}/ED_{50}$ ist ein Maß für die Varianz der angepaßten Probit-Verteilung (s. Anhang A.5).

Bei einer wabenförmigen Anordnung der RPE-Zellen kann nach Abb. 4.6 und 6.8 angenommen werden, daß in dem elliptischen Bestrahlungsfleck (Durchmesser $d_1 = 49.1\mu\text{m}$ und $d_2 = 40.5\mu\text{m}$) mindestens 5 Zellen vollständig und maximal

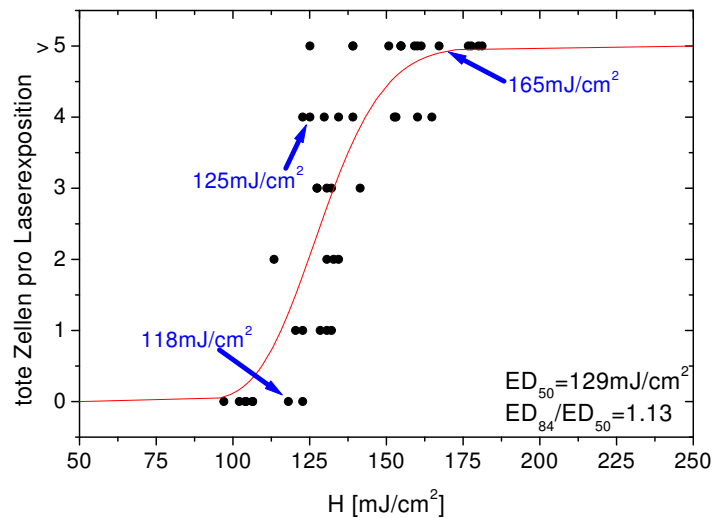


Abbildung 6.9: Ermittlung der Bestrahlungsschwelle für den Zelltod durch Auswertung der Anzahl der geschädigten Zellen in Abhängigkeit von der applizierten Bestrahlung mit einer Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$. Zusätzlich ist eine angepasste Probit-Verteilung dargestellt. Da 5 Zellen pro Laserpuls vollständig bestrahlt werden, wird diesem Wert bei der Modellierung mit der Probit-Statistik eine Zellschädigung von 100% zugeordnet. Teilbestrahlte Zellen am Rande des Bestrahlungsflecks werden bei der Berechnung des Schwellenwertes also nicht berücksichtigt.

12 Zellen, wenn auch nur teilweise, bestrahlt werden. Deshalb ist eine über den Wert von 12 hinausgehende Anzahl von abgetöteten Zellen nur durch eine über den Bestrahlungsfleck hinausgehende thermomechanische Wechselwirkung zu erklären. In Abb. 6.10 ist die laterale Zellschädigung als Funktion der Bestrahlung mit einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$ dargestellt. Man erkennt in Abb. 6.10 links, daß oberhalb der etwa doppelten Schwellenwertbestrahlung für den Zelltod mehr als 12 Zellen – also auch nicht bestrahlte Zellen – abgetötet werden, so daß die laserinduzierte Schädigung mit Sicherheit nicht mehr auf die bestrahlten Zellen begrenzt ist. Werden umgekehrt nicht mehr als 12 Zellen abgetötet, kann man davon ausgehen, daß der Zellschaden in etwa auf die bestrahlte Fläche beschränkt bleibt. Nach Abb. 6.10 (rechts) ergeben sich in diesem Fall Blasenlebensdauern unterhalb von $5\mu\text{s}$. Eine Blasenlebensdauer von $5\mu\text{s}$ entspricht nach der Rayleigh-Beziehung (Gl. 3.37) einem Blasendurchmesser von etwa $50\mu\text{m}$ und ist damit nicht gravierend größer als die Durchmesser des (elliptischen) Bestrahlungsflecks von $d_1 = 49.1\mu\text{m}$ bzw. $d_2 = 40.5\mu\text{m}$.

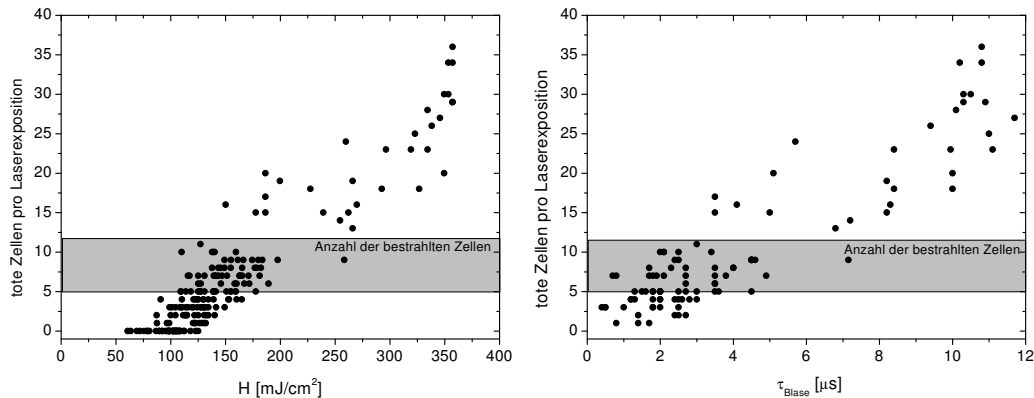


Abbildung 6.10: Anzahl der pro Bestrahlung geschädigten RPE-Zellen in Abhängigkeit von der applizierten Bestrahlung (links) und der interferometrisch bzw. optoakustisch gemessenen Blasenlebensdauer (rechts) bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$.

6.4 Interferometrische und optoakustische Detektion der Zellschädigung

Nachdem einerseits die Blasendynamik mit Hilfe interferometrischer und optoakustischer Methoden gemessen wurde und andererseits die laserinduzierte Zellschädigung untersucht wurde, sollen nun Zellschädigung und Blasennachweis direkt miteinander korreliert werden, um die prinzipielle Machbarkeit einer Echtzeit-Dosimetrie für die SRT zu evaluieren. Hierfür ist nämlich eine Blasendetektion nahe der Schwelle für den laserinduzierten Zelltod notwendig.

In Abb. 6.11 sind exemplarische fluoreszenzmikroskopische Bilder, an denen die Vitalität der RPE-Zellen abgelesen werden kann, und die zugehörigen interferometrischen und optoakustischen Transienten dargestellt. Um die Bestrahlungsparameter aus Abb. 6.11 relativ zur ED_{50} -Schwelle für den Zelltod einordnen zu können, sind sie in dem Graphen zur Schwellenbestimmung in Abb. 6.9 gekennzeichnet. Man erkennt in den Interferenzsignalen aus Abb. 6.11 einen deutlichen Unterschied zwischen der Bestrahlung unterhalb ($118\text{mJ}/\text{cm}^2$) und oberhalb ($125\text{mJ}/\text{cm}^2$ und $165\text{mJ}/\text{cm}^2$) der Schwelle für Zelltod. Bereits kurz oberhalb der Schwelle für Zelltod zeigt das Interferenzsignal deutliche Abweichungen von der Nulllinie.

Im optoakustischen Signal tritt in Abb. 6.11 eine nennenswerte Amplitudenvergrößerung zwischen den Bestrahlungen $125\text{mJ}/\text{cm}^2$ und $165\text{mJ}/\text{cm}^2$ – also erst oberhalb der interferometrisch gemessenen Blasenbildungsschwelle – auf.

Um sowohl die interferometrischen als auch die optoakustischen Signale zu quantifizieren, wurden die Betragsquadrate der Signale über einen gewissen Zeitraum

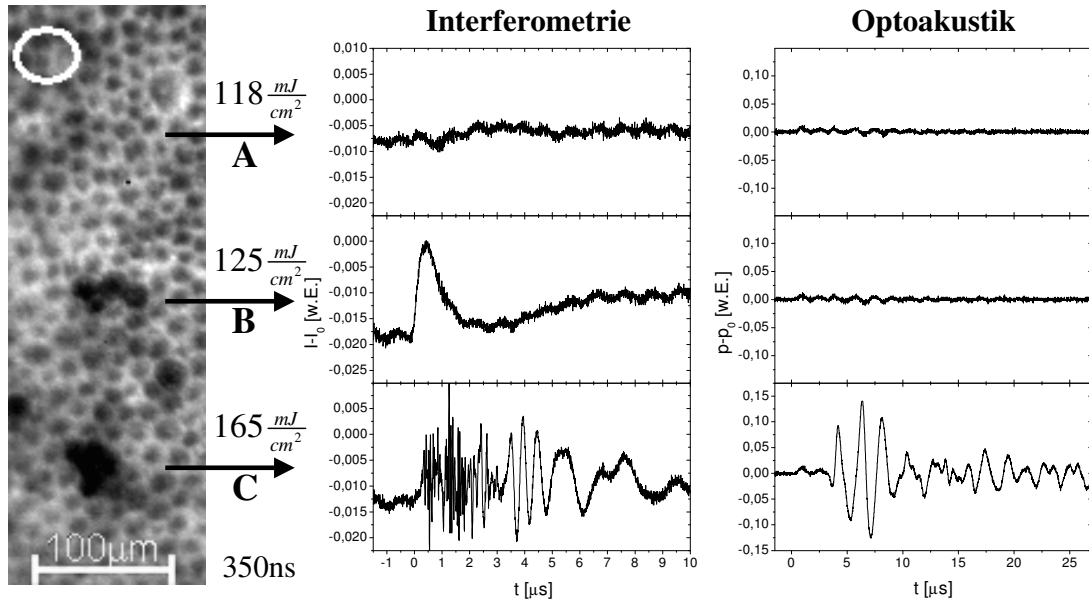


Abbildung 6.11: Korrelation zwischen Vitalitäts-Assay (links), Interferenz (Mitte) und Optoakustik (rechts) bei Laserbestrahlungen mit einer Pulsdauer von $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$. Zum Vergleich ist in der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahme (links) die Größe des Bestrahlungsflecks als weißer Ring eingezeichnet. Geschädigte Zellen erscheinen dunkel. Sobald tote Zellen bei Bestrahlungen von $H = 125\text{mJ}/\text{cm}^2$ und $165\text{mJ}/\text{cm}^2$ unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar werden (B, C), lassen sich im Interferenzsignal Abweichungen von der Nulllinie erkennen. Im optoakustischen Signal zeigt sich erst bei einer Bestrahlung von $H = 165\text{mJ}/\text{cm}^2$ eine deutliche Signalveränderung. Zur besseren Einordnung der Laserbestrahlung relativ zur ED_{50} -Schwelle sind in Abb. 6.9 die zu den exemplarischen Laserexpositionen aus dieser Abbildung gehörigen Meßpunkte gekennzeichnet.

$$E_{IF} = \int_{-1\mu\text{s}}^{25\mu\text{s}} I_{ac}(t)^2 dt \quad (6.1)$$

$$E_{OA} = \int_{-1\mu\text{s}}^{25\mu\text{s}} (p(t) - p_0)^2 dt \quad (6.2)$$

integriert. Das Interferometer-Signal $I_{ac}(t)$ wurde zuvor mit einem digitalen Bandpaß im Bereich von $300\text{kHz} - 30\text{MHz}$ gefiltert, um niederfrequente Störungen durch Vibrationen des experimentellen Aufbaus und elektronisches Rauschen bei höheren Frequenzen zu eliminieren. Die bei einer Laserpulsdauer von 350ns aus den interferometrischen und optoakustischen Transienten resultierenden Werte für E_{IF} und E_{OA} werden in Abb. 6.12 mit der applizierten Bestrahlung und dem Auftreten von Zelltod korreliert. Man erkennt eine deutliche Zunahme von

E_{IF} und E_{OA} bei der ED_{50} -Bestrahlungsschwelle für Zelltod aus Tab. 6.1. Im Hinblick auf eine Dosimetriekontrolle sollten allerdings die interferometrischen und optoakustischen Transienten mit der jeweiligen Zellschädigung in Beziehung gesetzt werden. Hierzu wurde als E_{IF} - und E_{OA} -Schwelle für den Zelltod ein

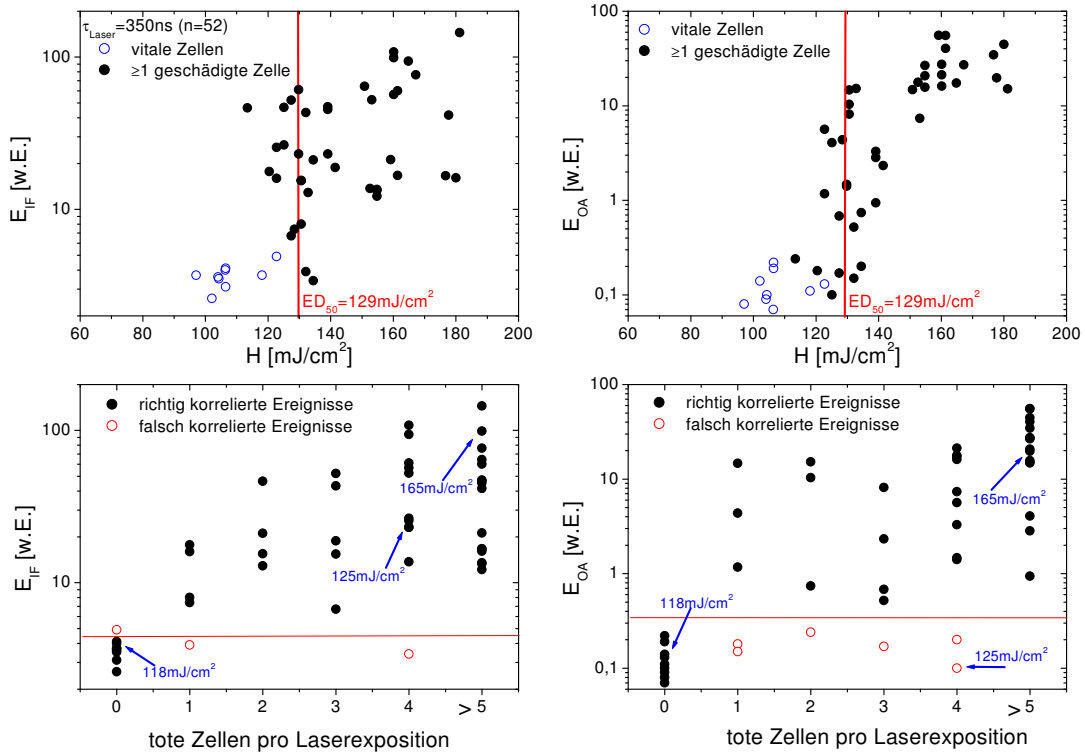


Abbildung 6.12: Interferometrische (links) und optoakustische (rechts) Zeitintegrale E_{IF} und E_{OA} nach Gl. 6.1 und 6.2 als Funktion der applizierten Bestrahlung (oben) und als Funktion der Zellschädigung (unten) bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{Laser} = 350ns$. Die zu den Signalen aus Abb. 6.11 gehörigen Meßpunkte sind in den unteren Graphen gekennzeichnet. Sie sind auch bei der ED_{50} -Anpassung in Abb. 6.9 zu finden. Für die unteren Graphen, in denen E_{IF} und E_{OA} in Abhängigkeit vom Zelltod dargestellt ist, wurde ein Schwellenwert eingezeichnet, der zu einem Minimum an falsch korrelierten Ereignissen führt und als Grenzwert für das Auftreten von Zelltod dient. Es zeigt sich, daß die interferometrische Schwellenwertbestimmung gemessen an den falsch korrelierten Ereignissen zuverlässiger als die optoakustische Schwellenwertbestimmung ist.

Bestrahlungswert gewählt, der zu einem Minimum an falsch korrelierten Ereignissen führt. Diese Schwellen und die jeweiligen Korrelationen sind ebenfalls in Abb. 6.12 dargestellt. In Abb. 6.13 wird E_{IF} mit dem Auftreten von Zelltod bei einer Bestrahlungsdauer von $1.7\mu s$ korreliert. Es zeichnet sich hier prinzipiell das gleiche Bild ab wie in Abb. 6.12 links.

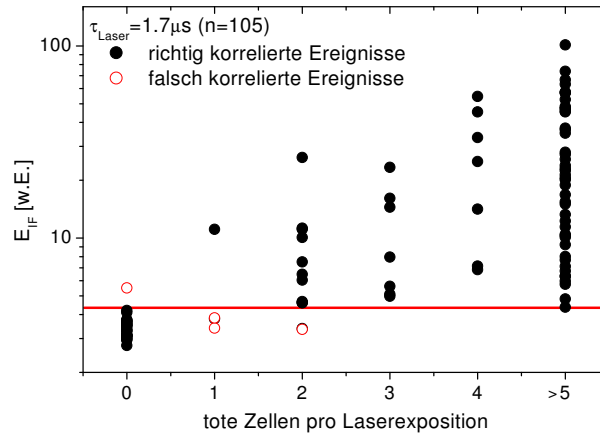


Abbildung 6.13: Interferometrisches Zeitintegral E_{IF} nach Gl. 6.1 als Funktion der Zellschädigung bei einer Laserpulsdauer von $\tau_{Laser} = 1.7\mu s$. Zur Trennung zwischen unter- und überschweiliger Bestrahlung wurde derselbe Schwellenwert wie bei den kürzeren Pulsen in Abb. 6.12 benutzt.

Aus der Korrelationstabelle Tab. 6.2, die anhand der Abb. 6.12 und 6.13 angefertigt wurde, wird ersichtlich, daß mit Hilfe der willkürlich gewählten Schwellenwerte von E_{IF} und E_{OA} das Auftreten von Zelltod anhand des interferometrischen bzw. des optoakustischen Signals in den meisten Fällen richtig vorhergesagt werden kann. Bei der Bestrahlung mit einer Pulsdauer von $\tau_{Laser} = 1.7\mu s$ wurde in

	$\tau_{Laser} = 350ns$		$\tau_{Laser} = 1.7\mu s$	
Zelltod	$E_{IF} < 4.3$	$E_{IF} > 4.3$	$E_{IF} < 4.3$	$E_{IF} > 4.3$
nein	9	1	29	1
ja	2	40	3	72

	$E_{OA} < 0.35$	$E_{OA} > 0.35$
nein	10	0
ja	6	36

Tabelle 6.2: Korrelation zwischen den Interferenzsignalen aus den Abb. 6.12 und 6.13 bzw. den optoakustischen Signalen aus Abb. 6.12 und dem Auftreten von Zelltod im Vitalitäts-Assay.

nur 3 von 105 Fällen fälschlicherweise kein Zellschaden erkannt, während in einem Fall fälschlicherweise ein Zellschaden detektiert wurde. Bei einer Pulsdauer von $\tau_{Laser} = 350ns$ wurde mit dem interferometrischen Verfahren von 52 Laserexpositionen in nur 2 Fällen die Zellschädigung nicht anhand des Interferenzsignals

erkannt. In einem Fall wurde fälschlicherweise aus dem Interferenzsignal auf eine nicht vorhandene Zellschädigung geschlossen. Bei der Optoakustik wurde in 6 von 52 Fällen die Zellschädigung nicht erkannt und wiederum in keinem Fall aus den optoakustischen Transienten auf eine nicht vorhandene Zellschädigung geschlossen. Die Vorhersage von Zellschaden anhand des interferometrischen Signals scheint also etwas zuverlässiger zu sein als anhand des optoakustischen Signals. Allerdings ist die untersuchte Fallzahl zu gering, um hierzu eine statistisch signifikante Aussage zu treffen zu können.

6.5 Diskussion

Im folgenden wird neben den Mechanismen der laserinduzierten Zellschädigung hauptsächlich die Blasendynamik im RPE erörtert. Diese gibt Hinweise auf die Eignung der verwendeten Laserpulsdauern für die SRT. Zudem werden die Experimente zum interferometrischen Blasennachweis im Hinblick auf eine SRT-Dosimetrie in Echtzeit diskutiert.

6.5.1 Mechanismen der Zellschädigung

In den ex vivo Modellen können mit dem auf Calcein-AM basierenden Vitalitäts-Assay nur solche Zellschäden nachgewiesen werden, die bis zum Zeitpunkt der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung, die innerhalb einer Stunde nach Bestrahlung durchgeführt wurde, auftreten. Ein späterer Zelltod aufgrund von Apoptose, bei der die Zelle eine Art Selbstzerstörungsprogramm in Gang setzt [149, 242], kann mit den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Methoden nicht detektiert werden. In Voruntersuchungen wurde kein Unterschied in den Schwellen für Zelltod zwischen der Anfärbung vor und nach der Bestrahlung festgestellt [193, 37].

Für die Ursache der Zellschädigung infolge der Laserbestrahlung müssen verschiedene Mechanismen gegeneinander abgewogen werden. Eine Berechnung der Proteindenaturierung an verschiedenen Orten innerhalb der RPE-Zelle mit der Arrheniuskinetik, deren Parameter aus Experimenten mit Bestrahlungsdauern im Millisekundenbereich gewonnen wurden [25], lassen einen rein thermisch induzierten Zelltod für Pulsdauern von Nanosekunden bis hin zu wenigen Mikrosekunden unwahrscheinlich erscheinen [207]. Selbst an der Melanosomenoberfläche ist nach diesem Modell eine rein thermische Schädigung fragwürdig. Manchmal wird für einen Zellschaden in vivo, der erst einige Stunden nach Laserbestrahlung ophthalmoskopisch sichtbar wird, auch eine thermische Schädigung der Melanosomenmembran als Schädigungsmechanismus in Betracht gezogen [74, 240], denn eine Beschädigung der Melanosomenmembran begünstigt durch die Wechselwirkung des Melanins mit dem Zellplasma die Bildung zytotoxischer freier Radikale und verursacht dadurch oxidativen Streß in der Zelle [205, 79].

Die thermoelastische Druckwelle sollte einen vernachlässigbaren Einfluß auf die Zellvitalität haben, da eine Schädigung von RPE-Zellen erst bei Druckgradienten von $60\text{bar}/\text{ns}$ bei einer Druckamplitude von $p = 600\text{bar}$ beobachtet wurde [54]. Solche Drücke bzw. Druckgradienten sind aufgrund der Abschätzung der thermoelastischen Druckwelle um isolierte Melanosomen (Abb. 5.35) in den Experimenten der vorliegenden Arbeit nicht zu erwarten.

In den interferometrischen Messungen der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß bei Pulsdauern von 350ns und $1.7\mu\text{s}$ das Auftreten einer Blase stark mit dem Zelltod, der durch Vitalitäts-Assays festgestellt wurde, korreliert ist. Für Bestrahlungen mit Pulsdauern von 8ns bzw. 20ns stimmen nach Brinkmann et al. [36] und Kelly [118] im Rahmen der Fehlergrenzen jeweils die Bestrahlungsschwellen für den Zelltod im RPE mit der Bestrahlungsschwelle für die Blasenbildung um isolierte Melanosomen überein. Die in dieser Arbeit bei einer Laserpulsdauer von 12ns an isolierten Melanosomen gemessene minimale Blasenbildungsschwelle von $82\text{mJ}/\text{cm}^2$ (vgl. Abb. 5.34) stimmt ebenfalls gut mit der von Brinkmann et al. [36] bei einer Laserpulsdauer von 8ns gemessenen Schwelle für den Zelltod ($H_S = 84\text{mJ}/\text{cm}^2$) überein. Der Vergleich mit den Ergebnissen von Kelly wird durch das von ihm verwendete Gaußsche Strahlprofil erschwert (vgl. S. 128). Bei Bestrahlungspulsdauern von 25ns beobachteten Lin et al. mit Hilfe der Kurzzeitphotographie an Zellen des Trabekelwerks, die in Kultur nur wenige Melanosomen phagozytiert hatten, daß eine intrazelluläre Blasenbildung notwendige Bedingung für den Zelltod war [144, 142]. Deshalb ist bei der Bestrahlung mit Pulsdauern von wenigen Nanosekunden mit Sicherheit davon auszugehen, daß eine Blasenbildung für den Zelltod verantwortlich ist.

Bei Bestrahlungsdauern von $5\mu\text{s}$ zeigte Schüle im ex vivo RPE-Modell anhand von akustischen Messungen, daß für das Auftreten von geschädigten Zellen immer eine Blase notwendig war [207, 212]. Bei Laserpulsdauern von $50\mu\text{s}$ wurde an der Bestrahlungsschwelle für Zellschädigung in weniger als 20% der Fälle eine Blase detektiert [207, 212]. Mit reflektometrischen Messungen wurde bei Bestrahlung einer einzelnen RPE-Zelle ex vivo festgestellt, daß bei Pulsdauern bis zu $20\mu\text{s}$ die Bestrahlungsschwellen für Blasenbildung und Zelltod zusammenfallen [9]. Erst bei Pulsdauern von $50\mu\text{s}$ liegt die Schwelle für Zelltod signifikant unterhalb der Blasenbildungsschwelle [9]. Es kann also davon ausgegangen werden, daß bei einer Pulsdauer bis zu $20\mu\text{s}$ die laserinduzierte Blasenbildung den Zelltod verursacht, während bei $50\mu\text{s}$ -Pulsen ein rein thermisch induzierter Zellschaden überwiegt.

Blasen, die innerhalb oder in der Umgebung einer Zelle aufschwingen, können diese auf verschiedene Weise mechanisch schädigen (Abb. 6.14). Das Auftreten von transienten Blasen innerhalb der Zelle führt zu einer Vergrößerung des Zellvolumens, was infolge einer Zelloberflächendehnung zur Lyse, d. h. zum Tod der Zelle aufgrund des Zerreißen der Zellmembran, führen kann. Im statischen Fall führen relative Oberflächendehnungen von Zellmembranen im Bereich von $\Delta A/A \approx 2\% \dots 4\%$ zur Lyse [163, 147]. Neben der äußeren Zellmembran existieren auch innerhalb der Zelle Bereiche, sogenannte Vesikel, die durch eine

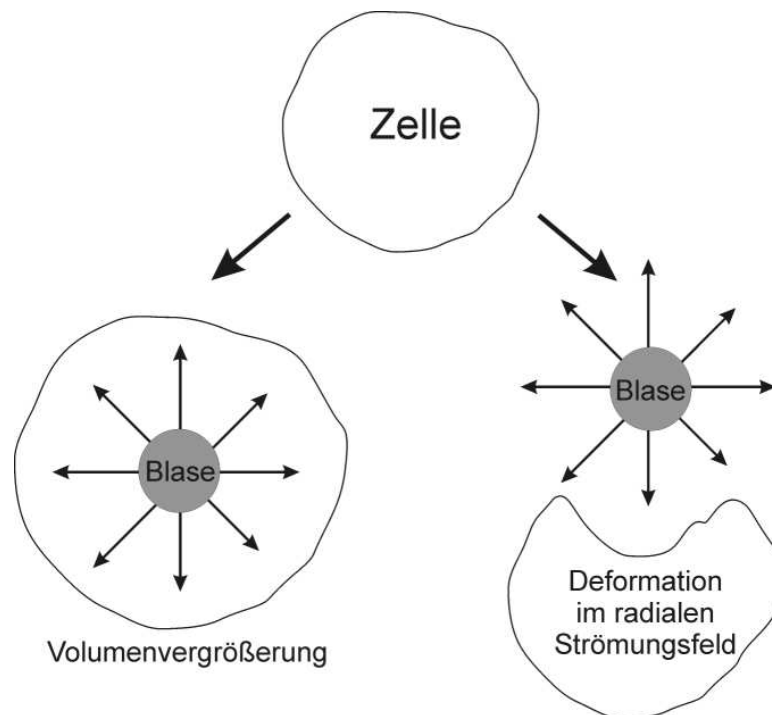


Abbildung 6.14: Schematische Darstellung möglicher Mechanismen, die aufgrund von Blasenbildung zur Membrandehnung und damit zur Lyse der Zelle führen können: Links ist die Volumenvergrößerung der Zelle aufgrund intrazellulärer Blasenbildung skizziert. Rechts ist die Deformation der Zelle im radial-expansiven Strömungsfeld einer extrazellulären Blase veranschaulicht.

Membran abgetrennt sind. Bei der Bestrahlung von intrazellulären phagozytierten Mikropartikeln mit Laserpulsdauern von 20ns wurde vermutet, daß eine Schädigung dieser (intra-)zellulären Membranen Ursache für den Zelltod sei [139]. In diesen Experimenten konnte auch gezeigt werden, daß der Zelltod teilweise durch Apoptose (programmierter Zelltod) zustande kommt [139]. Bei der Blasenbildung um Melanosomen kann auch eine Beschädigung der Melanosomenmembran und eine damit verbundene zytotoxische Wirkung der beschädigten Melanosomen aufgrund der Bildung von freien Radikalen nicht vollständig ausgeschlossen werden [79].

Durch die radiale Strömung in der Umgebung einer pulsierenden Blase kommt es ebenfalls zu einer Deformation der Zelle bzw. von Vesikeln (Abb. 6.14), die mit einer Oberflächendehnung einhergeht und damit auch eine Membranschädigung verursachen kann [147]. Sowohl bei künstlich hergestellten Vesikeln [151] als auch in Zellsuspensionen [264] konnte diese Oberflächendehnung durch die radiale Strömung in der Umgebung der pulsierenden Blase experimentell nachgewiesen werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß bei der Bestrahlung von intra-

zellulären Mikroabsorbern für Pulsdauern im Nanosekundenbereich bis hin zu einigen Mikrosekunden das Auftreten einer Blase notwendige Bedingung für den Zelltod ist. Welche durch die Blasenbildung induzierten Vorgänge dann zum Zelltod führen, ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Unter den konkurrierenden Mechanismen scheint eine mechanische Membranschädigung die wahrscheinlichste Ursache für den Zelltod zu sein.

6.5.2 Bestrahlungsschwellen für Zellschädigung

Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Schwellen für die Zellschädigung an RPE-Explantaten vom Schwein stimmen gut mit den Messungen von Brinkmann et al. [36] überein. Auch hier steigen die Schwellen mit zunehmender Laserpulsdauer an (Abb. 6.15), da ein größerer Teil der in den Melanosomen deponierten Wärme während des Pulses durch Wärmeleitung in die Umgebung gelangt. Bei gleicher Bestrahlung nehmen deshalb mit zunehmender Pulsdauer die auf der Melanosomenoberfläche erreichten Spitzentemperaturen, die ausschlaggebend für die Blasenbildung sind, ab. Die Schwellen für die Zellschädigung im RPE liegen auch

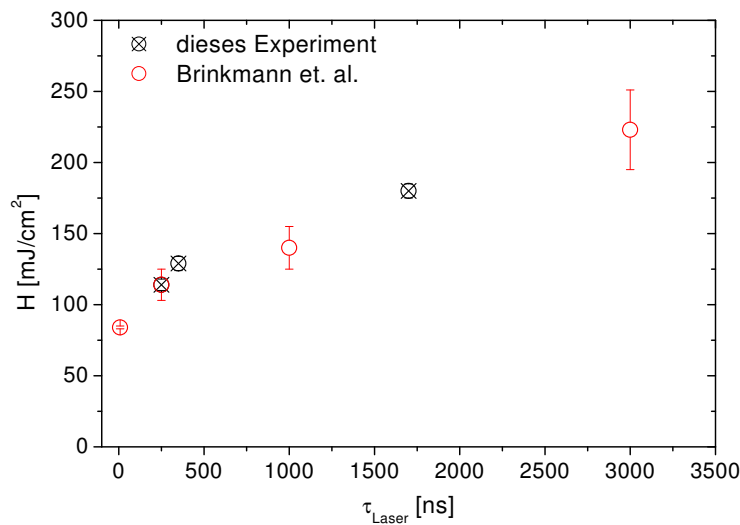


Abbildung 6.15: Gemessene ED_{50} -Schadensschwellen für RPE vom Schwein in Abhängigkeit von der Laserpulslänge. Zum Vergleich sind die Werte von Brinkmann et al. dargestellt [36].

wie bei Brinkmann et al. [36] für Pulsdauern von $\tau_{Laser} \gtrsim 100ns$ deutlich unterhalb der gemessenen Blasenbildungsschwellen für isolierte Melanosomen (vgl. Abb. 5.34).

Ist bei der applizierten Pulsdauer für die Melanosomen die thermische Einschlußbedingung ($\tau_{Laser} \lesssim \tau_T^{H_2O} = 440ns$, vgl. Tab. 4.1) erfüllt, spielt die Wärmeleitung in die Partikelumgebung während des Laserpulses eine vernachlässigbare

Rolle. Der Grund für die niedrigere Schadensschwelle bei den RPE-Explantaten liegt in der großen Streuung der Blasenbildungsschwellen für die Melanosomen untereinander (vgl. Tab. 5.4). Nimmt man an, daß für den Zelltod nur eine Blasenbildung um wenige Melanosomen innerhalb der Zelle nötig ist, so wird die ED_{50} -Schwelle für den Zelltod deutlich unterhalb der mittleren Blasenbildungsschwelle für Melanosomen liegen, denn eine RPE-Zelle enthält etwa 100 Melanosomen. Für isolierte Melanosomen beträgt beispielsweise bei Pulsdauern von $240ns$ die mittlere Blasenbildungsschwelle $225mJ/cm^2$ ($n = 58$, vgl. Abb. 5.34). Die niedrigsten Blasenbildungsschwellen liegen bei etwa $115mJ/cm^2$, was ungefähr mit der ED_{50} -Schwelle für RPE-Zellen von $114mJ/cm^2$ aus Tab. 6.1 übereinstimmt.

Ist bei der RPE-Bestrahlung die thermische Einschlußbedingung für die Melanosomen nicht erfüllt ($\tau_{Laser} \gtrsim \tau_T^{H_2O} = 440ns$), so vergrößert die Wärmeleitung während des Laserpulses die Diskrepanz zwischen den Blasenbildungsschwellen für isolierte Melanosomen und RPE-Explantaten noch weiter. Bei einer thermischen Diffusionslänge von $r_T = \sqrt{4\kappa\tau_{Laser}}$ wird aufgrund der Superposition der Temperaturverteilungen um einzelne eng benachbarte Melanosomen die Nukleationstemperatur schon bei einer niedrigeren Laserbestrahlung erreicht als bei isolierten Melanosomen [195, 193, 36]. Dieses führt zu deutlich niedrigeren Blasenbildungsschwellen als für isolierte Melanosomen [36, 193]. Für isolierte Melanosomen liegt beispielsweise bei der Bestrahlung mit Mikrosekundenpulsen die minimal detektierte Blasenbildungsschwelle bei $380mJ/cm^2$ ($\tau_{Laser} = 1.8\mu s$, $n = 50$, vgl. Abb. 5.34), während die ED_{50} -Schwelle für RPE-Zellen einen Wert von $180mJ/cm^2$ ($\tau_{Laser} = 1.7\mu s$, Tab. 6.1) besitzt.

Ähnlich wie bei der Blasenbildung um isolierte Melanosomen in den Abb. 5.6 und 5.7 ist die Blasenbildungsschwelle im RPE an einem Ort sehr scharf [194]. Bereits kleinste Änderungen in den Bestrahlungsbedingungen können dazu führen, daß bei repetierender Bestrahlung an der Blasenbildungsschwelle desselben RPE-Präparats nur sporadisch eine Blase beobachtbar ist [194].

6.5.3 Blasendynamik in RPE-Explantaten

In diesem Kapitel wurde gezeigt, daß neben der Optoakustik [207] und der Reflektometrie [194, 9] auch die Interferometrie für das Studium der Blasendynamik im RPE geeignet ist. Dabei liefert die Interferometrie zusätzlich zur Blasenlebensdauer auch noch Informationen über den Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung (Abb. 6.4). Bei schwelennaher Bestrahlung läßt sich allerdings im Gegensatz zu stark überschwelliger Bestrahlung kein klarer Ablauf der Blasendynamik aus dem Interferenzsignal ableiten (Abb. 6.5). In diesem Fall schwingen mehrere einzelne Blasen, die nicht zu einer großen Blase zusammenwachsen, um verschiedene Melanosomen auf, so daß man die unkorrelierte Überlagerung der Interferenzsignale von mehreren Einzelblasen detektiert. Während bei stark überschwelliger Bestrahlung das Interferenzsignal maßgeblich durch die Reflexion an der Blasengrenzfläche bestimmt ist, lassen sich in Schwellennähe Reflektionsände-

rungen aufgrund kleiner Blasen und Oberflächenbewegungen des RPE infolge der Blasenbildung kaum voneinander trennen. Zwar ist die Reflektivität einer Blase größer als die des RPE, doch ist in Schwellennähe nur ein kleiner Teil des RPE mit Blasen bedeckt, so daß sich diese beiden Effekte nicht anhand der Interferenzamplitude unterscheiden lassen. So könnte es sich bei dem niederfrequenten Anteil im Interferenzsignal in Abb. 6.11 (Transiente C: $165\text{mJ}/\text{cm}^2$ bei $t > 5\mu\text{s}$) um solche Oberflächenbewegung des RPE handeln, da dieser Signalteil deutlich länger andauert als die optoakustischen Transienten. Diesem niederfrequenten Signalanteil ähnliche Interferenzsignalformen wurden für akustische Oberflächenwellen an Festkörpern detektiert [257, 183]. Es ist auch nicht auszuschließen, daß stabile Restblasen, die ein wenig um ihren Gleichgewichtsradius schwingen, für dieses Signal verantwortlich sind.

Im Gegensatz zur Bestrahlung von isolierten Melanosomen (Abb. 5.25) läßt sich in Abb. 6.6 feststellen, daß die Blasenlebensdauer und damit auch die Blasengröße in den RPE-Explantaten bei den verwendeten Pulsdauern von 350ns und $1.7\mu\text{s}$ mit steigender Bestrahlung zunimmt. Der Grund hierfür könnte in der hohen Pigmentdichte des RPE liegen, die es erlaubt, daß die Blasen, die um benachbarte Melanosomen entstehen, zusammenwachsen. Hierdurch wird die Entstehung einer Folge von Blasenoszillationen, wie sie bei den isolierten Melanosomen beobachtet wurden, verhindert und es entsteht eine große Blase mit langer Lebensdauer.

Hinsichtlich der Blasenlebensdauer bei überschwelliger Bestrahlung findet sich zwischen der Bestrahlung mit Pulsdauern von 350ns und $1.7\mu\text{s}$ in Abb. 6.6 kein gravierender Unterschied. Inwieweit eine direkte Übertragbarkeit der an RPE-Explantaten vom Schwein untersuchten Blasendynamik auf den Menschen gewährleistet ist, kann wegen der möglichen Unterschiede hinsichtlich der Melanosomengröße und -verteilung im RPE nicht abgeschätzt werden. Sollten die Ergebnisse zur Blasendynamik in RPE-Explantaten und am Tiermodell auf humanes RPE in vivo übertragbar sein, wären bei der SRT allerdings kaum Unterschiede hinsichtlich der Blasendynamik zu erwarten, falls Pulsdauern von einigen hundert Nanosekunden anstelle einer Pulslänge von $1.7\mu\text{s}$, wie sie zur Zeit in klinischen Studien eingesetzt werden, benutzt würden.

Bei der reflektometrischen Blasendetektion in RPE-Explantaten vom Schwein wurde festgestellt, daß die Blasenlebensdauer an der Blasenbildungsschwelle mit der Pulslänge ansteigt. Bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von 12ns wurde von Rögner et al. an der Blasenbildungsschwelle eine Blasenlebensdauer von 200ns gemessen, während bei einer Bestrahlungspulsdauer von $6\mu\text{s}$ die schwellennahen Blasen eine Lebensdauer oberhalb von einer Mikrosekunde besaßen [194]. Bei einer Bestrahlungsdauer von 3ms wurden von Schüle in RPE-Explantaten schwelennah sogar Blasenlebensdauern von $20\mu\text{s}$ reflektometrisch detektiert [207, 212]. Bevor es bei Pulsdauern von einigen Millisekunden zur Blasenbildung kommt, werden die RPE-Zellen allerdings thermisch geschädigt. Bei der Bestrahlung um isolierte Melanosomen konnte ebenfalls festgestellt werden, daß die Blasenlebens-

dauer an der Blasenbildungsschwelle bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von 240ns kürzer ist als bei Pulslängen von $1.8\mu\text{s}$ (Abb. 5.25). Die Zunahme der Blasenlebensdauer an der Blasenbildungsschwelle mit der Pulslänge läßt sich durch die Wärmeleitung während des Laserpulses aus den Melanosomen in das Cytoplasma erklären. Bei Verwendung längerer Pulsdauern entsteht eine dickere thermische Randschicht um die Melanosomen.

Für die SRT, bei der die Bestrahlungszeiten im Mikrosekundenbereich durch das Scannen eines kontinuierlich emittierenden Lasers realisiert werden, ist es aufgrund der begrenzten zur Verfügung stehenden Laserleistung oftmals hilfreich die Scan-Geschwindigkeit zu verlangsamen [37], so daß die Expositionszeit auf mehrere Mikrosekunden ansteigt, was zu größeren Blasen führt, da während des Laserpulses mehr Wärme in die Partikelumgebung diffundiert. Bei welcher Pulslänge die RPE-Selektivität aufgrund der Bildung von Blasen, die deutlich größer sind als die RPE-Zelle, verloren geht ist noch nicht bekannt. Hier könnte die Bestimmung des “therapeutischen Fensters” in Kombination mit der Anfertigung von Histologien einen Anhaltspunkt geben.

Bei stark überschwelliger Bestrahlung ist in dem Interferenzsignal (Abb. 6.4) eine zeitliche Asymmetrie der Blasendynamik erkennbar, bei der die Blasenexpansion deutlich länger andauert als die Blasenkontraktion (Abb. 6.7). Mögliche Ursachen dafür können vielfältig sein: So berechneten Strauss et al., daß bei einem Ensemble von laserinduzierten Kavitationsblasen, die sich durch hydrodynamische Kopplung der einzelnen Blasen innerhalb des Ensembles gegenseitig beeinflussen, die Kollapszeit kürzer ist als die Expansionsdauer der Blasen [230]. Dieses Ergebnis wird auch durch experimentelle Beobachtungen von Paltauf und Schmidt-Kloiber zur Blasenbildung unter Druckeinschlußbedingungen gestützt [179]. Da die Blasen dabei allerdings nicht wie in der vorliegenden Arbeit rein thermisch erzeugt wurden und außerdem bei der Modellierung kein Zusammenwachsen von Blasen berücksichtigt wurde, kann das Modell nicht direkt mit den experimentellen Beobachtungen der vorliegenden Arbeit verglichen werden. Außerdem entsteht hier die Blase im RPE-Explantat, das von einer Kochsalzlösung umgeben ist, so daß die Blasendynamik an einer Gewebegrenzfläche stattfindet. Dieses könnte einen räumlich asymmetrischen Blasen kollaps bewirken [251], der allerdings die Kollapszeit im Vergleich zur Expansionszeit verlängern würde [253]. In den Experimenten zur vorliegenden Arbeit ist jedoch die Kollapszeit kürzer als die Expansionszeit. Inwiefern Zellbestandteile wie das Cytoskelett der RPE-Zellen die Blasendynamik im Vergleich zu Wasser beeinflussen, ist nicht bekannt. Für die Cornea des Auges (Abb. 2.1) wurde beispielsweise nachgewiesen, daß die extrazelluläre Matrix, die einen hohen Anteil am cornealen Gewebe hat und unter anderem aus Kollagenfasern besteht [256], die Blasendynamik infolge eines optischen Durchbruchs stark beeinflusst [251, 254]. Die resultierenden Blasen sind kleiner als unter vergleichbaren Bedingungen in Wasser erzeugte Blasen. Zudem bilden sich stabile Blasen mit Kollapszeiten von vielen Minuten.

Betrachtet man für eine Bestrahlung mit $\tau_{\text{Laser}} = 350\text{ns}$ den lateralen Scha-

densradius in Abb. 6.10, so erkennt man, daß oberhalb der doppelten Schwellenwertbestrahlung für die Blasenbildung die laterale Schadensreichweite über die bestrahlten Zellen hinausgeht. Mit Hilfe der Rayleigh-Beziehung wurde in Abschnitt 6.2 und 6.3 abgeschätzt, daß bei einer Bestrahlung, die doppelt so groß ist wie an der Blasenbildungsschwelle, der Blasendurchmesser etwa dem Durchmesser des Bestrahlungsflecks entspricht. Bei einer Bestrahlung oberhalb der doppelten Schwellenwertbestrahlung für die Blasenbildung ist somit eine Präzision der laserinduzierten Effekte auf zellulärer Ebene mit Sicherheit nicht mehr gegeben, da in lateraler Richtung auch nicht bestrahlte Zellen geschädigt werden.

Die obige Abschätzung des Bestrahlungsbereiches, in dem man eine Selektivität der Lasereffekte auf zellulärer Ebene erwarten kann, wird durch einen Vergleich mit der Breite des therapeutischen Fensters bei den tierexperimentellen SRT-Studien bestätigt: In einer mit zahlreichen Histologien untermauerten Studie am Kaninchen, nimmt das therapeutische Fenster, das durch das Bestrahlungsschwellenverhältnis von irreversibler Photorezeptorschädigung zur RPE-Schädigung definiert ist, bei repetierender Bestrahlung (100 Pulse bei 500Hz) mit Laserpulsdauern von 200ns und $5\mu\text{s}$ einen Wert von etwa 2 an [195]. Man erhält also für das therapeutische Fenster ähnliche Werte wie in den Untersuchungen zur Präzision der laserinduzierten Zellschädigung in RPE-Explantaten.

6.5.4 Interferometrische Detektion der Zellschädigung

Es zeigte sich in den Experimenten zur interferometrischen Detektion der zu einer Zellschädigung führenden Blasen in RPE-Explantaten, daß bei Verwendung von Einzelpulsen im ex vivo RPE-Modell anhand eines einfachen Algorithmus in über 90% der Bestrahlungen eine korrekte Vorhersage für das Auftreten von Zellschädigung möglich war (Tab. 6.2). Auch die optoakustische Detektion der Mikroblasen ist bei Bestrahlungsfleckdurchmessern von etwa $50\mu\text{m}$ möglich (Tab. 6.2). Beim optoakustischen Nachweis der Zellschädigung überlagern sich das thermoelastische Signal, das mit dem Bestrahlungsfleckdurchmesser zunimmt, und das von den transienten Blasen resultierende Drucksignal, so daß mit Hilfe der Optoakustik bei den klinisch verwendeten Bestrahlungsfleckdurchmessern von $160 - 200\mu\text{m}$ eine Detektion der Zellschädigung nur über eine Auswertung der Signalfluktuationen bei repetierender Bestrahlung möglich ist (Abschnitt 2.1.1). Die Interferometrie erlaubt hingegen eine Blasendetektion auch bei Einzelpulsbestrahlung.

Bei der reflektometrischen Blasendetektion wird nur eine Amplitudenänderung des von der Blase reflektierten Lichts detektiert. Diese Amplitudenänderungen sind besonders an der Blasenbildungsschwelle sehr klein, was den zuverlässigen Blasennachweis erschwert [194]. Bei der Interferometrie erhält man beim Auftreten von Blasen charakteristische Interferenzsignale, deren Amplitude sich deutlich von dem Meßsignal unterscheidet, das auftritt, wenn keine Blasen vorhanden sind (vgl. Abb. 6.5 und 6.11). Zusätzlich zur Amplitudenänderung lassen

sich beim Auftreten von Blasen noch charakteristische Änderungen im Frequenzspektrum des Interferenzsignals beobachten (vgl. Abb. 6.4, 6.5 und 6.11), was als zusätzliches Hilfsmittel für die Blasendetektion herangezogen werden könnte. Aufgrund des Auftretens von charakteristischen Amplituden- *und* Frequenzmodulationen sollte besonders an der Blasenbildungsschwelle eine interferometrische Blasendetektion zuverlässiger als eine rein reflektometrische Blasendetektion, bei der nur eine Amplitudenveränderung gemessen wird.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, daß die Interferometrie prinzipiell zum Schadensnachweis *in vitro* geeignet ist. Daher könnte dieses Verfahren möglicherweise auch *in vivo* zur Dosimetrie bei der SRT dienen. Das interferometrische Verfahren sollte auch für den Schadensnachweis bei der SRT mit Einzelpulsen anstelle von Pulszügen geeignet sein. Es wird im Gegensatz zur Optoakustik kein modifiziertes Kontaktglas benötigt. Inwieweit *in vivo* die Lichtstreuung an den Photorezeptoren (bzw. bei Katarakt zusätzlich an der Linse) das interferometrische Signal beeinflussen, müssen weitere Experimente zeigen. Insbesondere wird zu untersuchen sein, ob ein Schadensnachweis bei einer Bestrahlung des Interferometerlasers, dessen Intensität unterhalb der MZB (maximal zulässige Bestrahlung) liegt, möglich ist.

Um die klinische Eignung des interferometrischen Verfahrens für eine Echtzeit-Dosimetriekontrolle zu evaluieren, soll ein zunächst ein Faserinterferometer an eine Spaltlampe adaptiert werden. Dazu soll das Licht aus einem Arm des Faserinterferometers mit Hilfe eines dichroitischen Strahlteilers in der Spaltlampe kollinear in den Strahlengang des Behandlungslasers eingekoppelt werden. Eine Realisierung als Faserinterferometer hat gegenüber dem Interferometer aus dieser Arbeit den Vorteil, daß es wesentlich kompakter aufgebaut werden kann und durch Führung des Interferometerlichts in Fasern wesentlich unempfindlicher gegenüber mechanischen Vibrationen sein sollte. Dieses Vorhaben ist bereits mit dem *Innovationspreis zur Förderung der Medizintechnik 2004* des Bundesministerium für Forschung und Bildung ausgezeichnet worden und soll in Kürze umgesetzt werden.

Es ist zu erwarten, daß Laserbehandlungen an der Retina zukünftig vermehrt mit einem Scanning Digital Ophthalmoskop (SDO, vgl. S. 17) durchgeführt werden. Bei Verwendung eines SDO wird der Augenhintergrund mit einem konfokalen Laserscanning-Verfahren abgetastet und in Echtzeit auf einem Bildschirm dargestellt. Zur Laserbehandlung wird ein zusätzlicher Laser in das SDO eingekoppelt. Die Behandlung kann indirekt vom Bildschirm aus gesteuert werden. Für die SRT ergibt sich die Möglichkeit, die nicht sichtbaren Laserherde auf dem Bildschirm zu kennzeichnen und damit dem Arzt eine weitere Hilfestellung bei der Behandlungsdurchführung zu geben. Bei Verwendung eines SDO wird ein berührungsloses Verfahren, das kein Kontaktglas voraussetzt, zur on-line Dosimetriekontrolle bei der SRT notwendig. Das optoakustische Verfahren aus Abschnitt 2.1.1 wäre also gänzlich ungeeignet. Hier könnte ein interferometrisches Verfahren zum Einsatz kommen.

Kapitel 7

Folgerungen und Ausblick

Mit Hilfe von Mikroabsorbern, die durch gepulste Laserstrahlung selektiv erhitzt werden, können oberhalb einer Bestrahlungsschwelle Mikroblasen erzeugt werden. Der Durchmesser dieser Blasen liegt etwa in der gleichen Größenordnung wie der der Absorber. Mit diesem Verfahren lassen sich Effekte erzielen, deren räumliche Ausdehnung sehr viel kleiner ist als der mit dem Laser bestrahlte Bereich. Die erzielte Präzision der blaseninduzierten Effekte ist bei geeigneter Absorbergröße deutlich größer als bei ultraschallinduzierten Kavitationsblasen, für die an der Blasenbildungsschwelle Blasenradien im Bereich von $R_{B,max} = 10\mu m$ bis $100\mu m$ beobachtet wurden [264], oder einem optischen Durchbruch mit gütegeschalteten Lasern ($\tau_{Laser} = 6ns$, $\lambda = 532nm$), für den sich auch bei Fokussierung mit großer $NA = 0.9$ an der Blasenbildungsschwelle Blasenradien von etwa $R_{B,max} \approx 50\mu m$ ergaben [246]. Nur mit Femtosekundenpulsen lassen sich subzelluläre Effekte erzielen [124]. Ein optischer Durchbruch ist im Gegensatz zur selektiven Photothermolyse allerdings nicht auf Absorber angewiesen, sondern läßt sich auch im transparenten Medium erzeugen.

Für präzise durch Mikroblasen vermittelte laserinduzierte Effekte ist eine reproduzierbare und kontrollierbare Blasengröße von großer Bedeutung, da die Blasengröße eng mit der Schadensreichweite im Gewebe korreliert. Deshalb wurde in dieser Arbeit die Blasengröße um Mikropartikel, die durch Laserstrahlung erhitzt wurden, als Funktion der Bestrahlungsparameter gemessen. In den Experimenten zur Blasenbildung um isolierte Mikropartikel wurde bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von $12ns$ eine starke Abhängigkeit der Blasengröße von der Laserpulsenergie beobachtet. Dieses Phänomen könnte in vivo aufgrund von Unterschieden in Lichtabsorption und -streuung im Gewebe oder Schwankungen in der applizierten Laserpulsenergie leicht zu einer großen Streuung der Blasengröße um die einzelnen Absorber führen, so daß zu große Blasen unerwünschte Schädigungen des umliegenden Gewebes verursachen.

Bei längeren Pulsdauern von $240ns$ und $1.8\mu s$ ist die Größe der Blasen, die um isolierte Partikel entstehen, weitgehend unabhängig von der applizierten Bestrahlung. Bei steigender Bestrahlung konnte man anstelle eines Anwachsens der Bla-

sengröße das Auftreten mehrfacher Blasenoszillationen beobachten. Dieses Phänomen der Blasenoszillationen erweist sich bei Anwendungen, für die eine präzise Schädigung in der Umgebung des Absorbers wünschenswert ist, als vorteilhaft. Die Unabhängigkeit der Blasengröße von der Bestrahlung könnte unerwünschten Kollateralschaden durch zu große Blasen bei überschwelliger Bestrahlung vermeiden. Die Größe der oszillierenden Blasen nahm in den Experimenten aufgrund von Wärmeleitung in die Umgebung mit steigender Pulsdauer zu, so daß die für das jeweilige Verfahren gewünschte Blasengröße in einem gewissen Bereich durch eine Änderung der applizierten Laserpulslänge erzielt werden könnte.

Neben der Untersuchung der Blasenbildung könnte auch eine kurzzeitphotographische Beobachtung der thermisch induzierten Brechungsindexänderungen in der Umgebung der lasererhitzten Partikel mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie hilfreich sein. Da die thermische Beeinflussung des Brechungsindex in der Umgebung des Partikels eventuell einen deutlich größeren Raumbereich erfaßt als die Blasenoszillationen, könnte auf diese Weise sogar eine Lokalisierung der Nanopartikel, die für die partikelbasierte Zellchirurgie und in der optoakustischen Tomographie eingesetzt werden, ermöglicht werden [272, 271].

Die in dieser Arbeit erstmals systematisch gemessene laserinduzierte Blasendynamik um Mikropartikel könnte zur Überprüfung von Blasenmodellen, die bisher noch nicht stattgefunden hat, dienen. Zudem liefern die in dieser Arbeit ermittelten Nukleationstemperaturen einen wichtigen Eingabeparameter für Blasenmodelle, denn in der Literatur findet man Blasenmodelle, die im Fall von RPE-Melanosomen in wässriger Umgebung als Nukleationstemperatur entweder die Gleichgewichtsverdampfungstemperatur [96, 95], die Spinodale [189] oder die kritische Temperatur annehmen [75]. Hier liefern die Experimente dieser Arbeit Aufschluß. Sie zeigen, daß eine Überhitzung der Partikeloberfläche über die Gleichgewichtsverdampfungstemperatur der Normalfall ist. Dabei werden – je nach Oberflächenbeschaffenheit der Partikel – unterschiedliche Nukleationstemperaturen bis zur Spinodalen erreicht.

Dieses Ergebnis ist auch für die Gewebeablation von Bedeutung: Die Gewebematrix bewirkt bei der Laserablation nicht nur einen mechanischen Einschluß [256], sondern ermöglicht auch eine heterogene Nukleation mit einer Absenkung der Nukleationstemperatur unter die Spinodale. In welchem Ausmaß das z. B. an Kollagenfasern, Zellkernen oder anderen Gewebeinhomogenitäten geschieht, muß allerdings noch untersucht werden.

Aus der Untersuchung der Blasendynamik um isolierte Mikropartikel und im RPE ergeben sich verschiedene Folgerungen für die in Kap. 2 erwähnten biomedizinischen Anwendungen:

Nanopartikel-Zellchirurgie

Im Rahmen der Nanopartikel-Zellchirurgie möchte man unter anderem die Zellmembran durch laserinduzierte Blasenbildung vorübergehend permeabilisieren,

um Stoffe bzw. DNA in eine Zelle einzuschleusen, für welche die Zellmembran nicht durchlässig ist [184]. Hierfür ist eine präzise Kontrolle der Blasengröße wichtig, denn bei diesen Verfahren können zu große Blasen zu einer irreversiblen Zerstörung der Zellmembran und damit zum Zelltod führen. Auch bei der Verwendung von Nanopartikeln als Kontrastmittel für die optoakustische Tomographie ist eine Kenntnis der Blasengröße zur Abschätzung der Zellschädigung hilfreich.

Da die Untersuchung der laserinduzierten, transienten Blasenbildung um Nanopartikel mit experimentellen Verfahren kaum möglich ist, greift man häufig auf Modelle zurück. Diese Blasenmodelle sind oftmals skalierbar [228], d. h. sowohl für die Blasenbildung um Nanopartikel als für die Blasenbildung um Mikropartikel verwendbar. Die in dieser Arbeit untersuchte Blasendynamik um lasererhitzte Mikropartikel kann zur Überprüfung von Blasenmodellen genutzt werden.

Partikel als Mikroreaktoren

Die in dieser Arbeit bestimmten Nukleationstemperaturen an Partikeloberflächen zeigen, daß – je nach Oberflächenbeschaffenheit – Überhitzungen von Wasser bis nahe der Spinodalen möglich sind. Die Kenntnis der Nukleationstemperatur liefert verbesserte Abschätzungen zur Bestimmung von Raten für den Ablauf chemischer Reaktionen wie der Protein-Denaturierung [190] auf Partikeloberflächen bei kurzen Heizzeiten, die durch Laserbestrahlungen unterhalb der Blasenbildungsschwelle erreicht werden soll. Mit Hilfe der Nukleationstemperatur kann umgekehrt bei bekannten Reaktionsraten abgeschätzt werden, ob eine spezielle chemische Reaktionen überhaupt ohne Blasenbildung auf der Partikeloberfläche oder im Partikel ablaufen kann. Einfache Abschätzungen zeigen, daß während der Blasenbildung aufgrund der thermischen Isolation des Partikels durch den Wasserdampf besonders hohe Temperaturen im Partikel erreicht werden können. Diese könnten ebenfalls für eine räumlich auf die Partikeloberfläche begrenzte chemische Reaktionen ausgenutzt werden, falls das chemische Agens nicht durch die Blasenbildung von der Oberfläche entfernt wird.

Selektive Retina-Therapie

Bei der Laserbestrahlung während der Selektiven Retina-Therapie (SRT) liegt im dicht pigmentierten retinalen Pigmentepithel (RPE) eine etwas andere Situation als bei isolierten Mikropartikeln vor: Hier können die Blasen, die um einzelne Melanosomen entstehen, zusammenwachsen. In den Experimenten an einem ex vivo RPE-Modell war das Auftreten von Blasen eine notwendige Bedingung für den Zelltod. Die Blasenlebensdauer bzw. die Blasengröße nahm mit steigender Bestrahlung zu. Es zeigte sich, daß sich die Blasendynamik in RPE-Explantaten bei einer Bestrahlung mit Pulsdauern von 350ns nicht gravierend von der Dynamik bei der klinisch verwendeten Pulsdauer von $1.7\mu\text{s}$ unterscheidet, so daß

möglicherweise bei der SRT auch kürzere Laserpulsdauern von wenigen hundert Nanosekunden, die sich mit kommerziell erhältlichen Lasersystemen realisieren lassen, verwendet werden können. Hierfür müßte allerdings zunächst die Übertragbarkeit des ex vivo Modells auf die SRT verifiziert werden. Noch kürzere Pulse mit Dauern von wenigen Nanosekunden führen leicht zu subretinalen Blutungen [30] und kommen daher für die SRT nicht in Frage.

Die experimentellen Ergebnisse zur Nukleation um isolierte Melanosomen legen nahe, daß die Melanosomen bei der Laserbestrahlung beschädigt werden. Eine Schädigung der Proteinmembran der Melanosomen begünstigt die Bildung von freien Radikalen und könnte dem Schadensmechanismus bei der SRT zusätzlich eine zytotoxische Komponente hinzufügen [79]. Die Bildung von freien Radikalen um isolierte Melanosomen ließe sich mit Hilfe von Fluoreszenzmarkern nachweisen und zur Blasenbildung um isolierte Melanosomen korrelieren. Zudem könnte mit rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen das morphologische Ausmaß einer Melanosomenschädigung infolge der Laserbestrahlung und Blasenbildung untersucht werden [79].

Der interferometrische Blasennachweis korreliert im ex vivo Modell gut mit dem Auftreten von Zelltod, der mit Hilfe eines Vitalitäts-Assays nachgewiesen wurde. Dieses vielversprechende interferometrische Verfahren könnte möglicherweise auch in vivo zur Dosimetrie bei der SRT benutzt werden und ist deshalb bereits mit dem *Innovationspreis zur Förderung der Medizintechnik 2004* des Bundesministeriums für Bildung und Forschung ausgezeichnet worden. Bei Verwendung einer Laser-Spaltlampe könnte ein Faserinterferometer an diese adaptiert werden, indem das Licht aus einem Arm des Michelson-Faserinterferometers mit Hilfe eines dichroitischen Strahlteilers kollinear in den Strahlengang des Behandlungslasers eingekoppelt wird. Dieses Vorhaben soll in Kürze realisiert werden. Ein Faserinterferometer kann platzsparend aufgebaut werden und sollte wegen der Führung des Interferometerlichts in Fasern unempfindlich gegenüber mechanischen Vibrationen sein. Das Interferometer sollte mit einer Lichtwellenlänge im nicht sichtbaren Bereich (z. B. 830nm) betrieben werden, um den Patienten mit dem Interferometerlicht nicht zu irritieren.

Eine auf optischen Methoden basierende Dosimetriekontrolle hätte in diesem Fall gegenüber der optoakustischen Methode den Vorteil, daß kein speziell modifiziertes Kontaktglas, in das ein Schallwandler integriert ist, benötigt wird. Zudem könnte die Interferometrie im Gegensatz zur Optoakustik auch bei der Applikation von Einzelpulsen anstelle von Pulszügen für einen Blasennachweis geeignet sein. Dabei könnten Lichtquellen mit kurzen Kohärenzlängen von wenigen Millimetern verwendet werden, so daß nur ein Interferenzsignal aus dem Bereich der Retina gemessen wird. Allerdings müßte zunächst in vivo überprüft werden, inwieweit die Lichtstreuung an den Photorezeptoren, die sich direkt oberhalb der RPE-Schicht befinden, das Interferenzsignal beeinflusst. Es müßte also in vivo überprüft werden, ob trotz dieser störenden Einflüsse eine interferometrische Blasendetektion nahe der Bestrahlungsschwelle für eine RPE-Schädigung mit einer

Intensität des Abfragelasers unterhalb der maximal zulässigen Bestrahlungswerte (MZB) möglich ist.

Zukünftig ist zu erwarten, daß für eine Laserbehandlung am Augenhintergrund vermehrt Scanning Digital Ophthalmoskope (SDO) (vgl. S. 17) eingesetzt werden. Bei Verwendung eines SDO wird der Augenhintergrund mit einem konfokalen Laserscanning-Verfahren abgetastet und in Echtzeit auf einem Bildschirm dargestellt. Die Laserbehandlung erfolgt mit einem zusätzlichen Laser, der in das SDO eingekoppelt wird. Die Behandlung kann dann indirekt vom Bildschirm aus gesteuert werden. Dabei ergibt sich auch die Möglichkeit, die bei der SRT entstehenden, nicht sichtbaren Laserherde auf dem Bildschirm zu kennzeichnen und damit dem Arzt eine weitere Hilfestellung bei der Durchführung der SRT zu geben. Da für ein solches Verfahren kein Kontaktglas benötigt wird, ist bei der SRT anstelle der Optoakustik ein berührungslos arbeitendes Verfahren wie die Interferometrie zwingend notwendig für die Dosimetriekontrolle. Störende Reflexe von den vorderen Augenabschnitten würden bei Verwendung eines SDO durch die konfokale Detektionsgeometrie unterdrückt werden.

Kapitel 8

Zusammenfassung

Durch Laserbestrahlung unter thermischen Einschlußbedingungen lassen sich nach dem Prinzip der selektiven Photothermolyse in einer stark absorbierenden Zielstruktur, die sich in nahezu transparenter Umgebung befindet, präzise laserinduzierte Effekte erzeugen. Diese hängen hauptsächlich von der Größe der Absorber ab. Bei Überschreiten der Verdampfungstemperatur in der Umgebung der Zielstruktur kommt es zu einer transienten Blasenbildung, so daß letztlich die Blasengröße den Schadensradius definiert. Bei der Selektiven Retina-Therapie (SRT) wird die therapeutisch beabsichtigte selektive Schädigung des retinalen Pigmentepithels (RPE), einer stark pigmentierten, monozellulären Schicht am Augenhintergrund, durch transiente Mikroblasen vermittelt. Diese nukleieren an den lasererhitzten Pigmenten des RPE (Melanosomen). Dabei soll eine irreversible Schädigung der direkt an das RPE angrenzenden Photorezeptoren vermieden werden.

Um zu einem besseren Verständnis der laserinduzierten Gewebeschädigung bei der SRT zu gelangen und um insbesondere die Reichweite der Schädigung in Abhängigkeit von den verwendeten Bestrahlungsparametern abzuschätzen, wurde in dieser Arbeit die Blasendynamik sowohl um isolierte Mikroabsorber als auch in RPE-Explantaten untersucht. Im ersten Teil der Arbeit wurde die laserinduzierte Blasenbildung um isolierte Melanosomen (Durchmesser $\varnothing \approx 1\mu m$, thermische Einschlußzeit $\tau_T^{H_2O} \approx 440ns$), Goldpartikel ($\varnothing \approx 0.5\mu m$, $\tau_T^{H_2O} \approx 109ns$) und magnetische Silikatpartikel ($\varnothing \approx 1.5\mu m$, $\tau_T^{H_2O} \approx 3930ns$) in Wasser auf mikroskopischer Skala erfaßt. Die Bestrahlung erfolgte durch Laserpulse bei einer Wellenlänge von $532nm$ bzw. $527nm$ mit Pulsdauern von $12ns$, $240ns$ und $1.8\mu s$. Zur Untersuchung der Blasendynamik wurden zwei Methoden benutzt. Die Blasenausdehnung wurde mit Hilfe der Kurzzeit-Mikrophotographie bestimmt. Die Blasenlebensdauern wurden mit einem Abfragelaser, dessen Transmission durch die Partikelumgebung gemessen wurde, ermittelt.

Aus den gemessenen Bestrahlungsschwellenwerten für die Blasenbildung konnte durch thermische Modellierung eine mittlere Absorptionseffizienz von $Q_{abs} =$

0.46 für Melanosomen ermittelt werden, d. h. 46% des auf das Melanosom einfallenden Lichts werden absorbiert.

Aus der Abhängigkeit der Blasenbildungsschwellen von der Suspensionstemperatur lassen sich für die Melanosomen und die Silikatpartikel die Temperaturen, die für einen Phasenübergang des Wassers an der Partikeloberfläche notwendig sind, extrapolieren. Für die Goldpartikel wurde die Nukleationstemperatur durch eine thermische Modellierung der Blasenbildungsschwellen als Funktion der Laserpulsdauer bestimmt. Die Nukleationstemperaturen hängen innerhalb der Fehlergrenzen nicht von der Laserpulsdauer ab. Sie sind allerdings sehr stark von der verwendeten Partikelart abhängig. So erhält man für die Goldpartikel Nukleationstemperaturen, die nahe der Spinodalen von $T_{sp} \approx 309^\circ\text{C}$ liegen, während für die magnetischen Silikatpartikel Nukleationstemperaturen von $T_{Nuk} \approx 250^\circ\text{C}$ und für die Melanosomen $T_{Nuk} \approx 150^\circ\text{C}$ ermittelt wurden. Aus dem Vergleich dieser Temperaturen mit der klassischen Nukleationstheorie läßt sich schließen, daß bei den Silikatpartikeln eine inhomogene Nukleation, die durch an der Oberfläche vorhandene submikroskopische Dampf- oder Gasanlagerungen hervorgerufen wird, am wahrscheinlichsten ist. Für die Goldpartikel kommen sowohl eine inhomogene, eine heterogene als auch eine homogene Nukleation in Frage. Die heterogene bzw. homogene Nukleation wird durch thermodynamische Dichtefluktuationen in der Flüssigkeit an der Partikelgrenzfläche bzw. im Flüssigkeitsvolumen hervorgerufen. Die an den Melanosomen gemessene Nukleationstemperatur ist zu niedrig, um sie durch die Nukleationstheorie zu erklären. In diesem Fall findet möglicherweise eine chemische Reaktion des erhitzten organischen Materials im Melanosom statt, bei der Gas entsteht, welches die Nukleation schon bei diesen niedrigen Temperaturen begünstigt. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, daß bei einer Bestrahlung, die etwa dreifach oberhalb der Blasenbildungsschwelle liegt, stabile Blasen, die nicht-kondensierbares Gas enthielten, beobachtet wurden.

Die Blasendynamik wurde hauptsächlich für die Melanosomen und die Goldpartikel untersucht: Die simultane Messung von Blasenlebensdauer und Blasengröße ergibt ein vollständiges Bild der Blasendynamik. Zusätzliche interferometrische Messungen der Bewegung der reflektierenden Blasengrenzfläche zeigen, daß Blasenexpansion und -kontraktion zeitlich symmetrisch verlaufen. Zwischen der Blasenlebensdauer und der maximalen Blasengröße, existiert eine Proportionalität, die der trägheitsbegrenzten Blasendynamik entspricht. Die Blasendynamik zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der zur Bestrahlung verwendeten Laserpulsdauer. Für eine Pulsdauer von 12ns steigt bei den Melanosomen der Blasendurchmesser zum Zeitpunkt der maximalen Blasenausdehnung linear mit der applizierten Bestrahlung von etwa $1\mu\text{m}$ an der Blasenbildungsschwelle ($120\text{mJ}/\text{cm}^2$) bis zu $8\mu\text{m}$ bei $300\text{mJ}/\text{cm}^2$ an. Die über einen Zeitraum von etwa 50ns nach der Nukleation gemittelte Blasenexpansionsgeschwindigkeit \dot{R}_B nimmt linear von etwa $10\text{m}/\text{s}$ bei einer Bestrahlung von $180\text{mJ}/\text{cm}^2$ auf bis zu $85\text{m}/\text{s}$ bei $1\text{J}/\text{cm}^2$ zu. Bei den Goldpartikeln wächst für eine Pulsdauer von 12ns der Blasendurchmesser von $0.5\mu\text{m}$ bei etwa $100\text{mJ}/\text{cm}^2$ auf $5\mu\text{m}$ bei $750\text{mJ}/\text{cm}^2$. Für Pulsdauern von

240ns und 1.8 μ s führt eine höhere Bestrahlung nicht zu größeren Blasen, sondern zu mehrfachen Blasenoszillationen während des Laserpulses. Der maximale Blasendurchmesser ist für diese Pulsdauern nahezu unabhängig von der applizierten Bestrahlung. Man beobachtet bei den Melanosomen und den Goldpartikeln typische Blasendurchmesser von etwa 2 μ m bei einer Pulsdauer von 240ns bzw. etwa 3.5 μ m bei 1.8 μ s.

Qualitativ lassen sich die Beobachtungen zur Blasendynamik bei Pulsdauern von 240ns und 1.8 μ s folgendermaßen erklären: Sobald die Nukleationstemperatur erreicht ist, bildet sich eine Blase, die innerhalb von wenigen Nanosekunden das Partikel vollständig umgibt und damit thermisch isoliert. Der Hauptanteil der Energie für das Blasenwachstum stammt aus der Verdampfung der vor der Nukleation durch Wärmediffusion erhitzten Randschicht um die Blase. Bei längeren Pulsen ist die thermische Randschicht wegen der längeren Heizdauer bis zur Nukleation dicker. Dadurch läßt sich erklären, daß die Blasengröße bei Pulsdauern von 1.8 μ s geringfügig größer ist als bei 240ns. Wegen der thermischen Isolation vom Partikel kollabiert die Blase unabhängig von der inzwischen erreichten Absorbieretemperatur. Nach dem Blasen kollaps kühlt sich das Partikel durch den thermischen Kontakt mit dem Wasser ab. Bei Andauern des Laserpulses können nach einer Aufheizzeit weitere Blasenzyklen stattfinden.

Bei Bestrahlung mit Pulsdauern von 12ns findet die thermische Entkopplung des Partikels von der Flüssigkeit vermutlich wegen der endlichen Blausenausdehnungsgeschwindigkeit während des Laserpulses nicht hinreichend schnell statt, so daß mit zunehmender Bestrahlung mehr Wärme ins Wasser diffundieren kann und die Blasengröße mit der Bestrahlung ansteigt. Auf diese Weise können mit entsprechender Bestrahlung bei Pulsdauern von 12ns deutlich größere Blasen erzeugt werden als bei der Bestrahlung mit längeren Pulsen, was zu einer unerwünschten Vergrößerung des Schadensradius bei der Selektiven Retina-Therapie führen kann.

Die erstmals systematisch gesammelten Daten zur laserinduzierten Blasendynamik um Mikropartikel liefern Parameter wie Blasengrößen und Nukleationstemperaturen, die zur Verifikation von Blasenmodellen bzw. als Parameter in Blasenmodellen genutzt werden können. Zudem stellen die Partikel ein gutes Modellsystem für Phasenübergänge an erhitzten Festkörpergrenzflächen auf mikroskopischer Skala bei Heizraten von 10⁸K/s bis 10¹⁰K/s dar, so daß die Untersuchungen auch Anknüpfungspunkte zu weiteren Verfahren wie der Nanopartikel-Zellchirurgie, der Nutzung von Partikeln als Mikroreaktoren, dem Steam Laser Cleaning und dem Optical Limiting bieten.

Bei der Selektiven Retina-Therapie liegt aufgrund der dichten Pigmentierung des retinalen Pigmentepithels (RPE) eine andere Situation als bei der Bestrahlung von isolierten Mikropartikeln vor. Im RPE muß zusätzlich die Wechselwirkung zwischen den Blasen, die um die einzelnen Melanosomen entstehen, berücksichtigt werden. Man kann aus den Kurzzeitphotographien von bestrahlten Zellfragmenten entnehmen, daß ein Zusammenwachsen der Mikroblasen zu größeren Blasen

als bei den Experimenten mit isolierten Partikeln führen kann. Die Blasenlebensdauer wurde in einem ex vivo RPE-Modell mit optoakustischen und interferometrischen Methoden untersucht. Dabei zeigte sich zwischen den zur Bestrahlung verwendeten Pulsdauern von 350ns und $1.7\mu\text{s}$ kein gravierender Unterschied hinsichtlich der Blasendynamik. Die Blasenlebensdauer stieg näherungsweise linear mit der applizierten Bestrahlung, die im Bereich von $100\text{mJ}/\text{cm}^2$ bis $600\text{mJ}/\text{cm}^2$ lag, an. Oberhalb der doppelten für die Blasenbildung notwendigen Bestrahlung konnte zudem aus den interferometrischen Messungen auf eine asymmetrische Blasendynamik geschlossen werden. Die Blasenexpansion, bei der benachbarte Blasen zusammenwuchsen, dauerte deutlich länger an als die Blasenkontraktion.

Bei Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf humanes RPE in vivo sollte aufgrund der ähnlichen Blasendynamik auch der Einsatz von Laserpulsdauern von wenigen hundert Nanosekunden, die mit kommerziell erhältlichen Lasersystemen realisierbar sind, anstelle der derzeit klinisch verwendeten Mikrosekundenpulse ($\tau_{\text{Laser}} = 1.7\mu\text{s}$) möglich sein. Bei noch kürzeren Pulsen mit einer Dauer von wenigen Nanosekunden belegen in vivo Studien die Gefahr von subretinalen Blutungen, die möglicherweise mit der veränderten Blasendynamik zusammenhängen, welche bei der Bestrahlung von isolierten Melanosomen mit 12ns Pulsen beobachtet wurde.

An der Bestrahlungsschwelle für laserinduzierten Zelltod, die mit Hilfe eines Vitalitäts-Assays bestimmt wurde, ergab sich aus der interferometrischen Blasen-detektion in über 90% der Fälle eine richtige Vorhersage für das Auftreten von Zelltod, so daß ein für das Auge berührungsfreies interferometrisches Verfahren zur Dosimetriekontrolle bei der SRT denkbar ist. Dieses würde die klinische Anwendbarkeit der SRT wesentlich verbessern. Zur Zeit können die bei der SRT therapeutisch erwünschten selektiven RPE-Defekte wegen ihrer ophthalmoskopischen Unsichtbarkeit nämlich nur mit Hilfe von aufwendigen Fluoreszenzangiographien, die nicht parallel zur Behandlung durchgeführt werden können, oder mit Hilfe der Optoakustik, die ein speziell modifiziertes Kontaktglas zur Behandlung voraussetzt, nachgewiesen werden.

A

Anhang

A.1 Materialeigenschaften

A.1.1 Mikropartikel

		Gold	Magnetit	Silikat	RPE-Melanosomen
Dichte	ρ [$kg\ m^{-3}$]	19320	5200 [141]	2200	1400 [78]
isobare Wärmekapazität	c_p [$J\ kg^{-1}\ K^{-1}$]	130	600 [218]	800	2550 [96]
Wärmediffusivität	κ [$m^2\ s^{-1}$]	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$2.2 \cdot 10^{-6}$ [141]	$4.6 \cdot 10^{-6}$	$1.4 \cdot 10^{-7}$ [247]
Schallgeschwindigkeit					
longitudinal	c_l [$m\ s^{-1}$]	3390 [234]	7100 [108]		
transversal	c_t [$m\ s^{-1}$]	1290 [234]			
vol. Wärmeausdehnungskoeffizient	β [K^{-1}]	$42.78 \cdot 10^{-6}$ [12]			
Grüneisen-Parameter	Γ	2.99 [12]			
Brechungsindex	m	$0.62 - 2.081i$ [111] 521nm	$2.50 - 0.652i$ [162] 530nm		
	m	$0.59 - 1.67i$ [106] 525nm in H_2O			
	m	$1.04 - 1.833i$ [111] 496nm	$2.48 - 0.689i$ [162] 490nm		
	m	$0.31 - 2.65i$ [106] 650nm in H_2O	$2.56 - 0.560i$ [162] 630nm		
Schmelztemperatur	T_s [$^{\circ}C$]	1064	1594		

Tabelle A.1: Materialeigenschaften der verwendeten Mikropartikel bei 20°C. Daten ohne Literaturzitat wurden aus dem CRC Handbook of Chemistry and Physics [141] entnommen. Der komplexe Brechungsindex m ist für Wellenlängen angegeben, die der Wellenlänge des Bestrahlungslasers (527nm/532nm), des Beleuchtungslasers (490nm) und des Abfragelasers (633nm) nahe kommen (Kap. 4).

A.1.2 Wasser

kritischer Druck	p_c	22.1MPa
kritische Temperatur	T_c	374.1°C
Siedetemperatur bei Normaldruck	$T_{sat}(p_0)$	100°C
spinodale Temperatur bei Normaldruck	$T_{sp}(p_0)$	309°C
spezifische Gaskonstante	R_{H_2O}	$462\frac{\text{J}}{\text{kg K}}$
Dichte (20°C)	ρ	$998\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
isobare Wärmekapazität (20°C)	c_p	$4180\frac{\text{J}}{\text{kg K}}$
Wärmediffusivität (20°C)	κ	$1.43 \cdot 10^{-7}\frac{\text{m}^2}{\text{s}}$
Schallgeschwindigkeit (20°C)	c_l	$1482\frac{\text{m}}{\text{s}}$
Brechungsindex (20°C)	n	1.33

Tabelle A.2: *Eigenschaften von Wasser.*

A.2 Temperaturabhängige Materialeigenschaften

A.2.1 Wasser

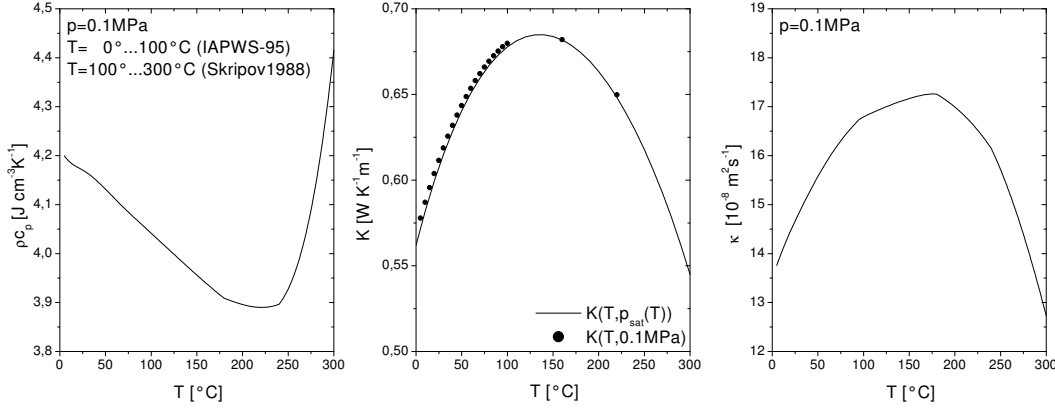


Abbildung A.1: Temperaturabhängige thermische Eigenschaften von flüssigem Wasser bei $p_0 = 0.1 \text{ MPa}$. **Links:** volumetrische isobare Wärmekapazität ρc_p nach IAPWS-95 [2], Daten für den metastabilen Bereich nach Skripov et al. [220]. Für die isobare Wärmekapazität c_p gilt $(\frac{\partial T}{\partial S})_p = \frac{T}{c_p}$, so daß an der Spinodalen wegen $(\frac{\partial T}{\partial S})_p = 0$ die Wärmekapazität divergiert $\lim_{T \rightarrow T_{\text{sp}}} c_p = \infty$ [47]. Die zugeführte Wärme führt dann nicht zu einer weiteren Temperaturerhöhung, sondern bewirkt die Phasenumwandlung. **Mitte:** Wärmeleitfähigkeit K nach IAPWS [3] mit Extrapolation in den metastabilen Bereich. Der extrapolierte Bereich stimmt gut mit den ebenfalls eingezeichneten Werten an der Sättigungslinie $p_{\text{sat}}(T)$ überein, was auf eine geringe Druckabhängigkeit der Wärmeleitfähigkeit von flüssigem Wasser hindeutet. **Rechts:** Wärmediffusivität $\kappa = K/\rho c_p$, die aus der volumetrischen Wärmekapazität ρc_p und aus der Wärmeleitfähigkeit K berechnet wurde.

- Maximale relative Abweichung der volumetrischen Wärmekapazität ρc_p von flüssigem Wasser bei Normaldruck $p_0 = 0.1 \text{ MPa}$ im Temperaturbereich von $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$

$$\max \left\{ \frac{|\rho(T) c_p(T) - \rho(T_0) c_p(T_0)|}{\rho(T_0) c_p(T_0)} \mid T \in [20 \text{ }^{\circ}\text{C}, 300 \text{ }^{\circ}\text{C}], T_0 = 20 \text{ }^{\circ}\text{C} \right\} \leq 10\%$$

- Maximale relative Abweichung der Wärmediffusivität κ von flüssigem Wasser bei Normaldruck $p_0 = 0.1 \text{ MPa}$ im Temperaturbereich von $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$

$$\max \left\{ \frac{|\kappa(T) - \kappa(T_0)|}{\kappa(T_0)} \mid T \in [20 \text{ }^{\circ}\text{C}, 300 \text{ }^{\circ}\text{C}], T_0 = 20 \text{ }^{\circ}\text{C} \right\} \leq 20\%$$

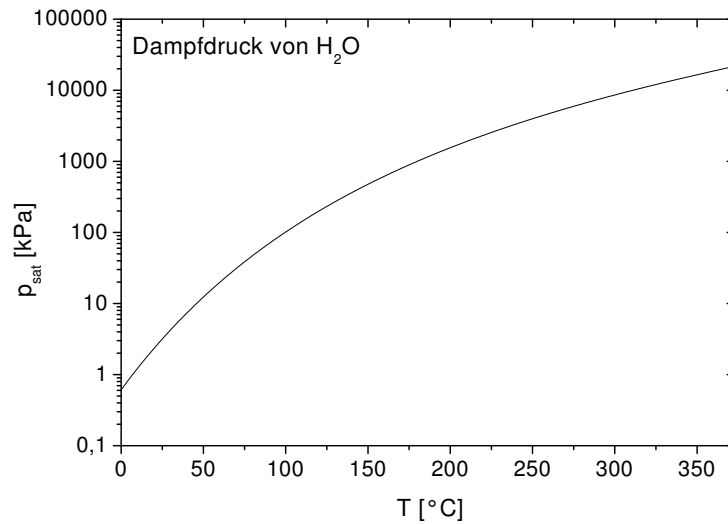


Abbildung A.2: Sättigungsdampfdruck $p_{\text{sat}}(T)$ von Wasser nach *CRC Handbook of Chemistry and Physics* [141].

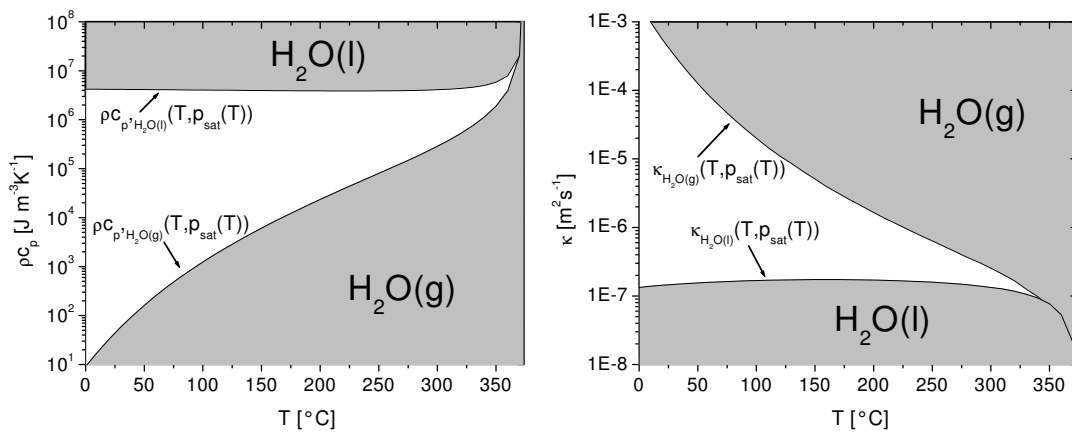


Abbildung A.3: Volumetrische Wärmekapazität ρc_p und Wärmediffusivität κ von flüssigem Wasser und Wasserdampf an der Sättigungslinie $p_{\text{sat}}(T)$ nach *IAPWS-95* [2] und *IAPWS-98* [3].

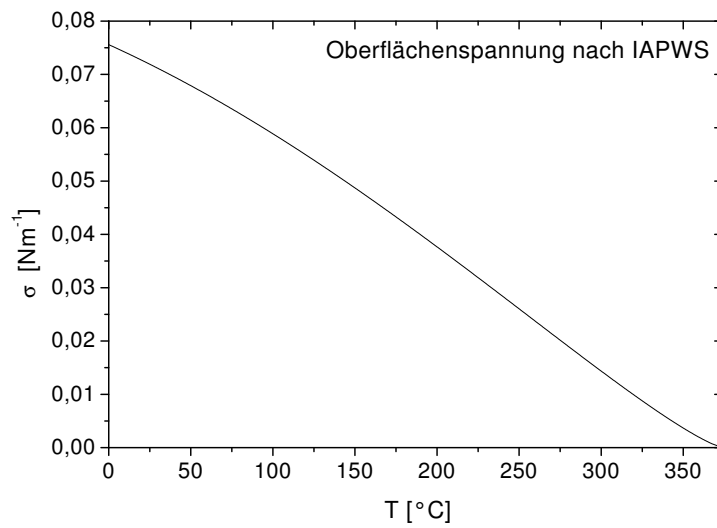


Abbildung A.4: Temperaturabhängigkeit der Oberflächenspannung $\sigma(T)$ von Wasser nach IAPWS-94 [1].

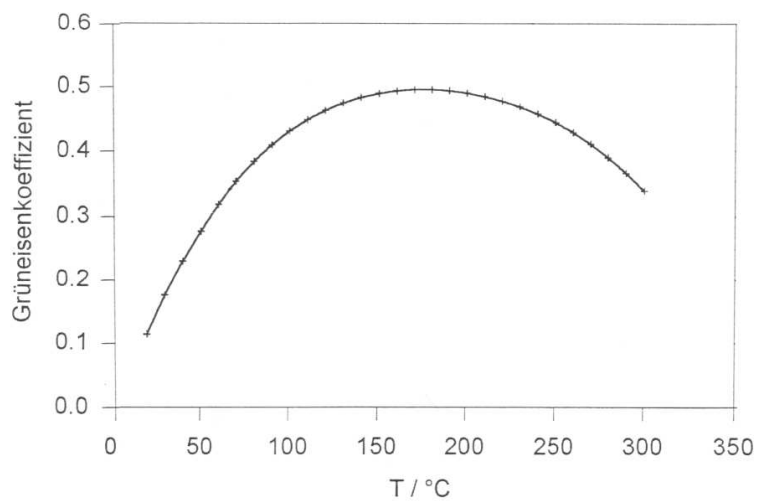


Abbildung A.5: Temperaturabhängigkeit des Grüneisen-Parameters $\Gamma(T) = \beta/(\rho c_p \kappa_T)$ von flüssigem Wasser. Die Berechnung erfolgte mit der Zustandsgleichung für Wasser von Haar et al. [89] an der Sättigungslinie $(T, p_{\text{sat}}(T))$.

A.2.2 Gold

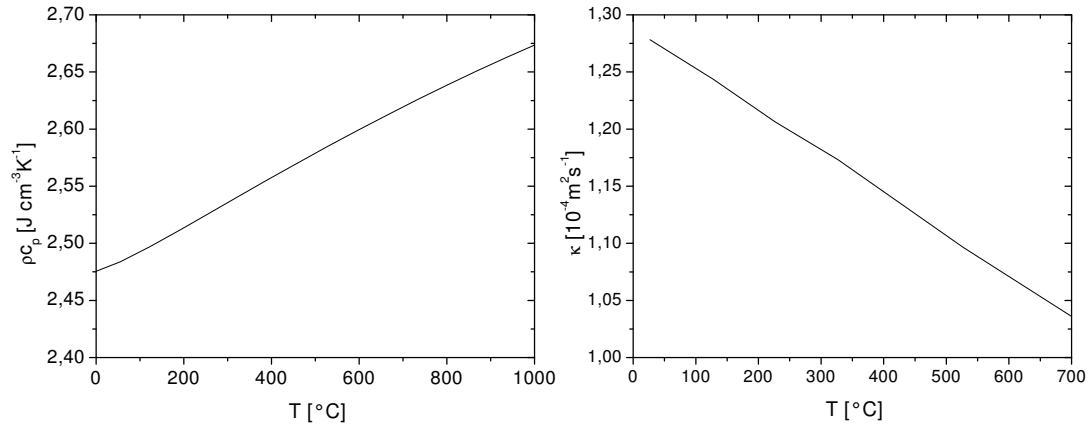


Abbildung A.6: Temperaturabhängige volumetrische Wärmekapazität ρc_p und Wärmediffusivität κ von Gold [141, 12].

- Maximale relative Abweichung der volumetrischen Wärmekapazität ρc_p von Gold bei Normaldruck $p_0 = 0.1 \text{ MPa}$ im Temperaturbereich von 20°C bis 700°C

$$\max \left\{ \frac{|\rho(T) c_p(T) - \rho(T_0) c_p(T_0)|}{\rho(T_0) c_p(T_0)} \mid T \in [20^\circ\text{C}, 700^\circ\text{C}], T_0 = 20^\circ\text{C} \right\} \leq 10\%$$

- Maximale relative Abweichung der Wärmediffusivität κ von Gold bei Normaldruck $p_0 = 0.1 \text{ MPa}$ im Temperaturbereich von 20°C bis 700°C

$$\max \left\{ \frac{|\kappa(T) - \kappa(T_0)|}{\kappa(T_0)} \mid T \in [20^\circ\text{C}, 700^\circ\text{C}], T_0 = 20^\circ\text{C} \right\} \leq 20\%$$

A.3 Berechnung der Partikelabsorption mit der Mie-Theorie

Zur Berechnung der Absorptionseffizienz der Gold-Partikel wurde die Mie-Theorie verwendet [106]. Besitzt ein kugelförmiger Absorber mit dem Radius R einen komplexen Brechungsindex von

$$m = n - ik \quad (\text{A.1})$$

und wird mit Licht der Wellenlänge λ bestrahlt, so wird der Mie-Parameter durch

$$x = \frac{2\pi R}{\lambda} \quad (\text{A.2})$$

definiert. Befindet sich der Absorber in einem transparenten Medium wie z. B. Wasser mit dem Brechungsindex n_{H_2O} , so müssen die für die Rechnung verwendeten Parameter wie Wellenlänge und Brechungsindex der Kugel hinsichtlich der Lichtpropagation in Wasser durch $\lambda^* = \lambda/n_{H_2O}$ und $m^* = m/n_{H_2O}$ korrigiert werden [106]. Die Effizienzen des Partikels

$$Q = \frac{\sigma}{\pi R^2} \quad (\text{A.3})$$

für Extinktion, Streuung, und Absorption des einfallenden Lichts ergeben sich aus den Wirkungsquerschnitten für Extinktion σ_{ext} , Streuung σ_{sca} und Absorption σ_{abs} dividiert durch geometrischen Querschnitt des Partikels. Die Extinktionseffizienz Q_{ext} , Streueffizienz Q_{sca} und Absorptionseffizienz Q_{abs} berechnet sich mit Hilfe von

$$\begin{aligned} Q_{ext} &= \frac{2}{x^2} \sum_{k=1}^{\infty} (2k+1) \operatorname{Re} [A^{(k)}(mx) + B^{(k)}(mx)] \\ Q_{sca} &= \frac{2}{x^2} \sum_{k=1}^{\infty} (2k+1) \left(|A^{(k)}(mx)|^2 + |B^{(k)}(mx)|^2 \right) \\ Q_{abs} &= Q_{ext} - Q_{sca} \end{aligned} \quad (\text{A.4})$$

Die numerische Berechnung dieser Reihe erfolgt in der vorliegenden Arbeit wie bei Bohren und Huffman [28] bis zum Glied mit $k = x + 4x^{1/3} + 2$. Die Reihenoeffizienten aus den Gln. A.4 sind durch

$$\begin{aligned} A^{(k)}(mx) &= \frac{D\psi^{(k)}(mx) \cdot \psi^{(k)}(x) - m\psi^{(k)}(mx) \cdot D\psi^{(k)}(x)}{D\psi^{(k)}(mx) \cdot \chi^{(k)}(x) - m\psi^{(k)}(mx) \cdot D\chi^{(k)}(x)} \\ B^{(k)}(mx) &= \frac{mD\psi^{(k)}(mx) \cdot \psi^{(k)}(x) - m\psi^{(k)}(mx) \cdot D\psi^{(k)}(x)}{mD\psi^{(k)}(mx) \cdot \chi^{(k)}(x) - m\psi^{(k)}(mx) \cdot D\chi^{(k)}(x)} \end{aligned}$$

gegeben. Es gelten die Abkürzungen

$$D\psi^{(k)}(x) = \frac{d\psi^{(k)}(x)}{dx} \quad \text{und} \quad D\chi^{(k)}(x) = \frac{d\chi^{(k)}(x)}{dx}$$

und die Definition der Funktionen

$$\begin{aligned}\psi^{(k)}(x) &= \sqrt{\frac{\pi x}{2}} J_{k+\frac{1}{2}}(x) \\ \chi^{(k)}(x) &= \sqrt{\frac{\pi x}{2}} \left(J_{k+\frac{1}{2}}(x) - iY_{k+\frac{1}{2}}(x) \right),\end{aligned}$$

die sich aus Bessel-Funktion 1. Art $J_n(x)$ und 2. Art $Y_n(x)$ zusammensetzen.

A.4 Geometrische Abschätzung des Strahlungstransports innerhalb einer kugelsymmetrischen Blase

Eine einfache Abschätzung des Strahlungstransports innerhalb einer kugelsymmetrischen Blase ohne Berücksichtigung von Reflexionen an der Blasengrenzfläche erfolgte mit Hilfe der geometrischen Optik nach dem Brechungsgesetz

$$n_1 \sin \alpha = n_2 \sin \beta.$$

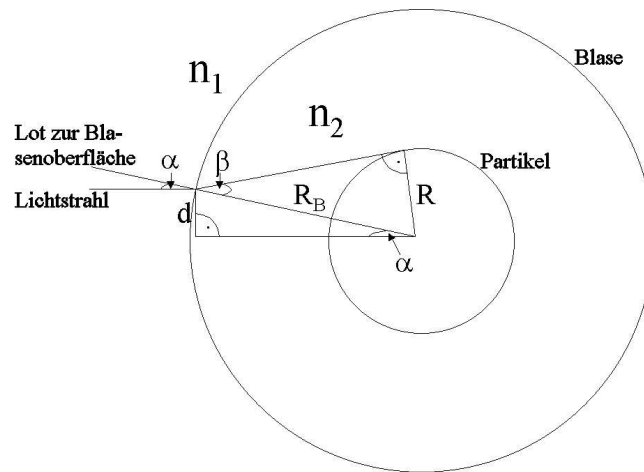


Abbildung A.7: Schematische Darstellung der Ausbreitung von Lichtstrahlen in einer Blase, die einen kugelförmigen Absorber enthält. Die Reflexion an der Blasengrenzfläche wird nicht berücksichtigt.

Aus Abb. A.7 läßt sich entnehmen, daß

$$\sin \alpha = \frac{d}{R_B} \quad \text{und} \quad \sin \beta = \frac{R}{R_B}$$

gelten. Mit dem Brechungsgesetz folgt

$$\frac{R}{R_B} = \sin \beta = \frac{n_1}{n_2} \sin \alpha = \frac{n_1 d}{n_2 R_B},$$

so daß man

$$d = \frac{n_2}{n_1} R$$

erhält. Insgesamt ergibt sich aufgrund der Krümmung der Blasengrenzfläche ein Abschwächungsfaktor für die applizierte Bestrahlung von

$$\frac{\pi d^2}{\pi R^2} = \left(\frac{n_2}{n_1} \right)^2 \approx \frac{9}{16}.$$

Für eine exaktere Abschätzung des Strahlungstransports in einer Blase, die einen Absorber enthält muß auf die Mie-Theorie zurückgegriffen werden. Hierauf wurde aufgrund der Komplexität des Problems im Verhältnis zum erwarteten Nutzen für diese Arbeit verzichtet [5, 215].

A.5 Statistik binärer Ereignisse

Zur Modellierung binärer (dichotomer) Zufallsvariablen, die von einem kontinuierlichen Parameter mit positiven Werten abhängen, wird häufig die Probit-Statistik benutzt [68]. Auch zur Bestimmung von Schwellenwertbestrahlungen H für die laserinduzierte Schädigung der Retina wird die Probit-Statistik herangezogen [222]. Man benutzt eine Normalverteilung $N : \mathbb{R} \rightarrow [0, 1]$, deren Definitionsbereich durch eine logarithmische Transformation $\log : [0, \infty] \rightarrow \mathbb{R}$ auf einen positiven Wertebereich beschränkt wird, so daß sich die logarithmische Normalverteilung

$$\begin{aligned} N(\log(H)) &= \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \int_{-\infty}^{\log(H)} \exp\left(-\frac{(t - H_{p=0.5})^2}{2\sigma^2}\right) dt \\ &= \frac{\log e}{\sqrt{2\pi}\sigma} \int_0^H t^{-1} \exp\left(-\frac{(\log t - \log H_{p=0.5})^2}{2\sigma^2}\right) dt \end{aligned}$$

mit $N(\log(H_{p=0.5})) = 0.5$ und einer Standardabweichung von

$$\sigma = \log(H_{p=0.84}) - \log(H_{p=0.5}) = \log(H_{p=0.84}/H_{p=0.5})$$

ergibt. Aus der Standardabweichung der Verteilung ergibt sich die sogenannte Probit-Slope

$$S = H_{p=0.84}/H_{p=0.5} = H_{p=0.5}/H_{p=0.16},$$

die oft als Maß für die Streuung einer Probit-Verteilung angegeben wird [222]. Der Bestrahlungswert $H_{p=0.5}$ bei einer Wahrscheinlichkeit von p für das untersuchte Ereignis wird oft mit effektiver Dosis ED bezeichnet, so daß man beispielsweise

$$\begin{aligned} ED_{50} &:= H_{p=0.5} \\ ED_{84} &:= H_{p=0.84} \end{aligned}$$

erhält. Die Anpassung einer Probit-Verteilung an die Meßwerte erfolgte in dieser Arbeit mit einem Computer-Programm von Cain et al. [39]. Der Fehler des ED_{50} -Wertes wird mit dem Konfidenzintervall bei einer Wahrscheinlichkeit von 95% abgeschätzt [187].

Literaturverzeichnis

- [1] *IAPWS Release on Surface Tension of Ordinary Water Substance*. Technischer Bericht, The International Association for Properties of Water and Steam (IAPWS) (1994).
- [2] *The IAPWS Formulation 1995 for the Thermodynamic Properties of Ordinary Water Substance for General and Scientific Use*. Technischer Bericht, The International Association for Properties of Water and Steam (IAPWS) (1995).
- [3] *Revised Release on the IAPS Formulation 1985 for the Thermal Conductivity of Ordinary Water Substance*. Technischer Bericht, The International Association for Properties of Water and Steam (IAPWS) (1998).
- [4] ADAMSON, A.W. und A.P. GAST: *Physical Chemistry of Surfaces*. Wiley-Interscience, New York, 6. Auflage (1997).
- [5] ADEN, A.L. und M. KERKER: *Scattering of Electromagnetic Waves from Two Concentric Spheres*. J. Appl. Phys., **22**(10), 1242–6 (1951).
- [6] AKHATOV, I., O. LINDAU, A. TOPOLNIKOV, R. METTIN, N. VAKHITOVA und W. LAUTERBORN: *Collapse and Rebound of a Laser-Induced Cavitation Bubble*. Phys. Fluids, **13**(10), 2805–19 (2001).
- [7] ALLEN, R.R., J.D. MEYER und W.R. KNIGHT: *Thermodynamics and Hydrodynamics of Thermal Ink Jets*. Hewlett-Packard Journal, **36**, 21–7 (1985).
- [8] ALT, C., C. FRAMME, S. SCHNELL, G. SCHÜLE, R. BRINKMANN und C.P. LIN: *In Vivo and in Vitro Selective Targeting of the Retinal Pigment Epithelium Using a Laser-Scanning Device*. In: MANNS, F., P.G. SÖDERBERG und A. HO (Herausgeber): *Ophthalmic Technologies XII*, Band 4611, Seiten 59–63, San José, CA, USA (2002). SPIE.
- [9] ALT, C., C.M. PITSILLIDES, J. RÖGENER und C.P. LIN: *Monitoring Intracellular Cavitation During Selective Targeting of the Retinal Pigment Epithelium*. In: MANNS, F., P.G. SÖDERBERG und A. HO (Herausgeber):

- Ophthalmic Technologies XIII*, Band 4951, Seiten 48–55, San José, CA, USA (2003). SPIE.
- [10] ALTSHULER, G.B., R.R. ANDERSON, D. MANSTEIN, H.H. ZENZIE und M.Z. SMIRNOV: *Extended Theory of Selective Photothermolysis*. *Lasers Surg. Med.*, **29**, 416–32 (2001).
- [11] AMENDT, P.A., M. STRAUSS, R.A. LONDON, M.E. GLINSKY, D.J. MAITLAND, P.M. CELLIERS, S.R. VISURI, D.S. BAILEY, D.A. YOUNG und D. HO: *Modeling of Bubble Dynamics in Relation to Medical Applications*. In: JACQUES, S. (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction VIII*, Band 2975, Seiten 362–73, San José, CA, USA (1997). SPIE.
- [12] ANDERSON, O.L., D.G. ISAAK und S. YAMAMOTO: *Anharmonicity and the Equation of State for Gold*. *J. Appl. Phys.*, **65**(4), 1534–43 (1989).
- [13] ANDERSON, R.R. und J.A. PARRISH: *Selective Photothermolysis: Precise Microsurgery by Selective Absorption of Pulsed Radiation*. *Science*, **220**, 524–7 (1983).
- [14] APFEL, R.E.: *Water Superheated to 279.5° C at Atmospheric Pressure*. *Nat. Phys. Sc.*, **238**, 63–4 (1972).
- [15] ASAI, A.: *Bubble Dynamics in Boiling under High Heat Flux Pulse Heating*. *ASME - J. Heat Trans.*, **113**, 973–9 (1991).
- [16] ASAI, A., T. HARA und I. ENDO: *One-Dimensional Model of Bubble Growth and Liquid Flow in Bubble Jet Printers*. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **26**(10), 1794–801 (1987).
- [17] ATTARD, P.: *Nanobubbles and the Hydrophobic Attraction*. *Adv. Colloid Interface Sci.*, **104**, 75–91 (2003).
- [18] AUROUX, P.-A., D. IOSSIFIDIS, D.R. REYES und A. MANZ: *Micro Total Analysis Systems. 2. Analytical Standard Operations and Applications*. *Anal. Chem.*, **74**(12), 2637–52 (2002).
- [19] AVEDISIAN, C.T., W.S. OSBORNE, F.D. MCLEOD und C.M. CURLEY: *Measuring Bubble Nucleation Temperature on the Surface of a Rapidly Heated Thermal Ink-Jet Heater Immersed in a Pool of Water*. *Proc. R. Soc. Lond. A*, **455**, 3875–99 (1999).
- [20] BARALDI, P., R. CAPELLETTI, P.R. CRIPPA und N. ROMEO: *Electrical Characteristics and Electret Behavior of Melanin*. *J. Electrochem. Soc.*, **126**(7), 1207–12 (1979).

- [21] BELOUSOVA, I.M., N.G. MIRONOVA, A.G. SCOBELEV und M.S. YUR'EV: *The Investigation of Nonlinear Optical Limiting by Aqueous Suspensions of Carbon Nanoparticles*. Opt. Commun., **235**, 445–52 (2004).
- [22] BELOUSOVA, I.M., N.G. MIRONOVA und M.S. YUR'EV: *Theoretical Investigation of Nonlinear Limiting of Laser Radiation Power by Suspensions of Carbon Particles*. Opt. Spectrosc., **94**(1), 93–8 (2003).
- [23] BERTHOUD, G.: *Vapor Explosions*. Ann. Rev. Fluid Mech., **32**, 573–611 (2000).
- [24] BINDER, K.: *Nucleation Barriers, Spinodals, and the Ginzburg Criterion*. Phys. Rev. A, **29**(1), 341–9 (1984).
- [25] BIRNGRUBER, R., F. HILLENKAMP und V.-P. GABEL: *Theoretical Investigations of Thermal Retinal Injury*. Health Phys., **48**(8), 781–96 (1985).
- [26] BLANDER, M. und J.L. KATZ: *Bubble Nucleation in Liquids*. AIChE J., **21**(5), 832–48 (1975).
- [27] BODE, A.: *Wärmeübergang, Dampfblasendynamik und Schallemission beim unterkühlten Behältersieden*. Dissertation, Universität Hannover (2002).
- [28] BOHREN, C.F. und D.R. HUFFMAN: *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley, New York (1983).
- [29] BONGIOVANNI, C., A. DOMINGUEZ und J.-P. CHEVAILLIER: *Understanding Images of Bubbles*. Eur. J. Phys., **21**, 561–70 (2000).
- [30] BORLAND, R.G., D.H. BRENNAN, J. MARSHALL und J.P. VIVEASH: *The Role of Fluorescence Angiography in the Detection of Laser-Induced Damage to the Retina: A Threshold Study for Q-Switched, Neodymium and Ruby Lasers*. Exp. Eye Res., **27**, 471–93 (1978).
- [31] BOULTON, M.: *Melanin and the Retinal Pigment Epithelium*. In: MARMOR, M.F. und T.J. WOLFENBERGER (Herausgeber): *The Retinal Pigment Epithelium*, Seiten 68–85. Oxford University Press, New York (1998).
- [32] BRENDDEL, T.: *Untersuchungen zur IR-Laser-Ablation in Wasser*. Dissertation, Universität zu Göttingen (2004).
- [33] BRENDDEL, T. und R. BRINKMANN: *Mid-IR Laser Induced Superheating of Water and Its Quantification by an Optical Temperature Probe*. Appl. Opt., **43**(9), 1856–62 (2004).
- [34] BRENNEN, C.E.: *Cavitation and Bubble Dynamics*. Oxford University Press, New York (1995).

- [35] BRIDELLI, M.G. und P.R. CRIPPA: *Optical Properties of Melanin; a Comment*. Appl. Opt., **21**(15), 2669–70 (1982).
- [36] BRINKMANN, R., G. HÜTTMANN, J. RÖGENER, J. ROIDER, R. BIRNGRUBER und C.P. LIN: *Origin of Retinal Pigment Epithelium Cell Damage by Pulsed Laser Irradiance in the Nanosecond to Microsecond Time Regimen*. Lasers Surg. Med., **27**(5), 451–64 (2000).
- [37] BRINKMANN, R., N. KOOP, M. ÖZDEMİR, C. ALT, G. SCHÜLE, C.P. LIN und R. BIRNGRUBER: *Targeting of the Retinal Pigment Epithelium (RPE) by Means of a Rapidly Scanned Continuous Wave (CW) Laser Beam*. Lasers Surg. Med., **32**, 252–64 (2003).
- [38] BRINKMANN, R., J. ROIDER und R. BIRNGRUBER: *Selective Retina Therapy (SRT) - a Review on Methods, Techniques, Preclinical and First Clinical Results*. In: *Annual Meeting of the Belgian Ophthalmologic Society*, Brussels (2004). (im Druck).
- [39] CAIN, C.P., G.D. NOOJIN und L. MANNING: *A Comparison of Various Probit Methods for Analyzing Yes/No Data on a Log Scale*. Technischer Bericht AL/OE-TR-1996-0102, US Air Force Armstrong Laboratory (1996).
- [40] CAO, Y. und G.J. DIEBOLD: *Effects of Heat Conduction and Viscosity on Photoacoustic Waves from Droplets*. Opt. Eng., **36**(2), 417–22 (1997).
- [41] CAREY, V.P.: *Liquid-Vapor Phase Change Phenomena*. Hemisphere Publishing Corporation (1992).
- [42] CARSLAW, H.S. und J.C. JAEGER: *Conduction of Heat in Solids*. Oxford University Press, 2. Auflage (1959).
- [43] CHEN, G.: *Ballistic-Diffusive Heat-Conduction Equations*. Phys. Rev. Lett., **86**(11), 2297–300 (2001).
- [44] CHEN, G.: *Ballistic-Diffusive Equations for Transient Heat Conduction from Nano to Macroscales*. ASME - J. Heat Trans., **124**, 320–8 (2002).
- [45] CRUM, L.A.: *Nucleation and Stabilization of Microbubbles in Liquids*. Appl. Sci. Res., **38**, 101–15 (1982).
- [46] CRUM, L.A.: *Rectified Diffusion*. Ultrasonics, **22**, 215–23 (1984).
- [47] DEBENEDETTI, P.G.: *Metastable Liquids: Concepts and Principles*. Princeton University Press (1996).
- [48] DELIUS, M.: *Medical Applications and Bioeffects of Extracorporeal Shock Waves*. Shock Waves, **4**, 55–72 (1994).

- [49] DEL PRIORE, L.V., B.M. GLASER, H.A. QUIGLEY und W.R. GREEN: *Response of Pig Retinal Pigment Epithelium to Laser Photocoagulation in Organ Culture*. Arch. Ophthalmol., **107**(1), 119–22 (1989).
- [50] DEMTRÖDER, W.: *Laserspektroskopie*. Springer-Verlag, Berlin, 4. Auflage (2000).
- [51] DIEBOLD, G.J. und T. SUN: *Properties of Photoacoustic Waves in One, Two, and Three Dimensions*. Acustica, **80**, 339–51 (1994).
- [52] DIEBOLD, G.J. und P.J. WESTERVELT: *The Photoacoustic Effect Generated by Spherical Droplet in a Fluid*. J. Acoust. Soc. Am., **84**(6), 2245–51 (1988).
- [53] DOBLER, V.: *Dynamische Messungen zum Laser-Cleaning*. Dissertation, Universität Konstanz (2001).
- [54] DOUKI, T., S. LEE, K. DOREY, T.J. FLOTTE, T.F. DEUTSCH und A.G. DOUKAS: *Stress-Wave-Induced Injury to Retinal Pigment Epithelium Cells in Vitro*. Lasers Surg. Med., **19**, 249–59 (1996).
- [55] DOU, Y., N. WINOGRAD, B. GARRISON und L.V. ZHIGILEI: *Substrate-Assisted Laser-Initiated Ejection of Proteins Embedded in Water Films*. J. Phys. Chem. B, **107**(10), 2362–5 (2003).
- [56] DOU, Y., L.V. ZHIGILEI, Z. POSTAWA, N. WINOGRAD und B. GARRISON: *Thickness Effects of Water Overlayer on Its Explosive Evaporation at Heated Metal Surfaces*. Nucl. Instrum. Meth. B, **180**, 105–11 (2001).
- [57] DOU, Y., L.V. ZHIGILEI, N. WINOGRAD und B. GARRISON: *Explosive Boiling of Water Films Adjacent to Heated Surfaces: A Microscopic Description*. J. Phys. Chem. A, **105**, 2748–55 (2001).
- [58] DOVER, J.S. und K.A. ARNDT: *New Approaches to the Treatment of Vascular Lesions*. Lasers Surg. Med., **26**, 158–63 (2000).
- [59] DURAND, O., V. GROLIER-MAZZA und R. FREY: *Picosecond-Resolution Study of Nonlinear Scattering in Carbon Black Suspensions in Water and Ethanol*. Opt. Lett., **23**(18), 1471–3 (1998).
- [60] DURAND, O., V. GROLIER-MAZZA und R. FREY: *Temporal and Angular Analysis of Nonlinear Scattering in Carbon Black Suspensions in Water and Ethanol*. J. Opt. Soc. Am. B, **16**(9), 1431–8 (1999).
- [61] DUSEL, P.W., M. KERKER und D.D. COOKE: *Distribution of Absorption Centers within Irradiated Spheres*. J. Opt. Soc. Am., **69**(1), 55–9 (1979).

- [62] EBELING, K.J.: *Zum Verhalten kugelförmiger, lasererzeugter Kavitationsblasen in Wasser*. *Acustica*, **40**(4), 229–30 (1978).
- [63] EGHTEGARI, M.O., J.A. COPLAND, V.L. POPOV, N.A. KOTOV, M. MOTALI und A.A. ORAEVSKY: *Bioconjugated Gold Nanoparticles as a Contrast Agent for Photoacoustic Detection of Small Tumors*. In: ORAEVSKY, A.A. (Herausgeber): *Biomedical Photoacoustics IV*, Band 4960, Seiten 76–85, San José, CA, USA (2003). SPIE.
- [64] ELSNER, H. und E. POERKSEN: *Persönliche Mitteilung* (2004).
- [65] ELSNER, H.G.I., E. POERKSEN, C. KLATT, A. BUNSE, D. THEISENKUNDE, R. BRINKMANN, P. HAMILTON, R. BIRNGRUBER, H. LAQUA und J. ROIDER: *Functional and Angiographic Findings in Patients with Diabetic Maculopathy Treated with Selective-RPE-Laser-Treatment (SRT)*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **45**, 4105–B566 (2004).
- [66] EYRING, G. und M.D. FAYER: *Laser-Induced Phenomena at Liquid-Glass Interfaces: Particle Deposition and Holographic Bubble Grating Formation*. *J. Appl. Phys.*, **55**(11), 4072–80 (1984).
- [67] FEENEY, L., J.A. GRIESHABER und H.M. J.: *Studies on Human Ocular Pigment*. In: ROHEN, J.W. (Herausgeber): *The Structure of the Eye - II. Symposium*, Seiten 535–48, Wiesbaden (1965). F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart.
- [68] FINNEY, D.J.: *Probit Analysis*. Cambridge University Press, 3. Auflage (1971).
- [69] FOREST, S.E. und J.D. SIMON: *Wavelength-Dependent Photoacoustic Calorimetry Study of Melanin*. *Photochem. Photobiol.*, **68**(3), 296–8 (1998).
- [70] FRAMME, C., G. SCHÜLE, J. ROIDER, R. BIRNGRUBER und R. BRINKMANN: *Influence of Pulse Duration and Pulse Number in Selective RPE Laser Treatment*. *Lasers Surg. Med.*, **34**, 206–15 (2004).
- [71] GABEL, V.-P., R. BIRNGRUBER und F. HILLENKAMP: *Die Lichtabsorption am Augenhintergrund*. Technischer Bericht GSF-Bericht A55, Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (1976).
- [72] GABEL, V.-P., R. BIRNGRUBER und F. HILLENKAMP: *Visible and Near Infrared Light Absorption in Pigment Epithelium and Choroid*. In: SHIMIZU, K. (Herausgeber): *XXIII Concilium Ophthalmologicum*, Band 450 der Reihe *International Congress Series*, Seiten 658–62, Kyoto (1978). Elsevier North-Holland.

- [73] GARRISON, B.J., T.E. ITINA und L.V. ZHIGILEI: *Limit of Overheating and Threshold Behaviour in Laser Ablation*. Phys. Rev. E, **68**(4), 041501–4 (2003).
- [74] GERSTMAN, B.S. und R.D. GLICKMAN: *Activated Rate Processes and a Specific Biochemical Mechanism for Explaining Delayed Laser Induced Thermal Damage to the Retina*. J. Biomed. Opt., **4**(3), 345–51 (1999).
- [75] GERSTMAN, B.S., C.R. THOMPSON, S.L. JACQUES und M.E. ROGERS: *Laser Induced Bubble Formation in the Retina*. Lasers Surg. Med., **18**, 10–21 (1996).
- [76] GERTHSEN, C., H.O. KNESER und H. VOGEL: *Physik*. Springer - Verlag, Berlin (1989).
- [77] GE, Z., D.G. CAHILL und P.V. BRAUN: *AuPd Metal Nanoparticles as Probes of Nanoscale Thermal Transport in Aqueous Solution*. J. Phys. Chem. B, **108**(49), 18870–5 (2004).
- [78] GLICKMAN, R.D., S.L. JACQUES, R.T. HALL und N. KUMAR: *Revisiting the Internal Absorption Coefficient of the Retinal Pigment Epithelium Melanosome*. In: JACQUES, S.L. und P.C. JOHNSON (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction XII*, Band 4257, Seiten 134–41, San José, CA, USA (2001). SPIE.
- [79] GLICKMAN, R.D., S.L. JACQUES, J.A. SCHWARTZ, T. RODRIGUEZ, K.-W. LAM und G. BUHR: *Photodisruption Increases Free Radical Reactivity of Melanosomes Isolated from Retinal Pigment Epithelium*. In: JACQUES, S.L. (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction VII*, Band 2681, Seiten 460–7, San José, CA, USA (1996). SPIE.
- [80] GLOD, S., D. POULIKAKOS, Z. ZHAO und G. YADIGAROGLU: *An Investigation of Microscale Explosive Vaporization of Water on an Ultrathin Pt Wire*. Int. J. Heat Mass Transfer, **45**, 367–79 (2002).
- [81] GOEDERT, R., R. BECKER, A. CLEMENTS und T. WHITTAKER III: *Time-Resolved Shadowgraphic Imaging of the Response of Dilute Suspensions to Laser Pulses*. J. Opt. Soc. Am. B, **15**(5), 1442–62 (1998).
- [82] GOLDENBERG, H. und C.J. TRANTER: *Heat Flow in an Infinite Medium Heated by a Sphere*. Brit. J. Appl. Phys., **3**, 296–8 (1952).
- [83] GOLDMAN, L., J. ROCKWELL, R. MEYER, R. OTTEN, R.G. WILSON und K.W. KITZMILLER: *Laser Treatment of Tattoos: A Preliminary Survey of Three Years' Clinical Experience*. JAMA, **201**(11), 841–4 (1967).

- [84] GORA, F.: *Diagnostik und Therapie an einem Platz*. Ophthalmologische Nachrichten (17.09.2004).
- [85] GRAEMER, H.: *Entwicklung einer Hochspannungsregelung im 10ns-Bereich zur Formung von Laserpulsen mittels elektrooptischer Modulation der Resonatorgüte*. Diplomarbeit, Fachhochschule Lübeck (2002).
- [86] GREHN, F.: *Augenheilkunde*. Springer-Verlag, Berlin (2003).
- [87] GUNTHER, F.C.: *Photographic Study of Surface-Boiling Heat Transfer to Water with Forced Convection*. T. ASME, **73**, 115–23 (1951).
- [88] GUSEV, V.E. und A.A. KARABUTOV: *Laser Optoacoustics*. AIP Press, New York (1993).
- [89] HAAR, L., J.S. GALLAGHER und G.S. KELL: *A Thermodynamic Surface for Water: The Formulation and Computer Programs*. Technischer Bericht NBSIR 81-2255 NRCC 19178, National Measurement Laboratory (USA), U.S. Department of Commerce, National Bureau of Standards (USA), National Research Council (Canada) (1981).
- [90] HAAR, L., J.S. GALLAGHER und G.S. KELL: *NBS/NRC Steam Tables*. McGraw-Hill (1984).
- [91] HACH, P., J. BOROVANSKY und E. VEDRALOVA: *Melanosome - a Sophisticated Organelle*. Sbornik lekarsky, **94**(2), 113–23 (1993).
- [92] HAGENAU, R. und R. BRINKMANN: *Simulation of Laser Treatment on Scalable Parallel Computer Architectures*. In: JÄHNICHEN, S. und X. ZHOU (Herausgeber): *4th International Workshop on Advanced Parallel Processing Technology*, Seiten 137–46, Ilmenau (Germany) (2001). TU Berlin, FhG FIRST.
- [93] HAINFELD, J.F. und R.D. POWELL: *New Frontiers in Gold Labeling*. J. Histochem. Cytochem., **48**(4), 471–80 (2000).
- [94] HALL, R.S., S.J. BOARD, A.J. CLARE, R.B. DUFFEY, T.S. PLAYLE und D.H. POOLE: *Inverse Leidenfrost Phenomena*. Science, **224**, 266–7 (1969).
- [95] HANSEN, W.P. und S. FINE: *Melanin Granule Models for Pulsed Laser Induced Retinal Injury*. Appl. Opt., **7**(1), 155–9 (1968).
- [96] HAYES, J.R. und M.L. WOLBARSH: *Thermal Model for Retinal Damage Induced by Pulsed Lasers*. Aerospace Med., (May), 474–80 (1968).
- [97] HO, D.D.-M., R. LONDON, G.B. ZIMMERMAN und D.A. YOUNG: *Laser-Tattoo Removal - a Study of the Mechanism and the Optical Treatment Strategy via Computer Simulations*. Lasers Surg. Med., **30**, 389–97 (2002).

- [98] HOLLINS, R.C.: *Materials for Optical Limiters*. Curr. Opin. Solid St. M., **4**, 189–96 (1999).
- [99] HOLMBERG, M., A. KÜHLE, J. GARNAES, A. BOISEN und K.A. MORCH: *Cavitation Nuclei at Water-Gold Interfaces*. In: *Fifth International Symposium on Cavitation (CAV2003)*, Seiten Cav03–GS–1–001, Osaka, Japan (2003).
- [100] HOLMBERG, M., A. KÜHLE, J. GARNAES, K.A. MORCH und A. BOISEN: *Nanobubble Trouble on Gold Surfaces*. Langmuir, **19**, 10510–3 (2003).
- [101] HSIEH, D.-Y.: *Some Analytical Aspects of Bubble Dynamics*. ASME - J. Basic Eng., **87**(D), 991–1005 (1965).
- [102] HSU, Y.Y.: *On the Size Range of Active Nucleation Cavities on a Heating Surface*. ASME - J. Heat Trans., **84C**, 207–16 (1962).
- [103] HÜTTMANN, G. und R. BIRNGRUBER: *On the Possibility of High-Precision Photothermal Microeffects and the Measurement of Fast Thermal Denaturation of Proteins*. IEEE J. Select. Topics Quantum Electron., **5**(4), 954–62 (1999).
- [104] HÜTTMANN, G., B. RADT, J. SERBIN und R. BIRNGRUBER: *Inactivation of Proteins by Irradiation of Gold Nanoparticles with Nano- and Picosecond Laser Pulses*. In: STEINER, R.W. (Herausgeber): *Therapeutic Laser Applications and Laser-Tissue Interactions*, Band 5142, Seiten 88–95, Munich, D (2003). SPIE.
- [105] HÜTTMANN, G., J. SERBIN, B. RADT, B.I. LANGE und R. BIRNGRUBER: *Model System for Investigating Laser-Induced Subcellular Microeffects*. In: JACQUES, S.L. und P.C. JOHNSON (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction XII*, Band 4257, Seiten 398–409, San José, CA, USA (2001). SPIE.
- [106] HULST, H.C. VAN DE: *Light Scattering by Small Particles*. Dover Publications Inc., New York (1981).
- [107] IIDA, Y., K. OKUYAMA und K. SAKURAI: *Boiling Nucleation on a Very Small Film Heater Subjected to Extremely Rapid Heating*. Int. J. Heat Mass Transfer, **37**(17), 2771–80 (1994).
- [108] ISIDA, S., M. SUZUKI, S. TODO, N. MORI und K. SIRATORI: *Pressure Effects of the Elastic Constants of Magnetite*. Physica B, **219 & 220**, 638–40 (1996).
- [109] JACQUES, S.L., R.D. GLICKMAN und J.A. SCHWARTZ: *Internal Absorption Coefficient and Threshold for Pulsed Laser Disruption of Melanosomes*

- Isolated from Retinal Pigment Epithelium*. In: JACQUES, S.L. (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction VII*, Band 2681, Seiten 468–76, San José, CA, USA (1996). SPIE.
- [110] JACQUES, S.L. und D.J. MCAULIFFE: *The Melanosome: Threshold Temperature for Explosive Vaporization and Internal Absorption Coefficient During Pulsed Laser Irradiation*. Photochem. Photobiol., **53**(6), 769–75 (1991).
- [111] JOHNSON, P.B. und R.W. CHRISTY: *Optical Constants of Noble Metals*. Phys. Rev. B, **6**(12), 4370–9 (1972).
- [112] JÜTTNER, R. Fachpraktikumsbericht, Medizinisches Laserzentrum Lübeck GmbH (2002).
- [113] JUNGNICHEL, K.: *Experimentelle Untersuchungen zur Kavitationsblasendynamik und ihrer Rolle bei der Disruption und Fragmentierung von biologischem Material*. Dissertation, Medizinische Universität zu Lübeck (1995).
- [114] KAHN, M.I. und G.J. DIEBOLD: *The Photoacoustic Effect Generated by an Isotropic Solid Sphere*. Ultrasonics, **33**(4), 265–9 (1995).
- [115] KAMINSKI, W.: *Hyperbolic Heat Conduction Equation for Materials with a Nonhomogeneous Inner Structure*. ASME - J. Heat Trans., **112**(8), 555–60 (1990).
- [116] KARABUTOV, A.A., N.B. PODYMOVA und V.S. LETOKHOV: *Time-Resolved Laser Optoacoustic Tomography of Inhomogeneous Media*. Appl. Phys. B, **63**, 545–63 (1996).
- [117] KARABUTOV, A.A., E.V. SAVATEEVA und A.A. ORAEVSKY: *Optoacoustic Supercontrast for Early Cancer Detection*. In: ORAEVSKY, A.A. (Herausgeber): *Biomedical Optoacoustics II*, Band 4256, Seiten 179–87, San José, CA, USA (2001). SPIE.
- [118] KELLY, M.W.: *Intracellular Cavitation as a Mechanism of Short-Pulse Laser Injury to the Retinal Pigment Epithelium*. Dissertation, Tufts University (1997).
- [119] KIM, D., H.K. PARK und C.P. GRIGOROPOULOS: *Interferometric Probing of Rapid Vaporization at a Solid-Liquid Interface Induced by Pulsed-Laser Irradiation*. Int. J. Heat Mass Transfer, **44**, 3843–53 (2001).
- [120] KISELEV, S.B.: *Kinetic Boundary of Metastable States in Superheated and Stretched Liquids*. Physica A, **269**, 252–68 (1999).

- [121] KISELEV, S.B. und J.F. ELY: *Curvature Effect on the Physical Boundary of Metastable States in Liquids*. Physica A, **299**, 357–70 (2001).
- [122] KLATT, C., A. BUNSE, H. ELSNER, E. POERKSEN, D. THEISEN, R. BRINKMANN, P. HAMILTON, R. BIRNGRUBER, H. LAQUA und J. ROIDER: *OCT-Findings in Patients Treated with Selective-RPE-Laser-Treatment (SRT)*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **45**, 4091–B552 (2004).
- [123] KNAPP, R.T., J.W. DAILY und F.G. HAMMITT: *Cavitation*. McGraw-Hill (1970).
- [124] KÖNIG, K.: *Multiphoton Microscopy in Life Sciences*. J. Microsc., **200**, 83–104 (2000).
- [125] KRACHT, D.: *Diodengepumptes Festkörperlasersystem zur Erzeugung gütegeschalteter Mikrosekunden Laserpulse im grünen Spektralbereich*. Dissertation, Universität zu Lübeck (2003).
- [126] KRACHT, D. und R. BRINKMANN: *Green Q-Switched Microsecond Laser Pulses by Overcoupled Intracavity Second Harmonic Generation*. Opt. Commun., **231**, 319–24 (2004).
- [127] KURTZ, S.K., S.D. KOZIKOWSKI und L.J. WOLFRAM: *Nonlinear Optical and Electro-Optical Properties of Biopolymers*. In: GÜNTHER, P. (Herausgeber): *Electro-optic and Photorefractive Materials*. Springer-Verlag (1987).
- [128] LANDAU, L.D. und E.M. LIFSCHITZ: *Statistische Physik (Teil 1)*. Akademie-Verlag, Berlin (1979).
- [129] LANDAU, L.D. und E.M. LIFSCHITZ: *Hydrodynamik*. Akademie-Verlag, Berlin (1991).
- [130] LANG, F., P. LEIDERER und S. GEORGIU: *Phase Transition Dynamics Measurements in Superheated Liquids by Monitoring the Ejection of Nanometer-Thick Films*. Appl. Phys. Lett., **85**(14), 2759–61 (2004).
- [131] LANKERS, M., E.E.M. KHALED, J. POPP, G. RÖSSLING, H. STAHL und W. KIEFER: *Determination of Size Changes of Optically Trapped Gas Bubbles by Elastic Light Backscattering*. Appl. Opt., **36**(7), 1638–43 (1997).
- [132] LAPOTKO, D.O., E.Y. LUKIANOVA und A.I. SHNIP: *Photothermal Detection of Laser-Induced Damage in Single Intact Cells*. Lasers Surg. Med., **33**, 320–9 (2003).
- [133] LATINA, M.A. und C. PARK: *Selective Targeting of Trabecular Meshwork Cells: In Vitro Studies of Pulsed and CW Laser Interactions*. Exp. Eye Res., **60**, 359–71 (1995).

- [134] LATINA, M.A., S.A.B. SIBAYAN, D.H. SHIN, R.J. NOECKER und G. MARCELLINO: *Q-Switched 532nm Nd:YAG Laser Trabeculoplasty (Selective Laser Trabeculoplasty)*. *Ophthalmology*, **105**, 2082–90 (1998).
- [135] LATINA, M.A. und J.A.J. TUMBOCON: *Selective Laser Trabeculoplasty: A New Treatment Option for Open Angle Glaucoma*. *Curr. Opin. Ophthalmol.*, **13**, 94–6 (2002).
- [136] LAUTERBORN, W.: *Kavitation durch Laserlicht*. *Acustica*, **31**(2), 51–78 (1974).
- [137] LAUTERBORN, W., T. KURZ, R. METTIN und C.D. OHL: *Experimental and Theoretical Bubble Dynamics*. In: PRIGOGINE, I. und S.A. RICE (Herausgeber): *Advances in Chemical Physics*, Band 110, Seiten 295–379. Wiley (1999).
- [138] LAWSON, C.M., G.W. EULISS und R.R. MICHAEL: *Nanosecond Laser-Induced Cavitation in Carbon Microparticle Suspensions: Applications in Nonlinear Interface Switching*. *Appl. Phys. Lett.*, **58**(20), 2195–7 (1991).
- [139] LESZCZYNSKI, D., C.M. PITSILLIDES, R.K. PASTILA, R.R. ANDERSON und C.P. LIN: *Laser-Beam-Triggered Microcavitation: A Novel Method for Selective Cell Destruction*. *Radiat. Res.*, **156**, 399–407 (2001).
- [140] LEYDHECKER, W.: *Augenheilkunde*. Springer-Verlag, Berlin (1990).
- [141] LIDE, D.R. (Herausgeber): *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press, 76. Auflage (1995-1996).
- [142] LIN, C.P.: *Selective Absorption by Melanin Granules and Selective Cell Targeting*. In: FANKHAUSER, F. und S. KWASNIEWSKA (Herausgeber): *Lasers in Ophthalmology - Basic, Diagnostic and Surgical Aspects*, Seiten 91–8. Kugler Publications, The Hague (2003).
- [143] LIN, C.P. und M.W. KELLY: *Cavitation and Acoustic Emission around Laser-Heated Microparticles*. *Appl. Phys. Lett.*, **72**(22), 1–3 (1998).
- [144] LIN, C.P., M.W. KELLY, S.A.B. SIBAYAN, M.A. LATINA und R.R. ANDERSON: *Selective Cell Killing by Microparticle Absorption of Pulsed Laser Irradiation*. *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron.*, **5**(4), 963–8 (1999).
- [145] LIN, L.: *Microscale Thermal Bubble Formation: Thermophysical Phenomena and Applications*. *Microscale Therm. Eng.*, **2**(2), 71–85 (1998).
- [146] LIU, Y. und J.D. SIMON: *Isolation and Biophysical Studies of Natural Eumelanins: Applications of Imaging Technologies and Ultrafast Spectroscopy*. *Pigment Cell Res.*, **16**, 606–18 (2003).

- [147] LOKHANDWALLA, M. und B. STURTEVANT: *Mechanical Haemolysis in Shock Wave Lithotripsy (SWL): I. Analysis of Cell Deformation Due to SWL Flow-Fields*. Phys. Med. Biol., **46**, 413–37 (2001).
- [148] LONDON, R.A., M.E. GLINSKY, G.B. ZIMMERMAN, D.S. BAILEY, D.C. EDER und S.L. JACQUES: *Laser-Tissue Interaction Modeling with LATIS*. Appl. Opt., **36**(34), 9068–74 (1997).
- [149] MAJNO, G. und I. JORIS: *Apoptosis, Oncosis, and Necrosis - an Overview of Cell Death*. Am. J. Pathol., **146**(1), 3–15 (1995).
- [150] MANSOUR, K., E.W. VAN STRYLAND und M.J. SOILEAU: *Optical Limiting in Media with Absorbing Microparticles*. In: SOILEAU, M.J. (Herausgeber): *Materials for Optical Switches, Isolators, and Limiters*, Band 1105, Seiten 91–102. SPIE (1989).
- [151] MARMOTTANT, P. und S. HILGENFELDT: *Controlled Vesicle Deformation and Lysis by Single Oscillating Bubbles*. Nature, **423**, 153–6 (2003).
- [152] MARSCHALL, H.B., K.A. MORCH, A.P. KELLER und M. KJELDSSEN: *Cavitation Inception by Almost Spherical Particles in Water*. Phys. Fluids, **15**(2), 545–53 (2003).
- [153] MARSHALL, J. und J. MELLERIO: *Histology of Retinal Lesions Produced with Q-Switched Lasers*. Exp. Eye Res., **7**, 225–30 (1968).
- [154] MCEWAN, K.J., P.K. MILSOM und D.B. JAMES: *Nonlinear Effects in Carbon Suspensions*. In: LAWSON, C.M. (Herausgeber): *Nonlinear Optical Liquids for Power Limiting and Imaging*, Band 3472, Seiten 42–52. SPIE (1998).
- [155] MCGRATH, T.E., A.C. BEVERIDGE und G.J. DIEBOLD: *Sonoluminescence Initiated by Laser Irradiation of Carbon Suspensions*. Appl. Phys. Lett., **73**(8), 1029–31 (1998).
- [156] MCGRATH, T.E., G.J. DIEBOLD, D.M. BARTELS und R.A. CROWELL: *Laser-Initiated Chemical Reactions in Carbon Suspensions*. J. Phys. Chem. A, **106**(43), 10072–8 (2002).
- [157] MEREDITH, P. und J. RIESZ: *Radiative Relaxation Quantum Yields for Synthetic Eumelanin*. Photochem. Photobiol., **79**(2), 211–6 (2004).
- [158] MICHAEL, R.R. und C.M. LAWSON: *Nonlinear Transmission and Reflection at a Dielectric-Carbon Microparticle Suspension Interface*. Opt. Lett., **17**(15), 1055–7 (1992).

- [159] MIKIC, B.B., W.M. ROHSENOW und P. GRIFFITH: *On Bubble Growth Rates*. Int. J. Heat Mass Transfer, **13**, 657–66 (1970).
- [160] MOLGAARD, J. und W.W. SMELTZER: *Thermal Conductivity of Magnetite and Hematite*. J. Appl. Phys., **42**(9), 3644–7 (1971).
- [161] MOSBACHER, M., M. BERTSCH, H.-J. MÜNZER, V. DOBLER, B.-U. RUNGE, D. BÄUERLE, J. BONEBERG und P. LEIDERER: *Laser Cleaning of Silicon Wafers: Mechanisms and Efficiencies*. In: MIYAMOTO, I., Y.F. LU, K. SUGIOKA und J.J. DUBOWSKI (Herausgeber): *Second International Symposium on Laser Precision Microfabrication*, Band 4426, Seiten 308–14. SPIE (2002).
- [162] MUKAI, T.: *Cometary Dust and Interplanetary Particles*. In: *Evolution of Interstellar Dust and Related Topics*, Proc. Int. School Phys., Seiten 397–445. North-Holland, Amsterdam (1989).
- [163] NEEDHAM, D. und R.S. NUNN: *Elastic Deformation and Failure of Liquid Bilayer Membranes Containing Cholesterol*. Biophys. J., **58**, 997–1009 (1990).
- [164] NEUMANN, J. und R. BRINKMANN: *Interferometric Detection of Laser Induced Microbubbles in the Retinal Pigment Epithelium*. In: BIRNGRUBER, R. und H. VAN DEN BERGH (Herausgeber): *Laser-Tissue Interactions, Therapeutic Applications, and Photodynamic Therapy*, Band 4433, Seiten 81–6, Munich (2001). SPIE.
- [165] NEUMANN, J., R. HAGENAU, G. SCHÜLE und R. BRINKMANN: *Finite-Elemente-Berechnung der Temperaturverteilung im RPE*. In: *Forschungs- und Entwicklungsbericht 2001*, Seiten 27–9. Medizinisches Laserzentrum Lübeck GmbH, Lübeck (2002).
- [166] NEUMANN, J., R. HAGENAU, G. SCHÜLE, B. SCHWEDA und R. BRINKMANN: *Finite Element Calculation of the Temperature Distribution in a RPE Cell During and after Microsecond Laser Exposure*. In: *Laser Bioeffects Meeting*, Seiten P2 1–6, Paris (2002). Délégation Générale pour l'Armement, Commissariat à l'Énergie Atomique, Austrian Research Centers, International Commission on Non Ionizing Radiation Protection.
- [167] NIGMATULIN, R.I.: *Dynamics of Multiphase Media*, Band 1. Hemisphere Publishing Cooperation, New York (1991).
- [168] NIGMATULIN, R.I.: *Dynamics of Multiphase Media*, Band 2. Hemisphere Publishing Cooperation, New York (1991).

- [169] NOFSINGER, J.B., T. YE und J.D. SIMON: *Ultrafast Nonradiative Relaxation Dynamics of Eumelanin*. J. Phys. Chem. B, **105**, 2864–6 (2001).
- [170] O'HORO, M.P. und J.R. ANDREWS: *Initial Stages of Vapor Bubble Nucleation in Thermal Ink Jet Processes*. In: BARES, J. (Herausgeber): *Color Hard Copy and Graphic Arts IV*, Band 2413, Seiten 182–7. SPIE (1995).
- [171] O'HORO, M.P., J.R. ANDREWS und R. GILLMEISTER: *Effect of TIJ Heater Surface Topology on Vapor Bubble Nucleation*. In: BARES, J. (Herausgeber): *Color Imaging: Device-Independent Color, Color Hard Copy, and Graphic Arts*, Band 2658, Seiten 58–64. SPIE (1996).
- [172] OKAMOTO, T., T. SUZUKI und N. YAMAMOTO: *Microarray Fabrication with Covalent Attachment of DNA Using Bubble Jet Technology*. Nat. Biotechnol., **18**, 438–41 (2000).
- [173] OLK, R.J.: *Argon Green (514nm) Versus Krypton Red (647nm) Modified Grid Laser Photocoagulation for Diffuse Diabetic Macular Edema*. Ophthalmology, **97**(9), 1101–13 (1990).
- [174] ONG, T., M. LIEW und P. HAMILTON: *A Novel Neodymium:Yttrium, Lithium, Fluoride (Nd:YLF) Laser for Selective Retinal Pigment Epithelium (RPE) Treatment in Diabetic Maculopathy*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **45**, 4166–B627 (2004).
- [175] ONUKI, A.: *Phase Transition Dynamics*. Cambridge University Press, Cambridge (2002).
- [176] PALTAUF, G. und P.E. DYER: *Photomechanical Processes and Effects in Ablation*. Chem. Rev., **103**(2), 487–518 (2003).
- [177] PALTAUF, G., E. REICHEL und H. SCHMIDT-KLOIBER: *Study of Different Ablation Models by Use of High-Speed-Sampling Photography*. In: JACQUES, S.L. (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction III*, Band 1646, Seiten 343–52. SPIE (1992).
- [178] PALTAUF, G. und H. SCHMIDT-KLOIBER: *Model Study to Investigate the Contribution of Spallation to Pulsed Laser Ablation of Tissue*. Lasers Surg. Med., **16**, 277–87 (1995).
- [179] PALTAUF, G. und H. SCHMIDT-KLOIBER: *Microcavity Dynamics During Laser-Induced Spallation of Liquids and Gels*. Appl. Phys. A, **62**, 303–11 (1996).
- [180] PALTAUF, G. und H. SCHMIDT-KLOIBER: *Photoacoustic Cavitation in Spherical and Cylindrical Absorbers*. Appl. Phys. A, **68**, 525–31 (1999).

- [181] PARRISH, J.A., R.R. ANDERSON, T. HARRIST, B. PAUL und G.F. MURPHY: *Selective Thermal Effects with Pulsed Irradiation from Lasers: From Organ to Organelle*. *J. Invest. Dermatol.*, **80**(6), 75s–80s (1983).
- [182] PIATTELLI, M. und R.A. NICOLAUS: *The Structure of Melanins and Melanogenesis I*. *Tetrahedron*, **15**, 66–75 (1961).
- [183] PIERCE, S.G., B. CULSHAW und Q. SHAN: *Laser Generation of Ultrasound Using a Modulated Continuous Wave Laser Diode*. *Appl. Phys. Lett.*, **72**(9), 1030–2 (1998).
- [184] PITSILLIDES, C.M., E.K. JOE, X. WEI, R.R. ANDERSON und C.P. LIN: *Selective Cell Targeting with Light-Absorbing Microparticles and Nanoparticles*. *Biophys. J.*, **84**(6), 4023–32 (2003).
- [185] PLESSET, M.S. und A. PROSPERETTI: *Bubble Dynamics and Cavitation*. *Ann. Rev. Fluid Mech.*, **9**, 145–85 (1977).
- [186] POERKSEN, E., H. ELSNER, D. THEISEN-KUNDE, R. BRINKMANN, C. KLATT, A. BUNSE, P. HAMILTON, R. BIRNGRUBER, H. LAQUA und J. ROIDER: *Clinical Application of Optoacoustic On-Line Dosimetry in Selective-RPE-Laser-Treatment (SRT)*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **45**, 4074–B535 (2004).
- [187] PRESS, W.H., S.A. TEUKOLSKY, W.T. VETTERLING und B.P. FLANNERY: *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, 2. Auflage (1997).
- [188] PROSPERETTI, A.: *A Generalization of the Rayleigh-Plesset Equation of Bubble Dynamics*. *Phys. Fluids*, **25**(3), 409–10 (1981).
- [189] PUSTOVALOV, V.K.: *Thermal Processes under the Action of Laser Radiation Pulse on Absorbing Granules in Heterogeneous Biotissues*. *Int. J. Heat Mass Transfer*, **36**, 391–9 (1993).
- [190] RADT, B.: *Inaktivierung von Proteinen und Zellen durch Laserbestrahlung von Mikropartikeln*. Dissertation, Medizinische Universität zu Lübeck (2003).
- [191] RAU, K.R., A. GUERRA III, A. VOGEL und V. VENUGOPALAN: *Investigation of Laser-Induced Cell Lysis Using Time Resolved Imaging*. *Appl. Phys. Lett.*, **84**(15), 2940–2 (2004).
- [192] REYES, D.R., D. IOSSIFIDIS, P.-A. AUROUX und A. MANZ: *Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology*. *Anal. Chem.*, **74**(12), 2623–36 (2002).

- [193] RÖGENER, J.: *Schadensmechanismus bei der Laserbestrahlung des retinalen Pigmentepithels mit Nano- und Mikrosekundenpulsen*. Diplomarbeit, Medizinisches Laserzentrum Lübeck GmbH (1998).
- [194] RÖGENER, J., R. BRINKMANN und C.P. LIN: *Pump-Probe Detection of Laser-Induced Microbubble Formation in Retinal Pigment Epithelium Cells*. *J. Biomed. Opt.*, **9**(2), 367–71 (2004).
- [195] ROIDER, J.: *Entwicklung eines neuen Konzepts zur räumlichen Begrenzung von okulären Laserkoagulationen mit repetierenden kurzen Pulsen*. Habilitation, Medizinische Universität zu Lübeck (1996).
- [196] ROIDER, J., R. BRINKMANN und R. BIRNGRUBER: *Selective Retinal Pigment Epithelium Laser Treatment*. In: FANKHAUSER, F. und S. KWASNIEWSKA (Herausgeber): *Lasers in Ophthalmology - Basic, Diagnostic and Surgical Aspects*, Seiten 119–29. Kugler Publications, The Hague (2003).
- [197] ROIDER, J., R. BRINKMANN, C. WIRBELAUER, R. BIRNGRUBER und H. LAQUA: *Variability of RPE Reaction in Two Cases after Selective RPE Laser Effects in Prophylactic Treatment of Drusen*. *Graef. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **237**, 45–50 (1999).
- [198] ROIDER, J., R. BRINKMANN, C. WIRBELAUER, H. LAQUA und R. BIRNGRUBER: *Retinal Sparing by Selective Retinal Pigment Epithelial Photocoagulation*. *Arch. Ophthalmol.*, **117**(8), 1028–34 (1999).
- [199] ROIDER, J., R. BRINKMANN, C. WIRBELAUER, H. LAQUA und R. BIRNGRUBER: *Subthreshold (Retinal Pigment Epithelium) Photocoagulation in Macular Diseases: A Pilot Study*. *Brit. J. Ophthalmol.*, **84**(1), 40–7 (2000).
- [200] ROIDER, J., E. EL HIFNAWI und R. BIRNGRUBER: *Bubble Formation as Primary Interaction Mechanism in Retinal Laser Exposure with 200ns Laser Pulses*. *Lasers Surg. Med.*, **22**, 240–8 (1998).
- [201] ROIDER, J., F. HILLENKAMP, T. FLOTTE und R. BIRNGRUBER: *Microphotocoagulation: Selective Effects of Repetitive Short Laser Pulses*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 8643–7 (1993).
- [202] ROIDER, J., N.A. MICHAUD, T.J. FLOTTE und R. BIRNGRUBER: *Response of the Retinal Pigment Epithelium to Selective Photocoagulation*. *Arch. Ophthalmol.*, **110**, 1786–92 (1992).
- [203] ROSS, E.V.: *Extended Theory of Selective Photothermolysis: A New Recipe for Hair Cooking?* *Lasers Surg. Med.*, **29**, 413–5 (2001).

- [204] RUNGE, W.: *Berechnungsmodell thermischer Tintenschreibwerke*, Band Reihe 1 Nr. 219 der Reihe *Fortschrittsberichte VDI*. VDI-Verlag, Düsseldorf (1993).
- [205] SARNA, T.: *Properties and Function of the Ocular Melanin - a Photobiophysical View*. J. Photochem. Photobiol. B Biol., **12**, 215–58 (1992).
- [206] SAUL, A. und W. WAGNER: *A Fundamental Equation for Water Covering the Range from the Melting Line to 1273 K at Pressures up to 25000 MPa*. J. Phys. Chem. Ref. Data, **18**, 1537–64 (1989).
- [207] SCHÜLE, G.: *Mechanismen und on-line Dosimetrie bei selektiver RPE Therapie*. Dissertation, Medizinische Universität zu Lübeck (2003).
- [208] SCHÜLE, G.: *Noninvasive Optoacoustic Temperature Determination at the Fundus of the Eye During Laser Irradiation*. J. Biomed. Opt., **9**(1), 173–9 (2004).
- [209] SCHÜLE, G., H. ELSNER, H. HÖRAUF, C. FRAMME, J. ROIDER, R. BIRNGRUBER und R. BRINKMANN: *Optoacoustic Online Dosimetry During Selective RPE Treatment*. In: MANNS, F., P.G. SODERBERG und A. HO (Herausgeber): *Ophthalmic Technologies XIV*, Band 5314, Seiten 286–97, San José, CA, USA (2004). SPIE.
- [210] SCHÜLE, G., G. HÜTTMANN, J. ROIDER, C. WIRBELAUER, R. BIRNGRUBER und R. BRINKMANN: *Optoacoustic Measurements During Microsecond Irradiation of the Retinal Pigment Epithelium*. In: DUNCAN, D.D., J.O. HOLLINGER und S.L. JACQUES (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction XI*, Band 3914, Seiten 230–6, San José, CA, USA (2000). SPIE.
- [211] SCHÜLE, G., E. JOACHIMMEYER, C. FRAMME, J. ROIDER, R. BIRNGRUBER und R. BRINKMANN: *Optoacoustic Control System for Selective Treatment of the Retinal Pigment Epithelium*. In: ORAEVSKY, A.A. (Herausgeber): *Biomedical Optoacoustics II*, Band 4256, Seiten 71–6, San José, CA, USA (2001). SPIE.
- [212] SCHÜLE, G., M. RUMOHR, G. HÜTTMANN und R. BRINKMANN: *RPE Damage Thresholds and Mechanisms for Laser Exposure in the Microsecond to Millisecond Time Regimen*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **46**(2), 714–9 (2005).
- [213] SCHRAGE, R.W.: *A Theoretical Study of Interphase Mass Transfer*. Columbia University Press, New York (1953).
- [214] SCHÜRENBERG, M., K. DREISEWERD und F. HILLENKAMP: *Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Peptides and Proteins with Particle Suspension Matrixes*. Anal. Chem., **71**(1), 221–9 (1999).

- [215] SCHUH, R. und T. WRIEDT: *Computer Programs for Light Scattering by Particles with Inclusions*. J. Quant. Spectrosc. Ra., **70**, 715–21 (2001).
- [216] SENTRAYAN, K., C. HARIDASS und C.O. TROUTH: *Laser Induced Bubble Formation as a Damage Mechanism in the Retinas of Monkey and Rabbit*. Spectrosc. Lett., **34**(4), 469–94 (2001).
- [217] SHEBANOVA, O.N.: *The High-Pressure Study on the Fe-O System: Thermodynamics and Phase Transitions of Iron Ferrite (FeFe₂O₄)*. Dissertation, Uppsala University (2003).
- [218] SHEBANOVA, O.N. und P. LAZOR: *Vibrational Modelling of the Thermodynamic Properties of Magnetite at High Pressure from Raman Spectroscopy Study*. J. Chem. Phys., **119**(12), 6100–10 (2003).
- [219] SHEN, V.K. und P.G. DEBENEDETTI: *A Computational Study of Homogeneous Liquid-Vapor Nucleation in the Lennard-Jones Fluid*. J. Chem. Phys., **111**(8), 3581–9 (1999).
- [220] SKRIPOV, V.P., E.N. SINITSYN, P.A. PAVLOV, G.V. ERMAKOV, G.N. MURATOV, N.V. BULANOV und V.G. BAIDAKOV: *Thermophysical Properties of Liquids in the Metastable (Superheated) State*. Gordon and Breach Science Publishers (1988).
- [221] SLINEY, D.H. und J. MARSHALL: *Tissue Specific Damage to the Retinal Pigment Epithelium: Mechanisms and Therapeutic Implications*. Lasers and Light in Ophthalmology, **5**(1), 17–28 (1992).
- [222] SLINEY, D.H., J. MELLERIO, V.-P. GABEL und K. SCHULMEISTER: *What Is the Meaning of Threshold in Laser Injury Experiments? Implications for Human Exposure Limits*. Health Phys., **82**(3), 335–47 (2002).
- [223] STEVENS, J.W. und L.C. WITTE: *Transient Film and Transition Boiling from a Sphere*. Int. J. Heat Mass Transfer, **14**, 443–50 (1971).
- [224] STEVENS, J.W. und L.C. WITTE: *Destabilization of Vapor Film Boiling around Spheres*. Int. J. Heat Mass Transfer, **16**, 669–78 (1973).
- [225] STOLARSKI, D.J., J. STOLARSKI, R.J. THOMAS, G.D. NOOJIN, K.J. SCHUSTER und B.A. ROCKWELL: *Non-Linear Absorption Studies of Melanin*. In: JACQUES, S.L., D.D. DUNCAN, S.J. KIRKPATRICK und A. KRIE-TE (Herausgeber): *Laser-Tissue Interactions XIII*, Band 4617, Seiten 161–71, San José, CA, USA (2002). SPIE.
- [226] STRALEN, S. VAN und R. COLE: *Boiling Phenomena*, Band 1. Hemisphere Publishing Corporation, Washington (1979).

- [227] STRALEN, S. VAN und R. COLE: *Boiling Phenomena*, Band 2. Hemisphere Publishing Corporation, Washington (1979).
- [228] STRAUSS, M.: *Persönliche Mitteilung* (2003).
- [229] STRAUSS, M., P.A. AMENDT, R.A. LONDON, D.J. MAITLAND, M.E. GLINSKY, C.P. LIN und M.W. KELLY: *Computational Modeling of Stress Transients and Bubble Evolution in Short Pulse Laser Irradiated Melanosome Particles*. In: JACQUES, S. (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction VIII*, Band 2975, Seiten 261–70, San José, CA, USA (1997). SPIE.
- [230] STRAUSS, M., Y. KAUFMAN, M. SAPIR, P.A. AMENDT, R.A. LONDON und M.E. GLINSKY: *Self-Consistent Coupling of Cavitation Bubbles in Aqueous Systems*. J. Appl. Phys., **91**(7), 4720–5 (2002).
- [231] SUN, J.M., B.S. GERSTMAN und B. LI: *Bubble Dynamics and Shock Waves Generated by Laser Absorption of a Photoacoustic Sphere*. J. Appl. Phys., **88**(5), 2352–62 (2000).
- [232] SUSLICK, K.S.: *Sonochemistry*. Science, **247**, 1439–45 (1990).
- [233] SUSLICK, K.S., Y. DIDENKO, M.M. FANG, T. HYEON, K.J. KOLBECK, W.B. MCNAMARA III, M.M. MDLELENI und M. WONG: *Acoustic Cavitation and Its Chemical Consequences*. Phil. Trans. Roy. Soc. A, **357**, 335–53 (1999).
- [234] SWARTZ, E.T. und R.O. POHL: *Thermal Boundary Resistance*. Rev. Mod. Phys., **61**(3), 605–68 (1989).
- [235] TANAKA, K., H. WAKI, Y. IDO, S. AKITA, Y. YOSHIDA und T. YOSHIDA: *Protein and Polymer Analysis up to M/Z 100,000 by Laser Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*. Rapid Commun. Mass Spectrom., **2**, 151–3 (1988).
- [236] THOMAS, O.C., R.E. CAVICCHI und M.J. TARLOV: *Effect of Surface Wettability on Fast Transient Microboiling Behavior*. Langmuir, **19**, 6168–77 (2003).
- [237] THOMSON, C.R., B.S. GERSTMAN, S.L. JACQUES und M.E. ROGERS: *Melanin Granule Model for Laser-Induced Thermal Damage in the Retina*. B. Math. Biol., **58**(3), 513–53 (1996).
- [238] THORMÄHLEN, I.: *Grenze der Überhitzbarkeit von Flüssigkeiten - Keimbildung und Keimaktivierung*, Band Reihe 3 Nr. 104 der Reihe Fortschrittsberichte VDI. VDI-Verlag, Düsseldorf (1985).

- [239] THORMÄHLEN, I., J. STRAUB und U. GRIGULL: *Refractive Index of Water and Its Dependence on Wavelength, Temperature, and Density*. J. Phys. Chem. Ref. Data, **14**(4), 933–45 (1985).
- [240] TILL, S.J., P.K. MILSOM und G. ROWLANDS: *A New Model for Laser-Induced Thermal Damage in the Retina*. B. Math. Biol., **65**, 731–46 (2003).
- [241] TOTH, C.A., E. WORNIALLO, S. BAILEY, B.A. ROCKWELL und C.P. CAIN: *Methods of Achieving Three Dimensional Reconstruction of Tissue at the Ultrastructural Level Demonstrating the Distribution of Melanosomes within Retinal Pigment Epithelium*. In: JACQUES, S.L., G.J. MÜLLER, A. ROGGAN und D.H. SLINEY (Herausgeber): *Laser-Tissue Interactions X*, Band 3601, Seiten 11–21, San José, CA, USA (1999). SPIE.
- [242] TRUMP, B.F., I.K. BEREZESKY, S.H. CHANG und P.C. PHELPS: *The Pathways of Cell Death: Oncosis, Apoptosis, and Necrosis*. Toxicol. Pathol., **25**(1), 82–8 (1997).
- [243] TYRRELL, J.W.G. und P. ATTARD: *Images of Nanobubbles on Hydrophobic Surfaces and Their Interactions*. Phys. Rev. Lett., **87**(17), 176104–1–4 (2001).
- [244] TYRRELL, J.W.G. und P. ATTARD: *Atomic Force Microscope Images of Nanobubbles on a Hydrophobic Surface and Corresponding Force-Separation Data*. Langmuir, **18**, 160–7 (2002).
- [245] VENKATESH, S., J.-W. SON, J.E. FOUQUET, R.E. HAVEN, D. SCHROEDER, H. GUO, W.Y. WANG, P. RUSSEL, A. CHOW und P.F. HOFFMAN: *Recent Advances in Bubble-Actuated Photonic Cross-Connect Switches*. In: ROBBINS, D.J. und G.E. JABBOUR (Herausgeber): *Silicon-based and Hybrid Optoelectronics IV*, Band 4654, Seiten 27–35, San José, CA, USA (2002). SPIE.
- [246] VENUGOPALAN, V., A. GUERRA III, K. NAHEN und A. VOGEL: *Role of Laser-Induced Plasma Formation in Pulsed Cellular Microsurgery and Micromanipulation*. Phys. Rev. Lett., **88**(7), 0781031–4 (2002).
- [247] VITKIN, I.A., J. WOOLSLEY, B.C. WILSON und R.R. ANDERSON: *Optical and Thermal Characterization of Natural Melanin*. Photochem. Photobiol., **59**(4), 455–62 (1994).
- [248] VIVIEN, L., D. RIEHL, E. ANGLARET und F. HACHE: *Pump-Probe Experiments at 1064nm in Singlewall Carbon Nanotube Suspensions*. IEEE J. Quantum. Electron., **36**(6), 680–6 (2000).

- [249] VOGEL, A. und R. BIRNGRUBER: *Temperature Profiles in Human Retina and Choroid During Laser Coagulation with Different Wavelengths Ranging from 514 to 810nm*. *Lasers and Light in Ophthalmology*, **5**(1), 9–16 (1992).
- [250] VOGEL, A. und S. BUSCH: *Shock Wave Emission and Cavitation Bubble Generation by Picosecond and Nanosecond Optical Breakdown in Water*. *J. Acoust. Soc. Am.*, **100**(1), 148–65 (1996).
- [251] VOGEL, A., M.R.C. CAPON, M.N. ASIYO-VOGEL und R. BIRNGRUBER: *Intraocular Photodisruption with Picosecond and Nanosecond Laser Pulses: Tissue Effects in Cornea, Lens and Retina*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **35**(7), 3032–44 (1994).
- [252] VOGEL, A., W. HENTSCHEL, J. HOLZFUSS und W. LAUTERBORN: *Cavitation Bubble Dynamics and Acoustic Transient Generation in Ocular Surgery with Pulsed Neodymium:YAG Lasers*. *Ophthalmology*, **93**(10), 1259–69 (1986).
- [253] VOGEL, A. und W. LAUTERBORN: *Acoustic Transient Generation by Laser-Produced Cavitation Bubbles near Solid Boundaries*. *J. Acoust. Soc. Am.*, **84**(2), 719–31 (1988).
- [254] VOGEL, A., R.J. SCAMMON und R.P. GODWIN: *Tensile Stress Generation by Optical Breakdown in Tissue: Experimental Investigations and Numerical Simulations*. In: *Laser-Tissue Interaction X: Photochemical, Photohermal, and Photomechanical*, Band 3601, Seiten 191–206, San José, CA, USA (1999). SPIE.
- [255] VOGEL, A., P. SCHWEIGER, A. FRIESER, M.N. ASIYO und R. BIRNGRUBER: *Intraocular Nd:YAG Laser Surgery: Light-Tissue Interaction, Damage Range, and Reduction of Collateral Effects*. *IEEE J. Quantum. Electron.*, **26**(12), 2240–60 (1990).
- [256] VOGEL, A. und V. VENUGOPALAN: *Mechanisms of Pulsed Laser Ablation in Biological Tissues*. *Chem. Rev.*, **103**, 577–644 (2003).
- [257] WAGNER, J.W.: *Optical Detection of Ultrasound*. In: THURSTON, R.N. und A.D. PIERCE (Herausgeber): *Ultrasonic Measurement Methods*, Band 19 der Reihe *Physical Acoustics*, Seiten 201–66. Academic Press, San Diego (1990).
- [258] WANG, X., Y. PANG, G. KU, X. XIE, G. STOICA und L.V. WANG: *Noninvasive Laser-Induced Photoacoustic Tomography for Structural and Functional in Vivo Imaging of the Brain*. *Nat. Biotechnol.*, **21**(7), 803–6 (2003).

- [259] WIESCHE, S. AUS DER, C. REMBE und E.P. HOFER: *Boiling of Superheated Liquids near the Spinodal: I General Theory*. Heat Mass Transfer, **35**, 25–31 (1999).
- [260] WILLIAMS, M.A., L.H. PINTO und J. GHERSON: *The Retinal Pigment Epithelium of Wild Type (C57BL/6J +/+) and Pearl Mutant (C57BL/6J pe/pe) Mice*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **26**(5), 657–69 (1985).
- [261] WILSON, O.M., X. HU, D.G. CAHILL und P.V. BRAUN: *Colloidal Metal Particles as Probes of Nanoscale Thermal Transport in Fluids*. Phys. Rev. B, **66**, 224301–6 (2002).
- [262] WOLBARSH, M.L. und M.B. LANDERS III: *The Rationale of Photocoagulation Therapy for Proliferative Diabetic Retinopathy: A Review and a Model*. Ophth. Surg., **11**(4), 235–45 (1980).
- [263] WOLBARSH, M.L., A.W. WALSH und G. GEORGE: *Melanin, a Unique Biological Absorber*. Appl. Opt., **20**(13), 2184–6 (1981).
- [264] WOLFRUM, B., R. METTIN, T. KURZ und W. LAUTERBORN: *Observations of Pressure-Wave-Excited Contrast Agent Bubbles in the Vicinity of Cells*. Appl. Phys. Lett., **81**(26), 5060–2 (2002).
- [265] WONG, J.Y., J. MAJEWSKI, M. SEITZ, C.K. PARK, J.N. ISRAELACHVILI und G.S. SMITH: *Polymer-Cushioned Bilayers. I. A Structural Study of Various Preparation Methods Using Neutron Reflectometry*. Biophys. J., **77**, 1445–57 (1999).
- [266] WU, C.C. und P.H. ROBERTS: *Shock-Wave Propagation in a Sonoluminescing Gas Bubble*. Phys. Rev. Lett., **70**(22), 3424–7 (1993).
- [267] WURSTER, C., M. KÖHLER, R. PECHA, W. EISENMENGER, D. SUHR, U. IRMER, F. BRÜMMER und D. HÜLSER: *Negative Pressure Measurements of Water Using the Glass Fiber Optic Hydrophone*. In: *1st World Congress on Ultrasonics*, Seiten 635–8, Berlin (1995).
- [268] YAVAS, O., P. LEIDERER, H.K. PARK, C.P. GRIGOROPOULOS, C.C. POON, W.P. LEUNG, N. DO und A.C. TAM: *Optical and Acoustic Study of Nucleation and Growth of Bubbles at a Liquid-Solid Interface Induced by Nanosecond-Pulsed-Laser Heating*. Appl. Phys. A, **58**, 407–15 (1994).
- [269] YAVAS, O., A. SCHILLING, J. BISCHOF, J. BONEBERG und P. LEIDERER: *Bubble Nucleation and Pressure Generation During Laser Cleaning of Surfaces*. Appl. Phys. A, **64**, 331–9 (1997).

- [270] ZHANG, X.H., X.D. ZHANG, S.T. LOU, Z.X. ZHANG, J.L. SUN und J. HU: *Degassing and Temperature Effects on the Formation of Nanobubbles at the Mica/Water Interface*. *Langmuir*, **20**, 3813–5 (2004).
- [271] ZHAROV, V.P.: *Far-Field Photothermal Microscopy Beyond the Diffraction Limit*. *Opt. Lett.*, **28**(15), 1314–6 (2003).
- [272] ZHAROV, V.P., V. GALITOVSKY und M. VIEGAS: *Photothermal Detection of Local Thermal Effects During Selective Nanophotothermolysis*. *Appl. Phys. Lett.*, **83**(24), 4897–9 (2003).
- [273] ZHIGILEI, L.V. und B. GARRISON: *Computer Simulation Study of Damage and Ablation of Submicron Particles from Short-Pulse Laser Irradiation*. *Appl. Surf. Sci.*, **127-129**, 142–50 (1998).
- [274] ZHIGILEI, L.V. und B. GARRISON: *Microscopic Simulation of Short Pulse Laser Damage to Melanin Particles*. In: JACQUES, S.L. (Herausgeber): *Laser-Tissue Interaction IX*, Band 3254, Seiten 135–43, San José, CA, USA (1998). SPIE.
- [275] ZONENKO, S.I.: *On the Numerical Investigation of the Dynamics of a Vapor Blanket near a Heated Solid Particle Submerged in a Liquid*. *Izv. AN SSSR Mekh. Zhidk. Gaza*, **4**(in Russian), 154–8 (1985).

Publikationen zur Promotion

- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Interferometric Detection of Laser Induced Microbubbles in the Retinal Pigment Epithelium*. In: BIRNGRUBER, R. and H. VAN DEN BERG (eds.): *Laser-Tissue Interactions, Therapeutic Applications, and Photodynamic Therapy*. Proc. SPIE **4433**, 81–86 (2001)
- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Microbubble Dynamics around Melanosomes Irradiated with Microsecond Pulses*. In: JACQUES, S. L., D. D. DUNCAN, S. J. KIRKPATRICK and A. KRIETE (eds.): *Laser-Tissue Interactions XIII: Photochemical, Photothermal, and Photomechanical*. Proc. SPIE **4617**, 180–186 (2002)
- NEUMANN J., R. HAGENAU, G. SCHÜLE, B. SCHWEDA and R. BRINKMANN: *Finite Element Calculation of the Temperature Distribution in a RPE Cell during and after μ s-laser Exposure*, D el egation G en erale pour l'Armement, Commissariat   l' nergie Atomique, Austrian Research Centers, International Commission on Non Ionizing Radiation Protection (eds.): *Proceedings Laser Bioeffects Meeting*, Paris, June 13–14th, P2 1–6 (2002)
- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Microbubble Dynamics around Laser Heated Microparticles*. In: STEINER, R. W. (ed.): *Therapeutic Laser Applications and Laser-Tissue Interactions*. Proc. SPIE **5142**, 82–87 (2003)
- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Interferometric Non-contact On-line Treatment Control During Selective Retina Treatment (SRT)*. In: JACQUES, S. L. and W. P. ROACH (eds.): *Optical Interactions with Tissue and Cells XVI*. Proc. SPIE **5695**, 340–347 (2005)
- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Boiling Nucleation on Melanosomes and Microbeads Transiently Heated by Nanosecond and Microsecond Laser Pulses*. J. Biomed. Opt. **10**(2), 024001 (2005)
- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Nucleation and Dynamics of Bubbles Forming around Laser Heated Microabsorbers*. In: VAN DEN BERG, H. and A. VOGEL (eds.): *Therapeutic Laser Applications and Laser Tissue Interactions II*. Proc. SPIE **5863**, im Druck (2005)

- NEUMANN, J. and R. BRINKMANN: *Interferometric monitoring of cell killing by laser induced microbubbles.* (eingereicht bei Las. Surg. Med.)

Weitere Publikationen sind in Vorbereitung.

Danksagung

Mein Dank gilt PD Dr. rer. nat. Alfred Vogel für die Ermöglichung dieser Dissertation und seiner Bereitschaft, die Ergebnisse meiner Arbeit kritisch zu hinterfragen und zu diskutieren.

Herrn Dipl.-Phys. Ralf Brinkmann danke ich für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe. Er fand als Betreuer in den vergangenen Jahren stets Zeit für hilfreiche Anregungen und Diskussionen, die zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen. Das Heranführen an einen wissenschaftlichen Austausch im Rahmen von internationalen Kooperationen, Konferenzbesuchen und der Zusammenarbeit mit Industriepartnern habe ich als große Bereicherung für meine Arbeit empfunden.

Besonderer Dank gebührt Prof. Dr. phil. nat. Birngruber für die Unterstützung bei der Einwerbung von Drittmitteln und Stipendien zur Finanzierung dieser Arbeit.

Ich danke allen Mitarbeitern und Kooperatoren der Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH für ihre Unterstützung, zahlreiche nützliche Diskussionen sowie für die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Der FAZIT-Stiftung Gemeinnützige Verlagsgesellschaft mbH danke ich für die Gewährung eines Promotions-Stipendiums und die Ermöglichung der aktiven Teilnahme an internationalen Konferenzen durch Reisestipendien. Diese Arbeit wurde zusätzlich durch Mittel der Firma Lumenis Ltd. (Santa Clara, CA, USA) und des BMBF unterstützt.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Jörg Neumann
geboren 16. August 1973 in Marne
Staatsangehörigkeit deutsch

Schule, Zivildienst

11.06.93 Abitur am Gymnasium Brunsbüttel (Note 1,1)
07/93 – 09/94 Zivildienst im Kreisjugendheim „Haus am Klev“,
St. Michaelisdonn

Studium

10/94 – 03/00 Studium der Physik an der Christian-Albrechts-
Universität, Kiel
30.10.96 Vordiplom (Note: sehr gut)
10/96 – 11/98 Hauptstudium, Schwerpunkte: Angewandte Optik, Atom-
und Plasmaphysik, Nebenfach: Mathematik (Numerik)
12/98 – 01/00 Institut für Experimentelle und Angewandte Physik,
Arbeitsgruppe Atom- und Plasmaphysik (Prof. Dr. Helbig)
Diplomarbeit: „Bestimmung der elektrischen Feldstärke im
Kathodenfall einer Niederdruck-Gasentladung über den
STARK-Effekt der Wasserstofflinie H_{α} mittels optogalva-
nischer Laserspektroskopie“
26.03.2000 Diplom-Physiker (Note: mit Auszeichnung)

Anstellungen als wissenschaftliche Hilfskraft

10/97 – 02/98 Tutor für Theoretische Physik
10/98 – 07/99 Mitbetreuung des „Physikalischen Praktikums für Medizi-
ner“

Promotionsstudium

04/00–12/04 Universität zu Lübeck und Medizinisches Laserzentrum Lü-
beck GmbH
10/01 – 09/03 Promotionsstipendiat der FAZIT-Stiftung, Frankfurt am
Main

Berufstätigkeit

seit 04/00 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Projekt „Selektive
Retina-Therapie (SRT)“

- Untersuchung der Laser-Gewebe-Wechselwirkung
bei der SRT
- Entwicklung eines interferometrischen Echtzeit-Detektions-
systems für die laserinduzierten SRT-Effekte. Dieses Verfah-
ren ist mit dem „Innovationspreis Medizintechnik 2004“
des BMBF ausgezeichnet worden.