

## 2 Grundlagen

### 2.1 Die Probe Bakteriorhodopsin

Das Archae<sup>10</sup> *Halobacterium salinarium* (früher *Halobacterium halobium*) ist eine rötlich gefärbte prokaryotische<sup>11</sup> Zelle. Sie besitzt eine zylindrische Form mit einem typischen Durchmesser von 0.5 µm und einer typischen Länge von 5 µm. Man findet die Bakterien vorwiegend in natürlichen Salzseen und Salinen, wo sie dann für die vorherrschende Rotfärbung verantwortlich sind. Sie fühlen sich in dieser lebensfeindlichen Umgebung mit geringem Sauerstoffgehalt, hohem osmotischen Druck und intensiver Sonneneinstrahlung wohl. Die Salzkonzentration muß sogar über 3 molar liegen und beträgt idealer Weise 4.3 molar.<sup>12</sup> Das Transmembranprotein Bakteriorhodopsin<sup>13,14</sup> ist ein Grund, warum diese Zelle Stoffwechsel betreiben und überleben kann.

Werden die Zellen reinem Wasser zugefügt, dann brechen sie auf. Die so erhaltenen Fragmente können durch Zentrifugieren getrennt und durch ihre Farbe unterschieden werden. Der violette Anteil besteht aus 48 Å dicken Membranfragmenten, die auf Grund der Farbe auch Purpurmembran genannt werden. Sie können mit einem Durchmesser von bis zu 5 µm bis zu 80 % der Gesamtfläche der Zellmembran der lebenden Zelle einnehmen. Bezogen auf ihr Gewicht besteht die Purpurmembran zu 25% aus Lipiden und zu 75% aus Bakteriorhodopsin.<sup>15</sup>

#### 2.1.1 Struktur

Bakteriorhodopsin gehört zu der Gruppe der Vitamin-A-Aldehyd beinhaltenden Membranproteine, die auch Retinalproteine genannt werden und gehört mit einem Molekulargewicht von 26 kDa auch zu der Gruppe kleinerer Proteine. Das Retinal ist auch das lichtabsorbierende Element im Rhodopsin, dem Sehpurpur in den Stäbchenzellen der menschlichen Netzhaut. Durch diese Verwandtschaft kam Bakteriorhodopsin ("bakterielles Rhodopsin") zu seinem Namen.

Die Primärstruktur wurde durch Proteinsequenzierung bestimmt<sup>16</sup> und konnte durch DNA-Sequenzierung bestätigt werden.<sup>17</sup> Diese Ergebnisse führten zusammen mit Neutronenstreuung an deuterierten Proben, kryoelektronenmikroskopischen Aufnahmen biochemisch orientierter oder mar-

---

<sup>10</sup> Das irdische Leben umfaßt drei große Urreiche, nämlich die Bacteria (=Eubakterien= echte Bakterien wie z.B. Purpurbakterien, Cyanobakterien, ...), die Archae (=Archaeobakterien, wie z.B. Halobakterium, Thermoplasma, ...) und die Eukarya (z.B. Pilze, Tiere, grüne Pflanzen, ..), nach Voet D. et al, *Biochemie*, VCH 1994, 3 ff

<sup>11</sup> Zellen lassen sich unterteilen in Prokaryoten und Eukaryoten. Erstere besitzen keinen membranumhüllten Zellkern.

<sup>12</sup> Eine 4.3 molare Salzlösung entspricht 250 g Salz in einem Liter Lösung. Meerwasser ist eine 0.6 molare Salzlösung.

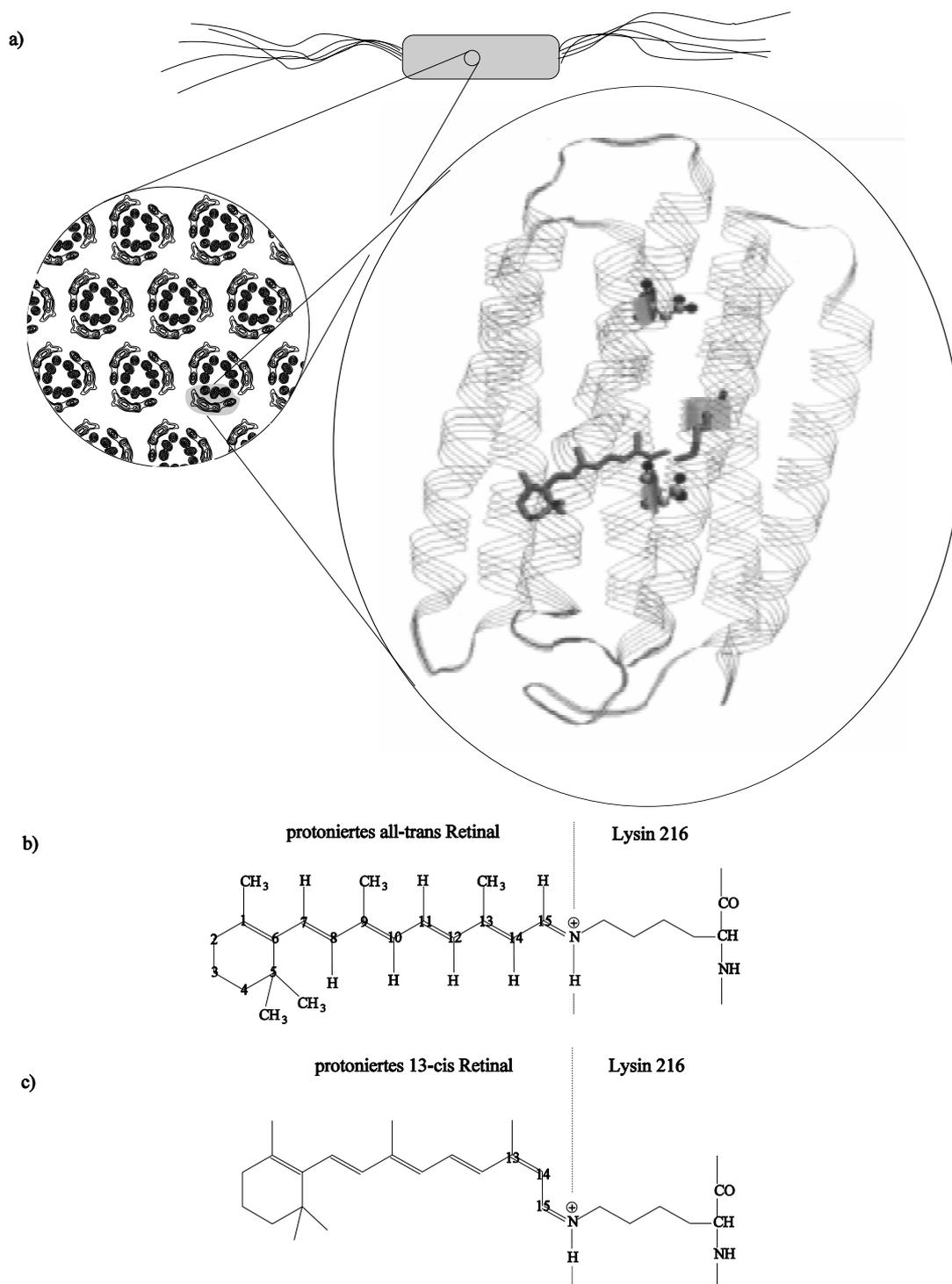
<sup>13</sup> Übersichtsartikel: Ottolenghi M. et al, *Isr. J. Chem.* **35** (1995), 193; Oesterhelt D. et al, *Quart. Rev. Biophys.* **24** (1991), 425; Stoeckenius W., *Sci. Am.* **6** (1976), 38; Unwin N. et al, *Spektrum der Wissenschaften* **4** 1984, 60; Khorana H.G., *J. Biol. Chem.* **263** (1988), 7439

<sup>14</sup> Oesterhelt D. et al, *Nature New Biol.* **233** (1971), 149 / Blaurock A.E. et al, *Nature New Biol.* **233** (1971), 152

<sup>15</sup> Glaeser R.M. et al, *Biophys. J* **48** (1985), 775

<sup>16</sup> Ovchinnikov Y.A. et al, *FEBS Lett.* **100** (1979), 219; Khorana H.G. et al, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **76** (1979), 5046

<sup>17</sup> Dunn R. et al, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **78** (1981), 6744



**Abbildung 1:** a) Skizze der elektronenmikroskopischen Aufnahme des *Halobacterium salinarium* einschließlich der Geißeln, die zur Fortbewegung dienen (nach Stoeckenius W., Sci. Am. **6** (1976), 38). Die erste Vergrößerung zeigt die Skizze einer elektronenmikroskopischen Aufsicht der Purpormembran (nach Unwin N. et al, Sci. Am. **2** (1984), 64) und die nächste Vergrößerung zeigt die Seitenansicht des Hendersonmodells. In dieser Ansicht befindet sich die zytoplasmatische Seite oben und die extrazelluläre unten. Neben dem Proteinrückgrat sind das an Lys216 gebundene Retinal (Mitte) und die beiden Schlüsselaminosäuren Asp96 (oben) und Asp85 (unten) eingezeichnet (aus <http://pdb.pdb.bnl.gov>, Protein Data Bank Brookhaven National Laboratory, "2brd.pdb"). b) Vereinfachte Formeln von all-trans und c) 13-cis Retinal mit protonierter Schiffischer Base. Ecken und Enden symbolisieren Kohlenstoffatome mit eventuell daran gebundenen Wasserstoffatomen (aus Khorana H.G., J. Biol. Chem. **263** (1988), 7440).

kierter Membran und Gefrierbruchstudien zu der Sekundär- und Tertiärstruktur.<sup>18</sup> Neuere kryoelektronenmikroskopische<sup>19</sup> Aufnahmen ergaben ein Bild bei einer Auflösung von 3.5 Å parallel und 4.5 Å senkrecht zur Membranebene und führten schließlich zum Hendersonmodell, einem Strukturmodell mit atomarer Auflösung. Erst in jüngster Zeit konnte durch Röntgenbeugung an Bakteriorhodopsin, eingebettet in Mikrokristallen aus "serpentinartig" gefalteten Lipiden die Auflösung zu 2.4 Å verbessert werden.<sup>20</sup>

Blickt man senkrecht auf die Purpurmembraan (Abbildung 1 a), dann zeigt sich ein zweidimensionaler, hexagonaler Proteinkristall (P3-Symmetrie) aus Bakteriorhodopsintrimeren mit 10 dazwischen liegenden Lipiden<sup>21</sup> pro Einheitszelle (62 Å · 62 Å). Ein Bakteriorhodopsinmolekül besteht aus 248 Aminosäuren, die eine Polypeptidkette bilden. Die Kette durchdringt die Membran in Form von sieben  $\alpha$ -Helices (A-G), die außerhalb durch Schleifen (Loops) verbundenen sind und innerhalb eine Kavität begrenzen. Neutronenstreuung an teilweise deuterierten Retinalen zeigt, daß sich ein Retinal in der Mitte dieses interhelicalen Raumes<sup>22</sup> befindet. Es ist zudem kovalent durch eine protonierte Schiffische Base mit dem Lys216 der Helix G verbunden und wird durch elektrostatische und sterische Wechselwirkung mit dem umgebenden Protein in seiner Bewegungsfreiheit im wesentlichen auf zwei sterische Zustände, nämlich all-trans (Abbildung 1 b) und 13-cis eingeschränkt (Abbildung 1 c).

Dichroismus-Messungen<sup>23</sup> zeigen, daß die Längsachse des Chromophors im Proteinquerschnitt (Abbildung 1 a) um 21° gegen die Membranebene und sein Zylohexanring senkrecht zur Membranebene orientiert ist. Zusammen mit der nahezu mittig gelegenen protonierten Schiffischen Base teilt es den interhelicalen Raum in zwei Teile auf, nämlich in einen extrazellulären- und einen cytoplasmatischen Kanal. Erster ist breit und hydrophob und beinhaltet ein komplexes Gegenion zum positiv geladenen Stickstoff der Schiffischen Base. Das Gegenion wird aus einem Netzwerk aus wasserstoffverbrückten Aminosäuren Asp85, Asp212, Tyr185, Tyr57, Arg82, Thr89 und mehreren Wassermolekülen gebildet.<sup>24</sup> Der zyttoplasmatische Kanal ist dagegen schmal und hydrophil und beinhaltet neben der protonierten Schlüsselaminosäure Asp96 und Wassermolekülen ebenfalls ein wasserstoffverbrücktes System.

### 2.1.2 Funktion

Bakteriorhodopsin ist eine vektorielle Protonenpumpe, die es dem *Halobacterium salinarium* ermöglicht, unter anaeroben Bedingungen Stoffwechsel zu betreiben. Nach Lichtanregung wird ein

---

<sup>18</sup> Engelmann D.M. et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **77** (1980), 5894; Henderson R. et al, J. Mol. Biol. **123** (1978), 259; Hayward S.B. et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **75** (1978), 4320; Engelmann D.M. et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **77** (1980), 5894; Trewhella J. et al, EMBO J. **5** (1986), 3045; Popot J.L. et al, J. Mol. Biol. **210** (1989), 829

<sup>19</sup> Henderson R. et al, J. Mol. Biol. **94** (1975), 425; Henderson R. et al, J. Mol. Biol. **213** (1990), 899; Grigorieff T.A. et al, J. Mol. Biol. **259** (1996), 393

<sup>20</sup> Moffat A.S., Science **277** (1997), 1607; Pebay-Peyroula E. et al, Science **277** (1997), 1676

<sup>21</sup> Blaurock A.E. et al, Nature New Biol. **233** (1971), 152

<sup>22</sup> Jubb J.S. et al, EMBO J. **3** (1984), 1455; Seiff F. et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **82** (1985), 3227; Heyn M.P. et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **85** (1988), 2146

<sup>23</sup> Ebrey T.G. et al, J. Mol. Biol. **112** (1977), 377; Heyn M.P. et al, J. Mol. Biol. **117** (1977), 607; Lin S.W. et al, Biophys. J. **56** (1989), 653; Hauss T. et al, Biochem. **29** (1990), 4904

<sup>24</sup> Humphrey W. et al, Biochem. **33** (1994), 3668; De Groot H.J.M. et al, Biochem. **28** (1989), 3346; Papadopolous G. et al, J. Mol. Biol. **214** (1990), 15

Proton<sup>25</sup> von der cytoplasmatischen zur extrazellulären Seite der Membran gepumpt. Es baut sich auf diese Weise ein Protonengradient auf, der von einem weiteren Membranprotein, dem Enzym ATPase genutzt werden kann, um ATP aus ADP + P<sub>i</sub> zu synthetisieren.<sup>26</sup> Mit Hilfe von Bakteriorhodopsin wird also Licht in chemische Energie umgewandelt und in Form eines stabilen, für Zellen typischen Energielieferanten gespeichert.

Die Protonentransportfunktion des Moleküls läßt sich auf den spektroskopisch definierten Fotozyklus<sup>27</sup> abbilden (Abbildung 2).<sup>28</sup> Nach Lichtanregung isomerisiert der Chromophor von all-trans nach 13-cis und relaxiert über *K* nach *L*, wo die Voraussetzungen für die Protonenabgabe geschaffen werden. Beim Übergang nach *M*<sub>1</sub> erfolgt die Abgabe des Protons der Schiffsbasis an Asp85.<sup>29</sup> Zur gleichen Zeit gibt ein noch nicht identifizierter Protonendonator "XH" sein gebundenes Proton an die extrazelluläre Seite der Membran ab. Die dann folgende *M*<sub>1</sub>-*M*<sub>2</sub>-Relaxation<sup>30</sup> wird als Schaltfunktion interpretiert, die eine Protonenwiederaufnahme von Asp85 verhindert. Dieser Schalter bedingt also den vektoriellen Charakter des Protonentransportes. Nachdem die Schiffsbasis durch ein Proton von Asp96 reprotoniert wurde, erfolgt in *N* eine Protonenaufnahme von der cytoplasmatischen Seite verbunden mit einer Reoisomerisierung des Chromophors nach all-trans. Ein weiterer interner Protonentransport von Asp85 nach "XH" findet beim Übergang vom *O* zum Grundzustand statt. Das Molekül liegt nun wieder im Ausgangszustand vor und der Zyklus kann von neuem durchlaufen werden.

### 2.1.3 Optische Charakterisierung der ersten Zustände

#### Das statische Spektrum des Bakteriorhodopsins (in lichtadaptierter Form)

Im statischen Spektrum (Abbildung 3) sind vier Banden zu sehen. Die Grundzustandsbande bei 568 nm (Übergang: *S*<sub>0</sub> → *S*<sub>1</sub>) und eine Bande bei 400 nm (Übergang: *S*<sub>0</sub> → *S*<sub>n</sub>) werden dem Chromophor zugeschrieben. Aromatische Aminosäuren (Tyr, Trp, Phe) des Proteins führen dagegen zu der Bande bei 280 nm.<sup>31</sup> Die letzte Bande bei 200 nm, die sich in Abbildung 3 nur andeutet, wird durch die Peptide gebildet.

Die Grundzustandsbande ist durch eine starke Ankopplung des elektronischen Überganges an Torsionsmoden verbreitert<sup>32</sup>. Sie hat einen Extinktionskoeffizienten<sup>33</sup> von  $\epsilon(570\text{nm}) = 62700 \text{ l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  und ihre Position ist im Vergleich zu Retinal mit protonierter

<sup>25</sup> Drachev L.A. et al, FEBS Lett. **178** (1984), 331; Grzeiek S. et al, FEBS Lett. **208** (1986), 337; Braun D. et al, Biophys. J. **53** (1988), 617; Kouyama T. et al, Biochem. **27** (1988), 5855

<sup>26</sup> Racker E. et al, J. Biol. Chem. **249** (1974), 662

<sup>27</sup> Lanyi J.K., Biochim. Biophys. Acta **1183** (1993), 241

<sup>28</sup> De Groot H.J.M. et al, Biochem **28** (1989), 3346; Blatz P.E. et al, Biochem. **11** (1972), 848; Schulten K. et al, J. Chem. Phys. **73** (1980), 3927; Tavan P. et al, Biophys. J. **47** (1985), 415; Großjean M.F. et al, J. Chem. Phys. **88** (1988), 4884

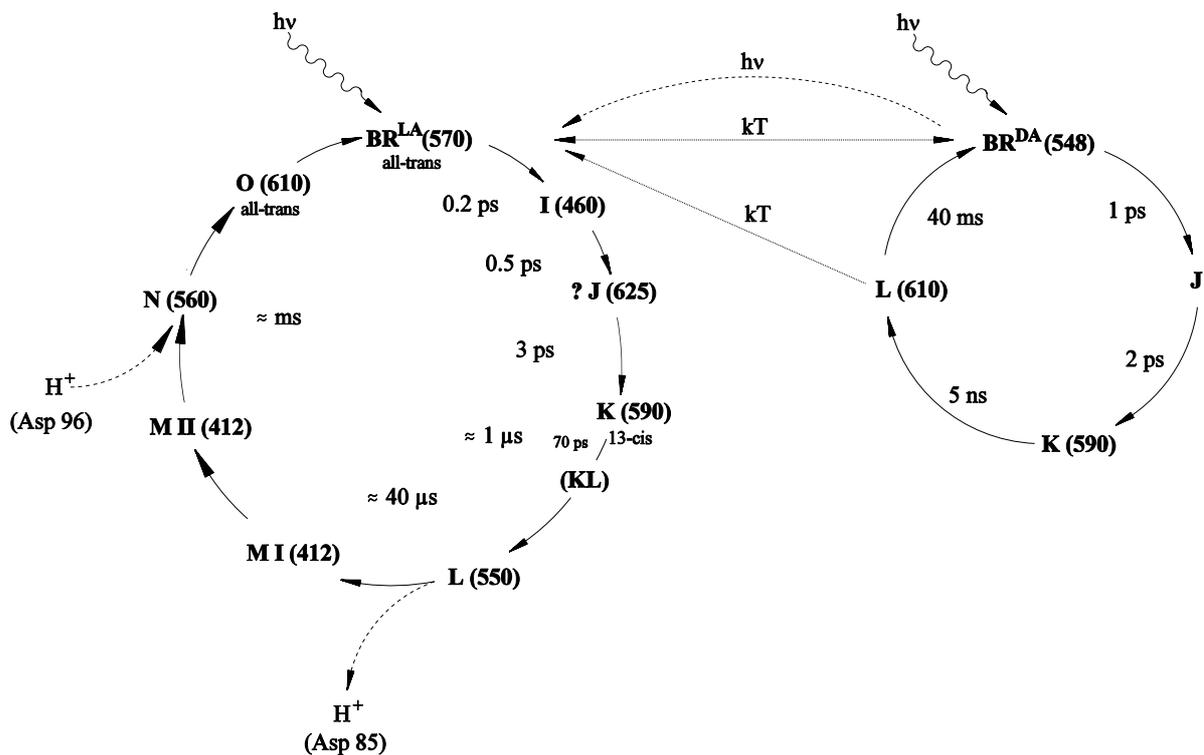
<sup>29</sup> Holz M. et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **86** (1989), 2167; Tittor J. et al, EMBO J. **8** (1989), 3477; Miller A. et al, Biochim. Biophys. Acta **1020** (1990), 57

<sup>30</sup> Várò G. et al, Biochem. **29** (1990), 2241; Várò G. et al, Biophys. J. **59** (1991), 313

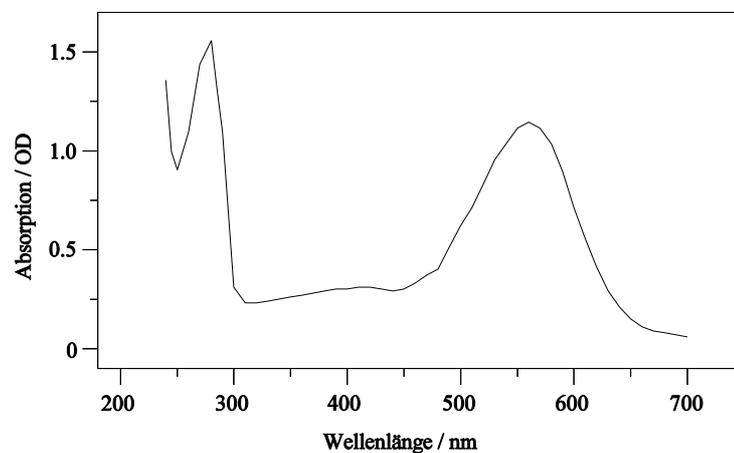
<sup>31</sup> Becher B. et al, Biochem. **17** (1978), 2293; Birge R.R., Biochem. Biophys. Acta **1016** (1990), 299; Mathies R.A., in Sauer K., *Biochemical Spectroscopy*, Meth. Enzym. **246**, Academic Press, 1995, 377

<sup>32</sup> Lee I. et al, Chem. Phys. Lett. **156** (1989), 227; Kamalov V.F. et al, J. Phys. Chem. **100** (1996), 2762; Loppnow G.R. et al, Phys. Chem. **96** (1992), 737; Friedrich J. et al, Angew. Chem. **96** (1984), 96

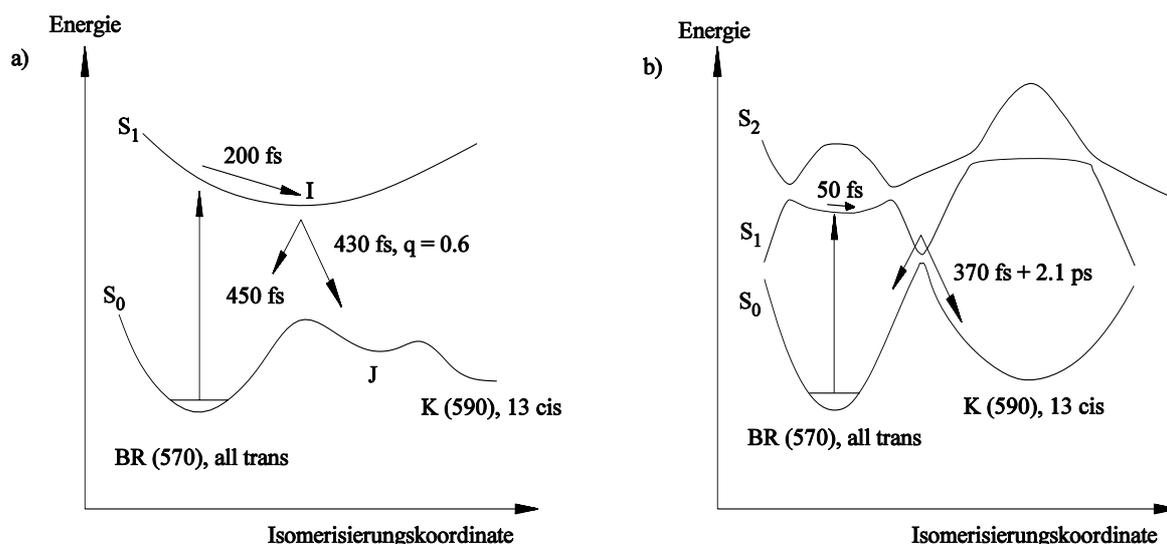
<sup>33</sup> Rehorek M. et al, Biochem. **18** (1979), 4977



**Abbildung 2:** Fotozyklus für lichtadaptiertes (LA) und dunkeladaptiertes (DA) Bakteriorhodopsin (BR). In Klammern sind die Absorptionsmaxima der optischen Banden der Intermediate vermerkt. Nur im lichtadaptierten Zustand kommt es zu einem vektoriellen Protonentransport. Der dunkeladaptierte Zustand stellt sich in Abwesenheit von Licht nach einer Stunde ein. Das Molekül besteht dann aus einer 2:1 Mischung von 13-cis, 15-syn und all-trans Retinal. Mit Hilfe von Licht kann der dunkeladaptierte in den lichtadaptierten Zustand überführt werden. Nach Lanyi et al stellt der präsentierte Fotozyklus die einfachste Interpretation zeitaufgelöster optischer Absorptionsmessungen dar. Verzweigungs- und Rückreaktionen können experimentell nicht ausgeschlossen werden. Xu D. et al, *Biophys. J.* **70** (1996), 454; Doig S.J. et al, *J. Phys. Chem.* **95** (1991), 6372; Schulten K., *Isr. J. Chem.* **35** (1995), 448; Lanyi J.K. et al, *Isr. J. Chem.* **35** (1995), 365



**Abbildung 3:** Ein optisches Spektrum eines feuchten Bakteriorhodopsinfilmes auf  $CaF_2$ . Das Spektrum wurde mit einem Shimadzu UV-240 Spektrometer aufgenommen.



**Abbildung 4:** Potentialmodelle der Isomerisierungsreaktion von Bakteriorhodopsin nach optischer Anregung. a) nach Zinth, Mathies, Shank und b) nach Hasson, Anfinrud. Diese Potentialmodelle beschreiben den Verlauf optischer Pikosekunden- und Femtosekundenmessungen qualitativ und reduzieren dabei die Dynamik, welche eigentlich in einem hochdimensionalen Reaktionskoordinatenraum stattfindet, auf die Projektion der Isomerisierungscoordinate.

Schiffscher Base in Methanollösung um  $5100\text{ cm}^{-1}$  rotverschoben. Diese opsin-Verschiebung<sup>34</sup> wird einer schwachen Wasserstoffbrückenbindung zwischen der protonierten Schiffschen Base und dem Gegenion, der 6-s-trans Konfiguration im Gegensatz zur 6-s-cis Konfiguration in Lösung und der Anwesenheit polarer Proteine in der Nähe des Ionen-Ringes zugeschrieben.

Im Rahmen dieser Arbeit wird die Grundzustandsbande angeregt (540 nm), um einerseits den Fotozyklus zu starten und andererseits Normalmoden des Retinals anzuregen.

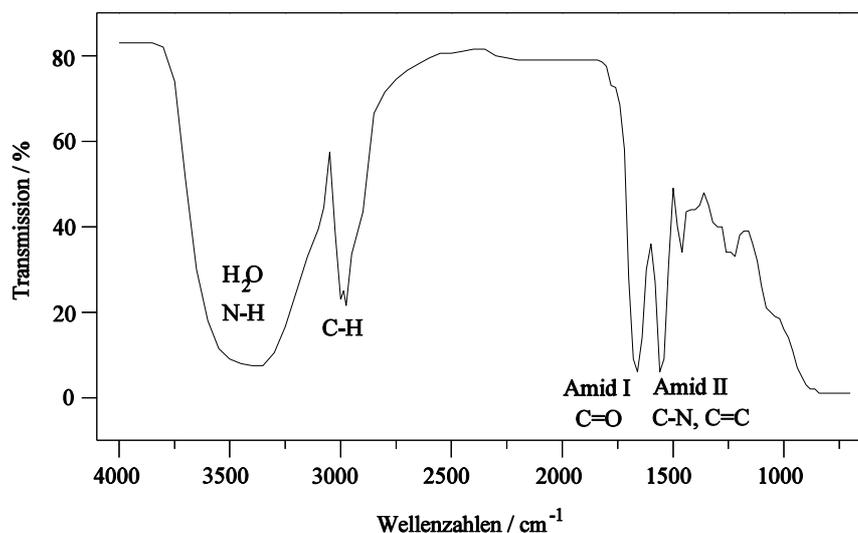
### Die Potentialmodelle

Diese Modelle liefern im Vergleich zum Fotozyklus ein detaillierteres molekülphysikalisches Bild der Prozesse, die nach optischer Anregung erfolgen. Der dargestellte Zeitbereich umfaßt in der Regel die ersten Intermediate *I*, *J* und *K*. Im Hinblick auf die noch zu beschreibende Simulation der zeitabhängigen Absorption der Ethenbande (Kapitel 2.3.4) sind diese Modelle von großer Bedeutung.

Eine Vielzahl von optischen Pikosekunden- (ps) und subps-Experimenten führt zu dem in Abbildung 4 a) dargestellten Potentialmodell.<sup>35</sup> Nach Anregung in den Franck-Condon-Bereich der angeregten Potentialfläche  $S_1$  kommt es zu einer schnellen und dephasierenden Relaxation im angeregten Zustand entlang der Isomerisierungscoordinate. Dieser Prozeß ist nach ca. 200 fs abgeschlossen. Das Retinalmolekül liegt dann zwischen einer all-trans und einer 13-cis Konfigura-

<sup>34</sup> Nakanishi K. et al, J. Am. Chem. Soc. **102** (1980), 7945; Mathies R.A. et al, Ann. Rev. Biophys Chem. **20** (1991), 491

<sup>35</sup> Sharkov A.V. et al, Biochemi. Biophys. Acta **808** (1985), 94; Nuss M.C. et al, Chem. Phys. Lett. **117** (1985), 1; Pollard H.J. et al, Biophys. J. **49** (1986), 651; Dobler J. et al, Chem. Phys. Lett. **144** (1988), 215; Mathies R.A. et al, Science **240** (1988), 777; Dexheimer S.L. et al, Chem. Phys. Lett. **188** (1992), 61; Pollard W.T. et al, J. Chem. Phys. **90** (1989), 199; Pollard W.T. et al, J. Chem. Phys. **92** (1990), 4012; Du M. et al, Biophys. Chem. **48** (1993), 101



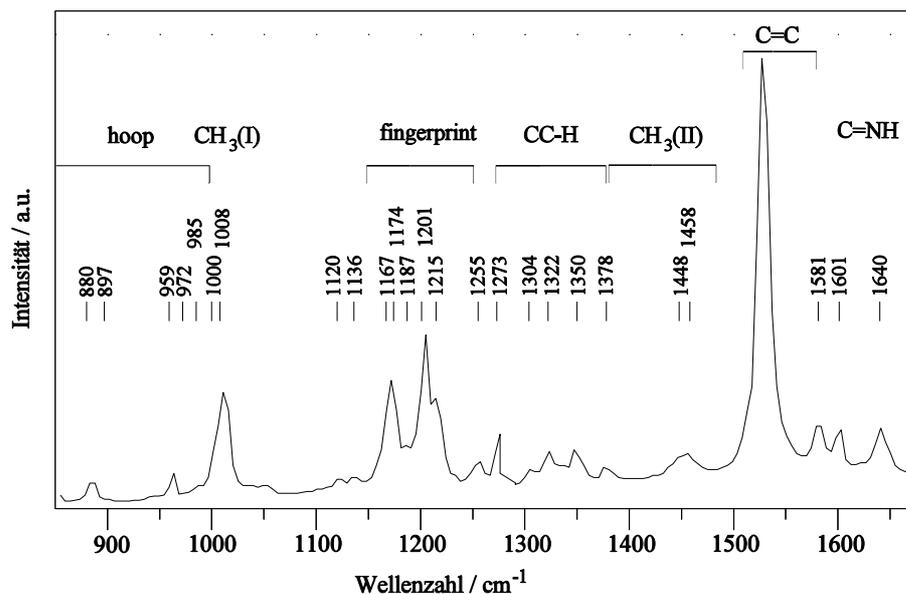
**Abbildung 5:** Ein Infrarotspektrum eines feuchten Bakteriorhodopsinfilmes auf  $\text{CaF}_2$ . Das Spektrum wurde mit einem Yasco A-100-Spektrometer aufgenommen. Die gepunktete Linie kennzeichnet die mit dem Grundzustand von Bakteriorhodopsin verknüpfte Position der Ethylenbande ( $1528 \text{ cm}^{-1}$ ).

tion vor. Es schließt sich ein strahlungsloser Übergang einschließlich einer Verzweigung an. Für die Zeitkonstante der Rückrelaxation in den Grundzustand  $BR_{570}$  wurden  $450 \text{ fs}$  ermittelt. Mit einer Quanteneffizienz von  $q = 0.6^{36}$  und einer Zeitkonstante von  $430 \pm 50 \text{ fs}$  erfolgt die Vorwärtsreaktion in das  $J$ -Intermediat, der sich ein Übergang in das  $K_{590}$ -Intermediat mit einer Zeitkonstante von  $3 \text{ ps}$  anschließt.

Mutantenstudien zeigen, daß die Lebensdauer auf der angeregten Potentialfläche  $S_1$  und die Quanteneffizienz für die Verzweigungsreaktion unabhängig sind. Neuere optische Femtosekundenmessungen können die mit der Relaxation auf der  $S_1$ -Potentialfläche verbundene Rotverschiebung der  $S_0$ - $S_1$ -Energiedifferenz nicht nachweisen. Die Ergebnisse widersprechen dem schon besprochenen Potentialmodell und führen zu einem weiteren Modell (Abbildung 4 b), das sich vom vorhergehenden durch eine dritte Potentialfläche  $S_2$  unterscheidet.<sup>37</sup> Sie bewirkt, daß nach Anregung in den Franck-Condon-Bereich eine schnelle Relaxation ( $< 50 \text{ fs}$ ) in das Nebenminimum der Potentialfläche  $S_1$  stattfindet, in der das Molekül erst verweilt, ehe es rasch die Verzweigungsstelle passiert. Es zeigte sich, daß die Vorwärtsreaktion nicht mit einer Zeitkonstante ( $490 \text{ fs}$ ), sondern mit zwei Zeitkonstanten, nämlich  $370 \text{ fs}$  und  $2.1 \text{ ps}$  beschrieben werden muß. Desweiteren wird die  $J_{625}$ -Bande als Überlagerung von Banden beschrieben. Sie wird dadurch auf eine Scheinbande reduziert und stellt damit die Existenz eines  $J$ -Zustandes in Frage.

<sup>36</sup> Logunov S.L. et al, J. Phys. Chem. **100** (1996), 2391; Rohr M. et al, J. Phys. Chem. **96** (1992), 6055; Xie A., Biophys. J. **58** (1990), 1127; Govindjee R. et al, Biophys. J. **58** (1990), 597; Tittor J. et al, FEBS **263** (1990), 269

<sup>37</sup> Haran G. et al, Chem. Phys. Lett. **261** (1996), 389; Hasson K.C. et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **93** (1996), 15124 und die darin vorkommenden Zitate.



**Abbildung 6:** Resonanz-Raman-Spektrum von  $BR_{570}$ . Mehrere Bereiche lassen sich zusammenfassen: hoop = C-H Biegemoden senkrecht zur Chromophorebene;  $CH_3$  (I):  $CH_3$ -Streckschwingungen; fingerprint = C-C-Streckschwingungen; CC-H: CC-H Streckschwingung in der Chromophorebene;  $CH_3$  (II):  $CH_3$ -Deformationsschwingungen; C=C:  $C_9=C_{10}$ ,  $C_{11}=C_{12}$ ,  $C_{13}=C_{14}$ -Streckschwingung. C=NH<sup>+</sup>: C=NH<sup>+</sup>-Streckschwingung. Nach Althaus T. et al, Isr. J. Chem. **35** (1995), 236

#### 2.1.4 Charakterisierung der ersten Zustände im infraroten Spektralbereich

##### Das statische Infrarotspektrum des Bakteriorhodopsins (in lichtadaptierter Form)

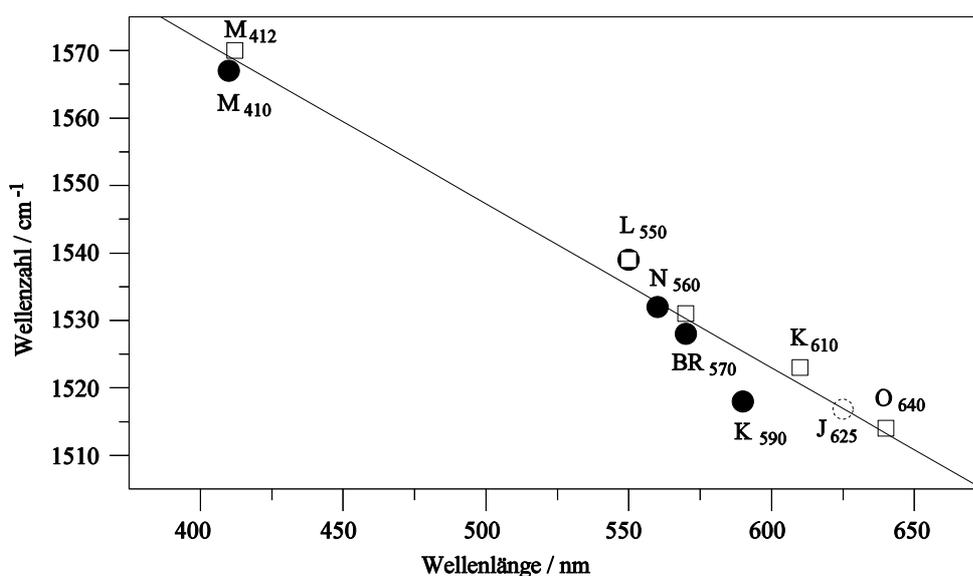
Das statische Infrarotspektrum<sup>38</sup> (Abbildung 5) zeigt typische Absorptionsmerkmale eines Proteins. Zu sehen sind die beiden Amidbanden Amid I und Amid II, in denen Gerüstschwingungen der Polypeptidkette dominieren. Eine Vielzahl von weiteren Gerüst- und Chromophorschwingungen tragen zu dem schwach strukturierten Bereich zwischen 1000 und 1800  $cm^{-1}$  bei. Im hochenergetischen Bereich liegen C-H (ca. 2900  $cm^{-1}$ ) und N-H (ca. 3300  $cm^{-1}$ ) Schwingungen, die bei 3400  $cm^{-1}$  von symmetrischen und antisymmetrischen O-H-Streckschwingungen des Wassermoleküls überlagert werden.

Die Ethylenbande, welche in dieser Arbeit untersucht werden soll, wird von der Amid II-Bande überlagert. Die zu erwartenden Absorptionsänderungen sind klein (mOD). Sie liegen im Promillebereich der in der Abbildung 5 dargestellten Amid-Banden. Um sie trotz des hohen Untergrundes messen zu können, werden deshalb in dieser Arbeit zeitabhängige Absorptionsdifferenzen zwischen den sich im Grundzustand und im optisch angeregten Zustand befindenden Bakteriorhodopsinmolekülen ermittelt.

Im Gegensatz zur Infrarotspektroskopie kann Resonanz-Raman-Spektroskopie bei Anregung um 570 nm nur Chromophormoden und keine Proteinmoden detektieren. Abbildung 6 zeigt ein solches Spektrum von  $BR_{570}$ , das im Vergleich zu dem reinen Absorptionsspektrum (Abbildung 5) deutlich mehr Struktur aufweist. Die Zuordnung<sup>39</sup> der Banden zu ihren jeweiligen Normalmoden erfolgt durch umfangreiche Experimente, die auf der Methode der selektiven Isotopenmarkierung beruhen

<sup>38</sup> Locke B. et al, Biomolecular Spectroscopy Part B, John Wiley & Sons 1993, 18

<sup>39</sup> Smith S.O. et al, J. Membrane Biol. **85** (1985), 95; Smith S.O. et al, J. Am. Chem. Soc. **109** (1987), 3108; Grossjean M.F. et al, J. Phys. Chem. **94** (1990), 8059



**Abbildung 7:** Korrelation der C=C-Bandenposition im infraroten Spektrum mit dem zugehörigen Absorptionsmaximum im optischen Spektrum für verschiedene Zustände des Fotozyklus. Die Gerade stellt eine lineare Regression  $Y = A + B \cdot x$  ( $A = 1668.8 \pm 8.7 \text{ cm}^{-1}$ ,  $B = -0.243 \pm 0.016 \text{ cm}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ ) der Daten dar. Die sich nach diesem Zusammenhang ergebende vorläufige Position von  $J_{625}$  ist ebenfalls vermerkt. □ : nach Van den Berg R. et al, Biophys. J. **58** (1990), 138, ●: nach Althaus T. et al, Isr J. Chem. **35** (1995), 227

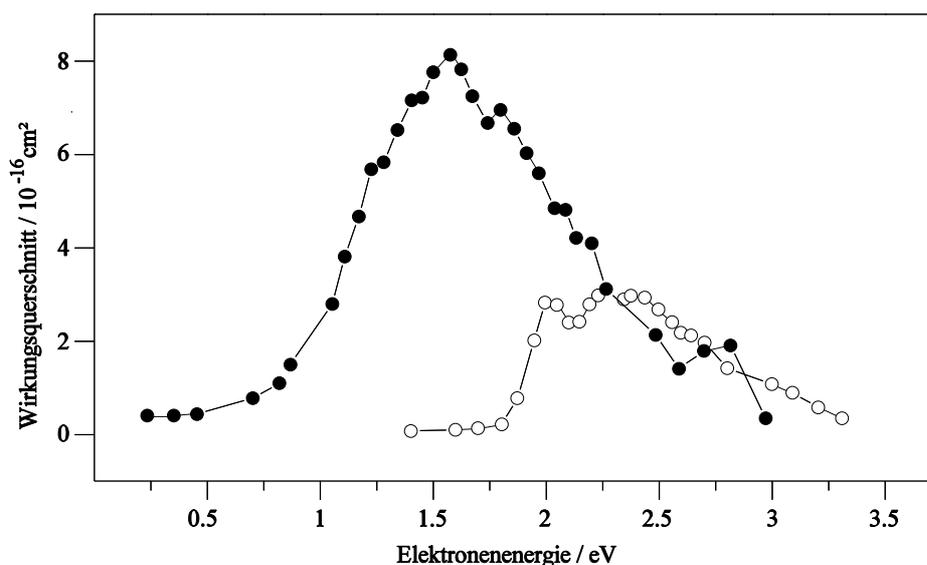
und von quantenchemischen Rechnungen begleitet werden. Das gezeigte Spektrum wird durch die auch im Zentrum dieser Arbeit stehende Ethylenmode bei  $1528 \text{ cm}^{-1}$  dominiert. Es handelt sich hierbei um die symmetrische Streckschwingung der C=C-Doppelbindungen des Chromophors.

### Die Korrelation für die C=C - Bande (Ethylenbande)

Trägt man für die jeweiligen Zustände im Fotozyklus von Bakteriorhodopsin die Frequenz der niederfrequenten Ethylenmode im Falle einer Doppelbande, gegen die Wellenlänge des Absorptionsmaximums im optischen Spektrum auf, dann erhält man den in Abbildung 7 gezeigten linearen Zusammenhang.<sup>40</sup> Qualitativ läßt sich der gezeigte Verlauf verstehen, wenn man berücksichtigt, daß das Absorptionsspektrum durch das  $\pi$ -Elektronensystem bestimmt wird. Eine Rotverschiebung im Absorptionsmaximum hat seine Ursache in einer stärkeren Delokalisierung des  $\pi$ -Elektronensystems, wodurch auch die Doppelbindungen geschwächt werden. Das führt dann zu einer geringeren Schwingungsfrequenz der Ethylenmode.

Dieser lineare Zusammenhang ermöglicht die Zuordnung und Korrelation der Absorptionsmaxima der Intermediate im optischen Spektralbereich mit den zugehörigen Positionen der Ethylenbande, welche im infraroten Spektralbereich beheimatet sind. Auf das umstrittene  $J_{625}$ -Intermediat angewandt, bedeutet dies beispielsweise, daß eine Bande bei  $1517 \pm 13 \text{ cm}^{-1}$  zu erwarten ist, deren Anstiegszeit durch die Schwingungsdephasierungszeit und die optischen Ratenkonstante für  $J_{625}$  bestimmt wird.

<sup>40</sup> Aton B. et al, Biochem **16** (1977), 2995; Rinami L. et al, J. Am. Chem. Soc. **95** (1973), 4493



**Abbildung 8:** Energieabhängigkeit der Summe der Wirkungsquerschnitte für Elektronenstoßanregung der ersten acht Schwingungsniveaus von CO (●) und N<sub>2</sub> (○). Der Beitrag der höheren Schwingungszustände  $\nu \geq 8$  zum Gesamtwirkungsquerschnitt kann vernachlässigt werden. Die Abbildung zeigt, daß die Elektronen im Plasma eine kinetische Energie von ca. 2 eV besitzen sollten. Schulz G.J., *Phy. Rev.* **135** (1964), A988

## 2.2 Der CO-Laser

Der CO-Laser<sup>41</sup> ist ein Infrarot-Molekülgaslaser, der seine Linienvielfalt aus Rotation-Schwingungsübergängen im tiefen und schwach anharmonischen Grundzustandspotential von Kohlenmonoxid bezieht. Er wurde zuerst von Patel et. al.<sup>42</sup> entwickelt und insbesondere von Legay et. al.<sup>43</sup>, Djeu<sup>44</sup>, Brechignac et al.<sup>45</sup> und dann der Gruppe Urban<sup>46</sup> verbessert. Ihr gelang auch erstmalig der Obertonbetrieb<sup>47</sup> ( $\Delta\nu = 2$ ), wodurch der Spektralbereich der Laseremission zu kürzeren Wellenlängen hin verschoben werden konnte.

<sup>41</sup> Übersichtsartikel: Urban W., "Infrared lasers for spectroscopy", in Alves A.C.P., *Frontiers of laser spectroscopy of gases*, Kluwer Academic Publishers 1988, 9 ff; Urban W., "The CO-overtone laser a spectroscopic source in a most interesting wavelength region", in Demtröder W. et al, *Applied laser spectroscopy*, Plenum Press New York 1990, 127 ff; Urban W., *Laser und Optoelektronik* **23** (1991), 56; Urban W., *Infrared Phys. Techn.* **36** (1995), 465; Georg T., Diplomarbeit an der Universität Bonn (1990); Stephan S., Diplomarbeit an der Universität Bonn (1991); Nelke G., Diplomarbeit an der Universität Bonn (1992)

<sup>42</sup> Patel C.K.N. et al, *App. Phys. Lett.* **5** (1964), 81/ Patel C.K.N., *Appl. Phys. Lett.* **7** (1965), 246

<sup>43</sup> Legay F. et al, *C.R. Acad. Sci. (Paris)* **B 266** (1968), 855

<sup>44</sup> Djeu N., *Appl. Phys. Lett* **23**(1973), 309

<sup>45</sup> Brechignac P. et al, *IEEE J.Quantum. Electron. QE.* **12** (1976), 80

<sup>46</sup> Puerta J. et. al., *Appl. Phys.* **19** (1979), 439; Lin T.X. et al, *Appl. Phys.* **B 26** (1981), 73; Wu B. et al, *Appl. Phys.* **B 52** (1991), 163; Bachem E. et al, *Appl. Phys.* **B 57** (1993), 185

<sup>47</sup> Gromoll-Bohle M. et al, *Opt. Comm.* **69** (1989), 409

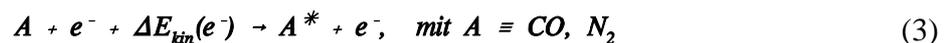
Heute steht somit ein Laser zur Verfügung, der die Spektralbereiche  $3570\text{ cm}^{-1}$  -  $2630\text{ cm}^{-1}$  ( $2.8\text{ }\mu\text{m}$  -  $3.8\text{ }\mu\text{m}$ ) und  $2080\text{ cm}^{-1}$  -  $1200\text{ cm}^{-1}$  ( $4.8\text{ }\mu\text{m}$  -  $8.3\text{ }\mu\text{m}$ ) mit einem durchschnittlichen Linienabstand von  $4\text{ cm}^{-1}$  und einer typischen Leistung von mehreren 100 mW abdeckt. Die Einsatzgebiete sind beispielsweise LMR (Laser Magnetic Resonance)-Spektroskopie<sup>48</sup>, Präzisions-sättigungsspektroskopie, wodurch ein neuer Frequenzstandard mit einer Genauigkeit von 20 kHz im  $5\text{ }\mu\text{m}$ -Bereich erreicht wurde<sup>49</sup>, Fotoakustische Detektion von Spurengasen und wie diese Arbeit erstmals belegt, auch Subpikosekunden-Infrarot-Absorptionsspektroskopie.

### 2.2.1 Das laseraktive Medium

Das laseraktive Medium besteht aus einer typischen Mischung von 71% He, 17% N<sub>2</sub>, 11% CO und 1% O<sub>2</sub> und wird, bedingt durch die Konstruktion des Lasers als Durchflußsystem,<sup>50</sup> kontinuierlich erneuert. Es herrscht ein geringer Druck von 10 mbar. Mit Hilfe von Elektroden wird eine Spannung von typischerweise 15 kV angelegt, die einen Strom im Bereich von 10 mA bewirkt. Diese Bedingungen führen zu einer Vielzahl von Reaktionen.

#### Anregungs- und Relaxationsmechanismen

Bei Stößen erster Art<sup>51</sup>



bildet sich ein Zwischenzustand, der Compoundzustand<sup>52</sup> A<sup>\*</sup>, der in ein schwingungsangeregtes Molekül zerfällt. Nachdem der Wirkungsquerschnitt für diesen Prozeß in Abhängigkeit der Schwingungsquantenzahl exponentiell<sup>53</sup> abnimmt, können dadurch nur die unteren Schwingungszustände von CO und N<sub>2</sub> angeregt werden.

Die auf diese Weise im homonuklearen N<sub>2</sub>-Molekül gespeicherte Energie kann nicht in Form von elektromagnetischer Strahlung abgegeben werden. Über Stöße zweiter Art, d.h.



können Schwingungsquanten von N<sub>2</sub>-Molekülen direkt auf CO-Moleküle übertragen werden.<sup>54</sup> Nachdem Schwingungsenergieunterschiede von N<sub>2</sub>-Molekülen größer als vergleichbare Energieunterschiede des CO-Moleküles sind, werden durch diese Stöße bevorzugt niedrig liegende CO-Schwingungszustände populiert.

Der Mechanismus, der im Gegensatz zu den beiden vorher beschriebenen Prozessen zu einer Umverteilung der Besetzung von niedrigen ( $\nu \leq 8$ ) zu höheren ( $\nu = 9..36$ ) Schwingungszuständen

<sup>48</sup> z.B. Rohrbeck W. et al., Appl. Phys. **B 31** (1983), 144

<sup>49</sup> Georg T. et al., Appl. Phys. **B 59** (1994), 159

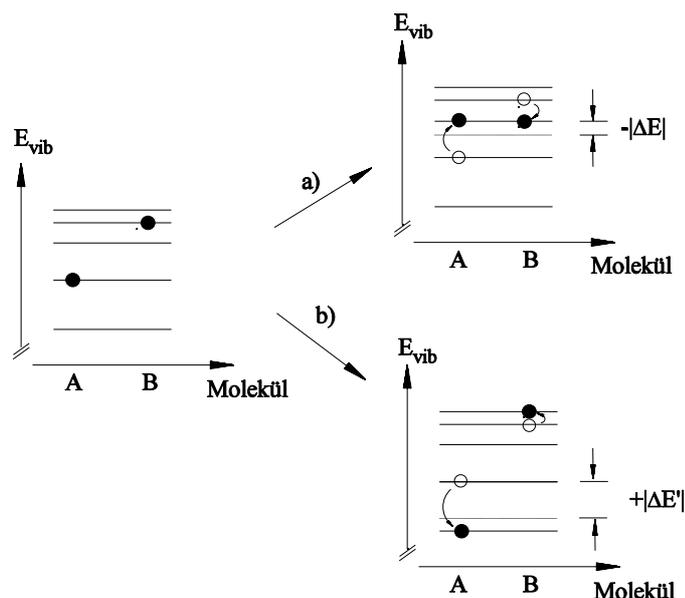
<sup>50</sup> Durchflußsysteme sind einfacher zu kühlen als abgeschlossene Systeme. Wie noch in diesem Kapitel ausgeführt wird hängt das erzielbare Laserspektrum von der Kühlung des Laserplasmas ab. Nachdem in dieser Arbeit die Linienvielfalt im Vordergrund stand wurde deshalb ein CO-Laser als Durchflußsystem aufgebaut.

<sup>51</sup> Kneubühl F.K. et al, Laser, Teubner 1991, 3. Aufl., 239 ff

<sup>52</sup> Resonanz, kurzlebige negatives Ion; Schulz J.G., Rev. Mod. Phys. **45** (1973), 423

<sup>53</sup> Schulz G.J., Phys. Rev. **135** (1964), A988; Allan M., J. Phys. **B 18** (1985), 4511; Boness M.J.W. et al, Phys. Rev. **A 8** (1973), 2883

<sup>54</sup> Iyoda M. et al, Appl. Phys. **B 47** (1988), 251; Murray G.A. et al, Appl. Phys. **D 15** (1982), 2125



**Abbildung 9:** Der Treanor-Anregungsprozess. Auf Grund der Anharmonizität der Potentiale wird im Fall b) Energie  $+\Delta E'$  frei, wenn beim Stoß zweier Moleküle A, B das energiereichere (B) zusätzlich Schwingungsenergie erhält und das energieärmere (A) Schwingungsenergie verliert. Der Fall a) kann nur stattfinden, wenn zusätzlich Energie  $-\Delta E/$  aus anderen Freiheitsgraden zur Verfügung gestellt wird.

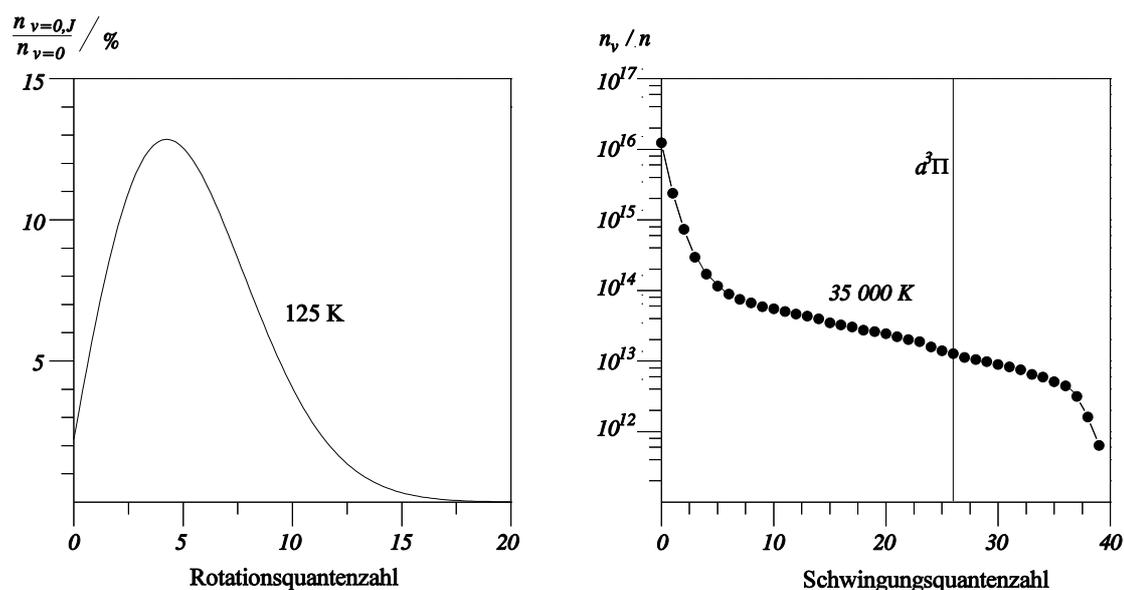
führt, wurde zuerst von Treanor et al<sup>55</sup> beschrieben und wird deshalb auch "Treanor-Anregungsprozess" oder "anharmonischer V-V-Anregungsprozess"<sup>56</sup> genannt. Die Anharmonizität des Grundzustandpotentials von CO führt dazu, daß mit zunehmender Schwingungsquantenzahl der Abstand benachbarter Schwingungszustände geringer wird. Um bei einem höher schwingungsangeregten CO-Molekül einen Übergang zum nächsthöheren Schwingungszustand zu ermöglichen, benötigt man deshalb weniger Energie als bei einem niedriger schwingungsangeregten Molekül. Umgekehrt wird beim Übergang eines niedriger schwingungsangeregten Moleküls zu einem benachbarten und tiefer liegenden Zustand mehr Energie frei als bei einem höher schwingungsangeregten Molekül. Wird das Plasma gekühlt, dann werden exotherme Reaktionen begünstigt. Aus der vorhergehenden Energiebetrachtung ist die Stoßreaktion exotherm, bei der das niedriger schwingungsangeregte CO-Molekül ein Schwingungsquant an das höher schwingungsangeregte abgibt. Die Energiedifferenz wird in Form von kinetischer Energie auf die Stoßpartner verteilt und durch weitere Stöße an das Plasma abgeführt.

Wird mögliche V-T-Relaxation vernachlässigt, ist also die Rate, die den Austausch zwischen Schwingungsfreiheitsgraden zu translatorischen Freiheitsgraden bestimmt, kleiner als die V-V-Relaxationsrate, dann erhält man nach Treanor et al für die Besetzungsverteilung  $n(\nu)$  des Schwingungszustandes  $\nu$  mit der Energie  $E_\nu$  folgende Verteilung:

$$\frac{n(\nu)}{n(0)} = \exp\left[-\nu \frac{\Delta E_1}{k \Theta_1^*}\right] \exp\left[\frac{\nu \Delta E_1 - \Delta E_\nu}{kT}\right], \quad \Delta E_\nu \equiv E_\nu - E_0 \quad (5)$$

<sup>55</sup> Treanor C.E. et al, J. Chem. Phys. **48** (1968), 1798

<sup>56</sup> V-V  $\Delta$  Vibration-Vibration. Mit dieser Abkürzung wird ausgedrückt, daß der Energiefluß zwischen Schwingungsfreiheitsgraden stattfindet.



**Abbildung 10:** Rotationsverteilung (links) und Verteilung der Schwingungsquantenzahlen (rechts) von CO in einem CO-He-N<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>-Plasma. Nach Farrenq R. et al, Chem. Phys. **92** (1985), 389

In der Gleichung bezeichnet  $T$  die Temperatur der translatorischen Freiheitsgrade.  $\theta_1^*$  stellt eine Temperatur dar, die dem ersten Schwingungszustand zugewiesen werden könnte, wenn die Schwingungszustände nach Maxwell-Boltzmann verteilt wären. Im Grenzfall des harmonischen Oszillators gilt  $v \cdot \Delta E_1 = \Delta E_v$ , wodurch sich der zweite Exponentialterm zu eins reduziert und die Gleichung (5) in eine Maxwell-Boltzmann-Verteilung übergeht. Im anharmonischen Fall gilt  $v \cdot \Delta E_1 > \Delta E_v$ . Der zweite Exponentialterm stellt dann eine Korrektur zur Maxwell-Boltzmann-Verteilung dar.

Der beschriebene Treanor-Anregungs-Mechanismus, der zu einer Besetzung von höher gelegenen Schwingungszuständen führt, ist sehr erwünscht, weswegen das Laserrohr aktiv gekühlt werden muß. Wird Helium dem Plasma beigefügt, dann kann die Wärmeleitung zwischen kaltem Laserrohr und Plasma zusätzlich verbessert werden.

Abbildung 10 zeigt eine experimentell ermittelte Schwingungs- und Rotationsverteilung eines CO-He-N<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>-Plasmas, das von einer CO-Laser ähnlichen Quelle stammt.<sup>57</sup> Die Rotationsverteilung stellt eine Maxwell-Boltzmann-Verteilung mit einer Temperatur von 125 K dar, die auch der Temperatur der translatorischen Freiheitsgraden entspricht. Diese starke Kopplung zwischen rotatorischen und translatorischen Freiheitsgraden wird unter der Berücksichtigung, daß jeder Stoßprozeß zu einer Equilibrierung der Rotationsfreiheitsgrade führt, verständlich. Die Besetzungsverteilung der Schwingungszustände weist einen komplexeren Verlauf auf. Für kleine Schwingungsquantenzahlen erhält man eine Treanor-Verteilung, die in ein Plateau übergeht, welches schließlich in einem Boltzmann-Bereich mündet. Der unterschiedliche Verlauf wird durch die von der Schwingungsquantenzahl abhängige Kopplung der beteiligten Freiheitsgrade erklärt. Etwa alle 50 Stöße kommt es zu einem Treanor-Anregungsprozeß. Aber nur alle 10<sup>5</sup> Stöße kommt es zu einer V-T-Relaxation. Diese nimmt allerdings mit steigender Schwingungsquantenzahl exponentiell zu<sup>58</sup> und übertrifft dann auch den Relaxationsprozeß durch spontane Emission. Stöße mit Helium be-

<sup>57</sup> Farrenq R. et al, Chem. Phys. **92** (1985), 389; Farrenq R. et al, Chem Phys. **92** (1985), 401

<sup>58</sup> Iyoda M. et al, Appl. Phys. **B 47** (1988), 251

stimmen bei hohen Schwingungsquantenzahlen die V-T-Relaxationsrate und führen bei hohen Schwingungsquantenzahlen zu einer starken Ankopplung an die translatorischen Freiheitsgrade und damit auch zu einer Angleichung der Verteilung der Schwingungsquantenzahlen an die Maxwell-Boltzmann-Verteilung bei 125 K.

Bis jetzt wurden nur V-T-Prozesse berücksichtigt. Die Diskontinuität in der Nähe von  $v = 26$  wird einem V-E-Prozeß zugeschrieben<sup>59</sup>, d.h. einem Übergang von einem hoch schwingungsangeregten Grundzustand zu einem elektronisch angeregten Zustand, der auch den Wertebereich der Schwingungsquantenzahlen auf  $v \leq 40$  beschränkt.

### Die Rolle der Gase

CO ist das laseraktive Medium, dem der CO-Laser seine Linienvielfalt verdankt.

Die Zugabe von N<sub>2</sub> erhöht den Wirkungsquerschnitt für inelastische Streuung mit Elektronen.<sup>60</sup> N<sub>2</sub>-Moleküle dienen als zusätzliche effiziente Quellen von Schwingungsenergie für das laseraktive Medium, nachdem die in diesen Molekülen gespeicherte Energie durch Stöße an CO-Moleküle übertragen, nicht aber durch Dipolstrahlung abgegeben werden können.

Die guten Wärmeleitungseigenschaften von Helium<sup>61</sup> dienen einer effektiven Kühlung des Plasmas. Bei hohen Schwingungsquantenzahlen macht sich allerdings die Anwesenheit negativ bemerkbar, weil es die Stöße von CO mit He sind, die zu einer starken V-T-Relaxation führen.

Die Zugabe von O<sub>2</sub> führt zu einer Verringerung von Kohlenstoffablagerungen im Plasmarohr und zu einer Erhöhung der Ausgangsleistung. Diese Effekte werden verständlich, wenn man die im Plasma ablaufenden chemischen Prozesse berücksichtigt.<sup>62</sup> In Gegenwart von O<sub>2</sub> wird O<sub>2</sub><sup>+</sup> zum dominierenden positiven Ion, die Elektronendichte bei konstantem Strom erhöht sich, wodurch sich das Plasma abkühlen kann und die Ausgangsleistung steigt. Wird dem Plasma zu viel Sauerstoff zugeführt, dann sind es die O-Atome, welche die Verlustrate durch V-T-Relaxation erhöhen. Allerdings verschieben die O-Atome auch das Dissoziationsgleichgewicht



von CO. Zusammen mit der chemischen Reaktion



werden auf diese Weise Kohlenstoffablagerungen verringert.

### Die Näherungsformel zur Berechnung der spektralen Position der Laserlinien

Nach Dunham<sup>63</sup> lassen sich rovibronischen Energiezustände  $E(v, l)$  eines Moleküls in einer Potenzreihenentwicklung in  $(v + 1/2)$  und  $[J(J+1)]$  berechnen:

$$E(v, J) \approx \sum_{r, m} Y_{r, m} (v + 1/2)^r [J(J + 1)]^m. \quad (8)$$

<sup>59</sup> Farrenq R. et al, Chem. Phys. **92** (1985), 401; Wallart H.L. et al, Chem. Phys. **196** (1995), 149

<sup>60</sup> Murray G.A. et al, J. Phys. **D 15** (1982), 2125

<sup>61</sup> Wärmeleitfähigkeit der beteiligten Gaskomponenten :  $\lambda(\text{He}) = 0.15 \text{ W/mK}$ ,  $\lambda(\text{N}_2) = \lambda(\text{CO}) = \lambda(\text{O}_2) = 0.17 \text{ W/mK}$ , nach Kuchling, Taschenbuch der Physik, Harri Deutsch 1988, 10. Aufl, 612 f

<sup>62</sup> Morgan W.L. et al, Phys. Rev **A 16** (1977), 1186; Murray G.A. et al, J. Phys. **D 14** (1981), 1745

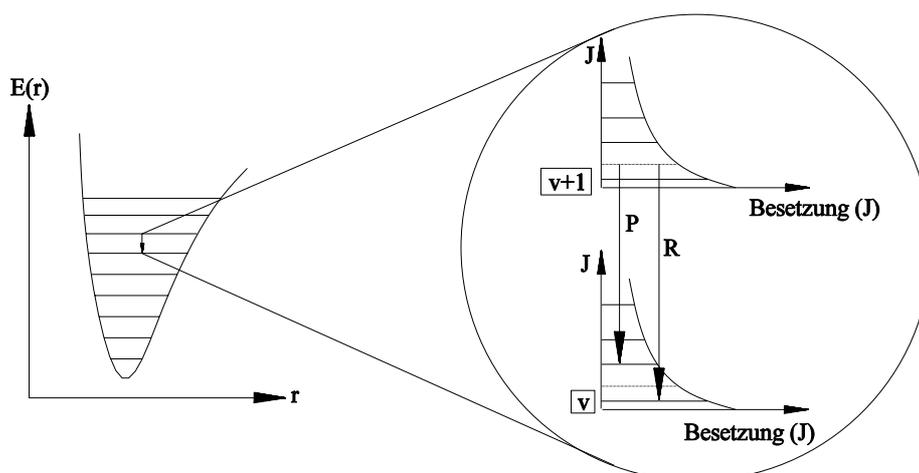
<sup>63</sup> Dunham J.L., Phys. Rev. **14** (1932), 721

$Y_{m_1}/\text{cm}^{-1}$	$m = 0$	$m = 1$	$m = 2$	$m = 3$
$r = 0$	0	1.931280862	$-6.120747566 \cdot 10^{-4}$	$5.555286989 \cdot 10^{-10}$
$r = 1$	2169.813079	-0.01750410155	$9.449843095 \cdot 10^{-8}$	$-1.512463732 \cdot 10^{-11}$
$r = 2$	-13.28790597	$5.422101371 \cdot 10^{-5}$	$-1.450768382 \cdot 10^{-8}$	$-1.471295100 \cdot 10^{-13}$
$r = 3$	0.01041444730	$1.311844382 \cdot 10^{-6}$	$-2.927592559 \cdot 10^{-10}$	---
$r = 4$	$6.921598529 \cdot 10^{-3}$	$1.401093703 \cdot 10^{-7}$	$1.660533203 \cdot 10^{-11}$	---
$r = 5$	$1.657890319 \cdot 10^{-5}$	$-5.329907475 \cdot 10^{-10}$	$-4.714582132 \cdot 10^{-13}$	---
$r = 6$	$2.466886718 \cdot 10^{-7}$	$-1.434127145 \cdot 10^{-10}$	---	---
$r = 7$	$-8.630071431 \cdot 10^{-8}$	---	---	---
$r = 8$	$1.261536024 \cdot 10^{-9}$	---	---	---
$r = 9$	$-8.363842545 \cdot 10^{-12}$	---	---	---

**Tabelle 1:** Tabelle der Dunhamkoeffizienten für das Kohlenmonoxidisotop  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$ .

$P_{21}/\text{cm}^{-1}$	$P_{22}/\text{cm}^{-1}$	$P_{23}/\text{cm}^{-1}$	$P_{24}/\text{cm}^{-1}$
(17) 1546	(09) 1549	(09) 1525	(04) 1517
(18) 1542	(10) 1546	(10) 1521	(05) 1513
(19) 1538	(11) 1542	(11) 1518	(06) 1510
	(12) 1539	(12) 1515	(07) 1507
	(13) 1536	(13) 1511	(08) 1504
	(14) 1532	(14) 1508	(09) 1500
	(15) 1528	(15) 1504	(10) 1497
	(16) 1525	(16) 1501	(11) 1494
	(17) 1521	(17) 1498	
	(18) 1518		

**Tabelle 2:** Zusammenfassung der für diese Arbeit wichtigen und mit Hilfe der Dunhamkoeffizienten berechneten CO-Linien. Der Übergang  $(J, v) = (21, 11) \rightarrow (22, 12)$  ist in der Spalte  $P_{22}$  und der Zeile (12) zu finden. Grau hinterlegt wurden die experimentell nicht beobachteten Linien. Puerta J. et al, Appl. Phys. **19** (1979), 439



**Abbildung 11:** Das Prinzip des Lasermechanismus. Laserübergänge finden im tiefen Grundzustandspotential (links) des CO-Moleküls statt. Wie die Vergrößerung (rechts) zeigt, können bei angenommener Gleichbesetzung der beteiligten Schwingungszustände nur Übergänge des P-Zweiges anschwingen, weil nur für diese eine partielle Inversion vorliegt.

Die in dieser Gleichung auftretenden Dunhamkoeffizienten  $Y_{r,m}$  (Tabelle 1) wurden durch Untersuchungen an Schwingungs-Rotationsspektren von  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$  mit großer Genauigkeit bestimmt.<sup>64</sup> Sie wurden verwendet, um die in Tabelle 2 zusammengefaßten und für diese Arbeit relevanten Laserlinien zu berechnen.

### 2.2.2 Der Lasermechanismus

Um das Laserprinzip eines CO-Lasers verstehen zu können, muß man sich die Schwingungs- und Rotationsverteilung vergegenwärtigen.<sup>65</sup> Im Plateau-Bereich der Schwingungsverteilung, dem eine Temperatur von 35000 K zugeordnet werden kann, gilt für den Quotient benachbarter Besetzungszahlen  $n_{v+1}/n_v \approx 0.95$ . Um ein qualitatives Verständnis vom Lasermechanismus zu erhalten sei der Quotient für die folgende Diskussion gleich eins gesetzt. Eine genauere Analyse der Kleinsignalverstärkung wird zeigen, daß die Boltzmannverteilung mit einer Temperatur von 125 K ohne Multiplizität  $(2J+1)$  der Rotationszustände  $J$  zu berücksichtigen ist. Dann liegt für einen P-Übergang<sup>66</sup> zwischen den Rotationszuständen  $(J, v+1) \rightarrow (J+1, v)$  benachbarter Schwingungszustände  $v+1$  und  $v$  eine Inversion vor. Diese Inversionsbedingung heißt partielle Inversion und ist der Grund, weshalb der CO-Laser Strahlung emittieren kann, obwohl keine absolute Inversion, d.h. Inversion der beteiligten Schwingungszustände, existiert.

Im folgenden wird die Patelsche Formel für die Kleinsignalverstärkung eines CO-Lasers<sup>67</sup> abgeleitet<sup>68</sup>. Für die Anzahldichte der Photonen  $n$  in Gegenwart eines in einem Resonator befindlichen

<sup>64</sup> Dale R.M. et al, Can. J. Phys. **57** (1979), 677; Guelachvili G., J. Mol. Spec. **98** (1983), 64

<sup>65</sup> Urban W., "Infrared lasers for spectroscopy", in Alves A.C.P., *Frontiers of laser spectroscopy of gases*, Kluwer Academic Publishers 1988, 29 ff

<sup>66</sup> P:  $\Delta J = +1$ , Q:  $\Delta J = 0$ , R:  $\Delta J = -1$

<sup>67</sup> Patel C.N.K., Phys. Rev. **141** (1966), 141; Patel C.K.N., Phys. Rev. **136** (1964), A1187

<sup>68</sup> SI-Einheiten

Zwei-Niveau-Systems gilt:<sup>69</sup>

$$\frac{dn(\nu)}{dt} = L_E(\nu) n_2 A_{21} + L_{SE}(\nu) B_{21} n_2 u(\nu) - L_A(\nu) B_{12} n_1 u(\nu). \quad (9)$$

$L(\nu)$  bezeichnet die normierte und frequenzabhängige Linienform für spontane Emission ( $E$ ), Absorption ( $A$ ) und stimulierte Emission ( $SE$ ),  $A_{21}$ ,  $B_{21}$  und  $B_{12}$  sind die damit verbundenen Einsteinkoeffizienten,  $n_2$  und  $n_1$  die Besetzungsdichte der Zustände 2 (oberer Zustand) und 1 (unterer Zustand) und  $u(\nu)$  die Energiedichte des Strahlungsfeldes. Für einen Resonator mit scharfer Frequenz  $\nu_0$  gilt  $u(\nu_0) = h\nu_0 \cdot n(\nu_0)$ . Die spontane Emission kann dann vernachlässigt werden. Die Linienformen für Absorption und Emission werden gleichgesetzt. Unter Ausnutzung der bekannten Beziehungen für die Einsteinkoeffizienten<sup>70</sup>

$$g_1 B_{12} = g_2 B_{21}, \quad A_{21} = \frac{8\pi h \nu_0^3}{c^3} B_{21} \quad (10)$$

gilt damit:

$$\frac{du}{dt} = \frac{L(\nu_0) A_{21} c^3 g_2}{8\pi \nu_0^2} \left( \frac{n_2}{g_2} - \frac{n_1}{g_1} \right) u(\nu_0). \quad (11)$$

Mit Hilfe der Identität  $dz = c \cdot dt$  kann die zeitliche Änderung des propagierenden Strahlungsfeldes in eine örtliche Änderung

$$\frac{du}{dz} = L(\nu_0) \left( \frac{n_2}{g_2} - \frac{n_1}{g_1} \right) \frac{g_2 A_{21} c^2}{8\pi \nu_0^2} u(\nu_0) \equiv \gamma(\nu_0) u(\nu_0) \quad (12)$$

umgeschrieben werden. Diese Gleichung definiert auch die Kleinsignalverstärkung  $\gamma(\nu)$ . Die Linienform wird als dopplerverbreitert angesetzt. Man erhält sie, wenn man von einer Maxwell-Boltzmann-Geschwindigkeitsverteilung  $P_{MB}$

$$P_{MB} = \sqrt{\frac{m}{2\pi kT}} e^{-mv_z^2 / 2kT} \quad (13)$$

ausgeht, und die darin vorkommende Geschwindigkeit  $v$  durch die dopplerverschobene Resonanzfrequenz  $\nu = \nu_0(1+v/c)$  ersetzt, sowie die Halbwertsbreite  $\Delta\nu_D$  der Linie einführt

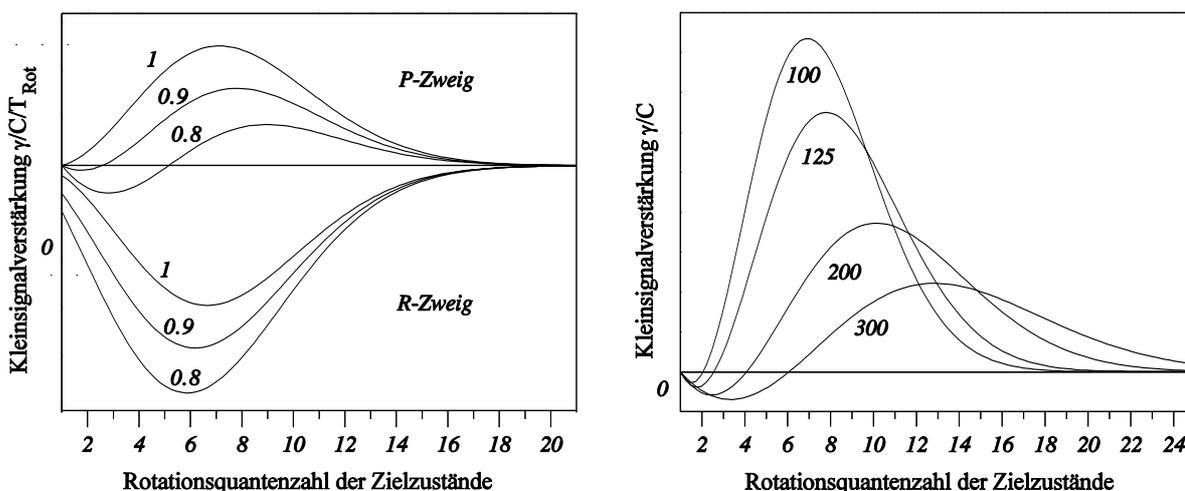
$$L(\nu) = \frac{2}{\Delta\nu_D} \sqrt{\frac{\ln 2}{\pi}} e^{-4\ln 2 \left( \frac{\nu - \nu_0}{\Delta\nu_D} \right)^2}, \quad \Delta\nu_D \equiv \sqrt{\frac{8kT \ln 2}{m c^2}} \nu_0 \quad (14)$$

Für die Kleinsignalverstärkung gilt dann:

$$\gamma = \sqrt{\frac{\ln 2}{\pi}} \left( \frac{n_2}{g_2} - \frac{n_1}{g_1} \right) \frac{g_2 A_{21} c^2}{4\pi \nu_0^2 \Delta\nu_D}. \quad (15)$$

<sup>69</sup> Kneubühl F.K. et al, *Laser*, Teubner 1991, 3. Aufl., 21 ff

<sup>70</sup> Kneubühl F.K. et al, *Laser*, Teubner 1991, 3. Aufl., 31



**Abbildung 12:** Links: Abhängigkeit der Kleinsignalverstärkung  $\gamma/C/T_{Rot}$  von der Rotationsquantenzahl der Zielzustände  $J'$  für verschiedene Besetzungsverhältnisse  $n_v/n_{v'} = 1, 0.9, 0.8$  und dem Übergang  $\nu = 1 \rightarrow \nu = 0$ . Es ist deutlich zu sehen, daß im Laser nur Übergänge des P-Zweiges anschwingen und die Kleinsignalverstärkung mit abnehmendem Besetzungsverhältnis ebenfalls abnimmt. Rechts: Abhängigkeit der Kleinsignalverstärkung  $\gamma/C$  von der Rotationsquantenzahl der Zielzustände  $J'$  für verschiedene Rotationstemperaturen bei konstantem Besetzungsverhältnis  $n_v/n_{v'} = 0.9$  und für den P-Zweig des Überganges  $\nu = 1 \rightarrow \nu = 0$ . Es zeigt sich, daß Übergänge, die hohe Rotationsquantenzahlen benötigen, effizienter bei höheren Temperaturen anschwingen.

Als Übergänge kommen im CO-Molekül Schwingungs-Rotationsübergänge von  $(\nu, J) \triangleq$  Zustand 2 nach  $(\nu', J') \triangleq$  Zustand 1 vor. Für die Besetzungsdichten des zum Schwingungszustand  $\nu$  gehörenden Rotationszustandes  $n_J$  gilt unter der Annahme einer durch die Rotationstemperatur  $T_{Rot}$  charakterisierten Maxwell-Boltzmann-Verteilung:

$$\frac{n_J}{g_J} = \frac{n_\nu \exp(-F_\nu(J) hc / kT_{Rot})}{\sum_J (2J+1) \exp(-F_\nu(J) hc / kT_{Rot})} \quad (16)$$

Im Exponenten steht die Rotationsenergie  $hc \cdot F_\nu(J)$ . Hier zeigt sich, daß der reine Boltzmann-Faktor ohne statistisches Gewicht  $g_J$  in die Kleinsignalverstärkung eingeht. Von diesem Ergebnis wurde beim qualitativen Verständnis schon Gebrauch gemacht. Für lineare polyatomare und insbesondere zweiatomige Moleküle gilt:<sup>71</sup>

$$\begin{aligned} F_\nu(J) &= B_\nu J(J+1) - D_\nu J^2(J+1)^2 & B_e &= Y_{00} = 1.9313 \text{ cm}^{-1} \\ B_\nu &= B_e - \alpha(\nu+1/2) + \gamma(\nu+1/2)^2 & \alpha &= -Y_{11} = 0.017504 \text{ cm}^{-1} \\ D_\nu &= D_e + \beta(\nu+1/2) & \gamma &= Y_{21} = 5.4221 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^{-1} \\ & & D_e &= -Y_{02} = 6.182075 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1} \\ & & \beta &= -Y_{12} = -9.4498 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1}. \end{aligned} \quad (17)$$

Die Konstanten zeigen, daß in guter Näherung der Term mit  $D_e$  vernachlässigt werden kann. Unter der Annahme von  $B_\nu hc / kT_{Rot} \ll 1$  kann die Summe in ein Integral überführt und berechnet werden. Man erhält dann:

<sup>71</sup> Hellwege, *Einführung in die Physik der Molekeln*, Springer-Verlag 1989, 2. Aufl, 27 ff

$$\frac{n_J}{g_J} = \frac{n_v hc B_v}{k T_{Rot}} \exp(-hc F_v(J) / kT_{Rot}) \quad (18)$$

Sind  $M$  und  $M'$  die magnetischen Quantenzahlen und  $D_r(r, \theta, \phi)$  die  $r$ -te kartesische Komponente des elektrischen Dipolmomentes, dann gilt für den Einsteinkoeffizienten  $A_{v,J,v',J'}$ :

$$\begin{aligned} A_{v,J,v',J'} &= \frac{16 \pi^3 \nu_0^3}{3 \epsilon_0 h c^3 g_J} \sum_{M,M',r} |(M,v,J/D_r(r, \theta, \phi)/M',v',J')|^2 = \\ &= \frac{16 \pi^3 \nu_0^3}{3 \epsilon_0 h c^3 g_J} |a| |R_{v,v'}|^2 F_{v,v'}(a) \end{aligned} \quad (19)$$

In dieser Darstellung<sup>72</sup> kann  $a$  die Werte  $J+1$  für R-, und  $-J$  für P-Zweige annehmen.  $R_{v,v'}$  ist das Dipolmatrixelement für einen nicht rotierenden anharmonischen Oszillator und  $F_{v,v'}(a)$  ist der Herman-Wallis-Faktor, der die Wechselwirkung zwischen Schwingung und Rotation berücksichtigt. Er kann im vorliegenden Fall in guter Näherung eins gesetzt werden. Insgesamt erhält man dann die Patelsche Formel für die Kleinsignalverstärkung:<sup>73</sup>

$$\begin{aligned} \gamma_{v,J,v',J'} &= C \frac{|a|}{T_{Rot}^{1.5}} \left( \frac{n_v}{n_{v'}} \frac{B_v}{B_{v'}} \exp(-F_v(J)hc/kT_{Rot}) - \exp(-F_{v'}(J')hc/kT_{Rot}) \right) \\ C &\equiv \sqrt{\frac{m_{CO}}{2\pi k}} \frac{2\pi^2}{3 \epsilon_0 h} n_{v'} B_{v'} |R_{v,v'}|^2 F_{v,v'}(a). \end{aligned} \quad (20)$$

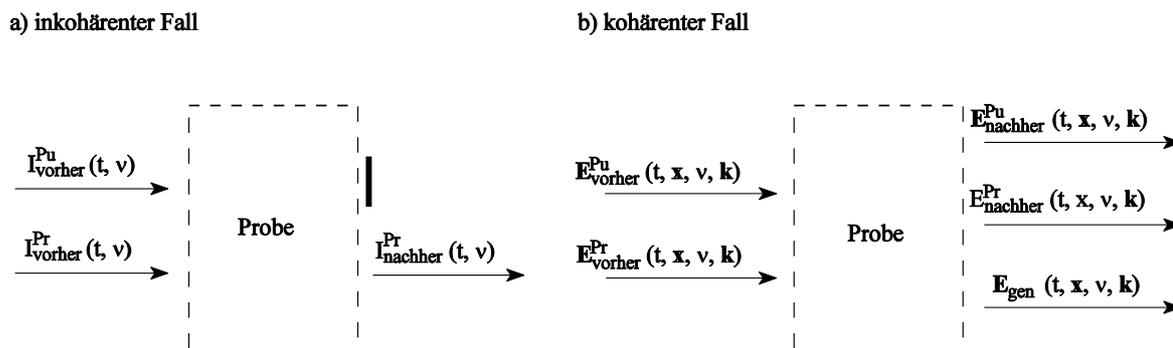
## 2.3 Die Femtosekunden - Infrarotspektroskopie

Pikosekunden- und Femtosekundenspektroskopie haben ihren methodischen Ursprung in Experimenten von Töpler A., der die Schlierentechnik mit einem Stroboskop verknüpfte, um so Flammen und Brechungsindexänderungen in Flüssigkeiten zeitaufgelöst zu studieren.<sup>74</sup> Überträgt man diese stroboskopische Technik auf Laser, dann erhält man die gewöhnliche Pump-Probe- (oder auch Anregungs-Abfrage-) Technik. Sie besteht aus einem Anregungspuls, der den zu untersuchenden physikalischen Prozeß startet, und einem dazu zeitlich verzögerten Abfragepuls, der die Probe

<sup>72</sup> Herman R. et al, J. Chem. Phys. **23** (1955), 637

<sup>73</sup> Wenn Prof. Urban die Patelsche Formel zitiert enthält sie noch einen weiteren Vorfaktor  $(2J+1)/(2J'+1)$ . Auch in der Herleitung, welche beispielsweise in der Diplomarbeit von Gromoll-Bohle M. nachzulesen ist, taucht dieser Vorfaktor auf. Eine telefonische Nachfrage bei Prof. Urban ergab, daß sich in den erwähnten Fällen ein kleiner Druckfehlerteufel eingeschlichen hat und die Patelsche Version nicht korrigiert werden muß.

<sup>74</sup> Töpler A., Ann. Phys. und Chem. **131** (1867), 33; Töpler A., Ann. Phys. und Chem. **131** (1867), 180. Aus Shapiro S.L., "Introduction-A historical overview", in Shapiro S.L., *Ultrashort light pulses*, Topics in Appl. Phys. **18**, Springer Verlag 1977, 1ff



**Abbildung 13:** Gegenüberstellung des kohärenten und inkohärenten Falles. Im inkohärenten Fall existieren nichtwechselwirkende Pump- und Probepulsintensitäten vor der Probe. Die zeitliche Probenantwort führt schließlich zu einer Änderung der Probepulsintensität. Der Pumpimpuls wird im allgemeinen hinter der Probe geblockt, weshalb er nicht mehr weiter berücksichtigt werden muß. Im kohärenten Fall sind elektromagnetische Felder zu betrachten, die miteinander und mit der Probe wechselwirken. Hinter der Probe existiert ein zusätzliches durch die Probenantwort generiertes Feld.

untersucht.<sup>75</sup>

Als direkte Beobachtungsgröße erhält man im inkohärenten Fall die optische Dichte

$$OD(t, \nu) = \epsilon(t, \nu) \cdot c(t, \nu) \cdot d \quad (21)$$

bzw. die Änderung der optischen Dichte.  $\epsilon$  ( $[\epsilon] = l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ist darin der dekadische Extinktionskoeffizient,  $c$  ( $[c] = \text{mol } l^{-1}$ ) die Konzentration der Probe und  $d$  ( $[d] = \text{cm}$ ) die Wechselwirkungslänge. In der Gleichung kommen zwei zeitabhängige Größen vor. Nachteilig wirkt sich dieser Umstand aus, wenn die zeitabhängige Konzentration und damit verbunden die zeitabhängige Besetzung eines Zustandes die gesuchte Größe ist.

Bei kohärentem Ansatz, der den inkohärenten Fall als Grenzfall beinhaltet, wechselwirken Anregungs-, Abfragefeld und die Probe räumlich und zeitlich miteinander und generieren ein zusätzliches Feld. Hinter der Probe überlagern sich diese drei Felder und können dadurch zu weiteren Effekten führen. Quantenmechanisch wird die Wechselwirkung mit der Probe mit Hilfe einer geeigneten Dichtematrix  $\rho$  formuliert. Ihre Diagonalelemente beschreiben die zeitabhängige Besetzung und ihre Außerdiagonalelemente werden benötigt, um die Polarisation  $P$

$$\vec{P} = N \langle \hat{\mu} \rangle = N \text{Tr}(\hat{\rho} \hat{\mu}) \quad (22)$$

zu berechnen<sup>76</sup>, deren nichtlinearer Anteil  $P^{NL} \equiv P - P^{(l)}$  zu einem Quellterm in der Wellengleichung

$$\vec{\nabla} \times \vec{\nabla} \times \vec{E} + \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{D}^{(l)}}{\partial t^2} = \frac{4\pi}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{P}^{NL}}{\partial t^2} \quad (23)$$

<sup>75</sup> Es gibt auch Mehrpulsverfahren. Siehe hierzu: Zinth W. et al, "Ultrafast coherent spectroscopy", in Kaiser W., *Ultrashort laser pulses*, Topics in Appl. Phys. **60**, Springer Verlag 1993, 2. Aufl., 235 ff

<sup>76</sup> Boyd R.W., *Nonlinear optics*, Academic Press 1992, 103 ff

für nichtmagnetische Medien ohne freie Ströme und Ladungsträger<sup>77</sup> führt. Die darin enthaltene Verschiebungsdichte ist über die Relation  $D^{(l)} = E + 4\pi P^{(l)}$  mit dem linearen Anteil  $P^{(l)}$  der Polarisation  $P$  verknüpft. Man erhält durch beide letztgenannten Gleichungen im allgemeinen ein gekoppeltes nichtlineares Differentialgleichungssystem, das zur Berechnung des generierten Feldes und der Besetzungswahrscheinlichkeiten der beteiligten Zustände herangezogen werden kann.

Femtosekunden-Infrarotspektroskopie ermöglicht den direkten experimentellen Zugang zum Energie-Zeit-Raum und damit verbunden auch zu Projektionen von Moleküldynamiken und chemischen Reaktionen in diesen Raum. Es ist deshalb evident, daß Aussagen über Energieflüsse solcher Prozesse möglich sind. Nutzt man zusätzlich die Verknüpfung der zu untersuchenden Infrarotschwingungsbanden mit Molekülgruppen der Edukte und Produkte aus, dann erhält man prinzipiell Zugang zu den Projektionen der Dynamik in den Orts-Zeit-Raum, verbunden mit der Möglichkeit, Informationen über strukturelle Änderungen zu erhalten.

Besagte Schwingungsbanden bilden im Vergleich zum optischen Fall ein besser strukturiertes Spektrum. Die größere Vielfalt macht allerdings die Analyse nicht automatisch einfacher. Die Breite der Infrarotbanden liegt typischerweise im Bereich von  $\Delta\tilde{\nu} = 10 - 20 \text{ cm}^{-1}$ . Damit sind Dephasierungszeiten<sup>78</sup> von  $T_2 = 0.5 - 1 \text{ ps}$  verknüpft, die in der Größenordnung der experimentellen Zeitauflösung liegen. Es ist deshalb notwendig, Wissen über kohärente Phänomene zu besitzen, um nicht fälschlicherweise bei einem Experiment auftretende kohärente Effekte einer Dynamik von Zuständen zuzuordnen. Bevor diese Phänomene nähere Berücksichtigung finden, wird im ersten Unterkapitel (2.3.1), auf das in den folgenden Unterkapiteln immer wieder Bezug genommen wird, das Prinzip der in dieser Arbeit angewandten Detektionsmethode erklärt. Es schließt sich eine Diskussion über Dephasierungszeiten und kohärente Phänomene an Hand eines 4-Niveau-Systems an (2.3.2). Es besteht nicht immer die Notwendigkeit, im Dichtematrixformalismus zu rechnen. Häufig, so auch in dieser Arbeit, kann auf einfachere Ratenmodelle zurückgegriffen werden. Die damit verbundenen Phänomene werden im vorletzten Unterkapitel (2.3.3) erörtert. Die beiden abschließenden Unterkapitel präsentieren ein phänomenologisches Modell, das zur Simulation der gemessenen zeitlichen Absorptionsänderungen der Ethylenbande von Bakteriorhodopsin nach optischer Anregung herangezogen werden wird (2.3.4) und eine Simulationsfunktion für zeitliche Absorptionsänderungen von Silicium nach optischer Anregung (2.3.5), die zur Bestimmung des zeitlichen Nullpunktes der Meßapparatur und zur Pulsbreitenbestimmung beteiligter Pulse benötigt wird.

### 2.3.1 Detektionsmethoden der Femtosekunden-Infrarotspektroskopie

Es existiert eine Vielzahl von Detektionsmethoden. Die folgende Diskussion beschränkt sich aber auf die gewöhnliche Detektionsmethode und die für diese Arbeit relevante Methode des "optischen gagens"<sup>79</sup> (Abbildung 14).

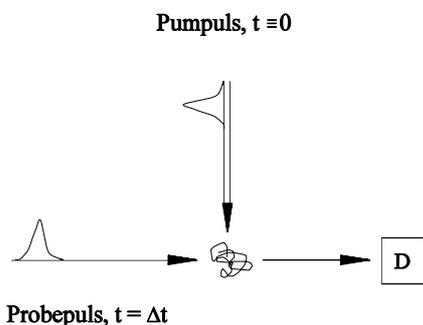
Bei der gewöhnlichen Detektionsmethode regt ein Pumpimpuls die Probe an und ein zeitlich verzögerbarer Probepuls fragt die Probe ab. Seine Intensität wird hinter der Probe von einem relativ zur Femtosekundenzeitskala langsamen Detektor detektiert. Ein Meßpunkt setzt sich aus der Zeitdifferenz der beiden Pulse und der detektierten Intensität zusammen. Eine Kinetik, definiert als Menge von Meßpunkten zu unterschiedlichen Zeitdifferenzen bei einer Anregungswellenlänge, erhält man

<sup>77</sup> Boyd R.W., *Nonlinear optics*, Academic Press 1992, 60 ff

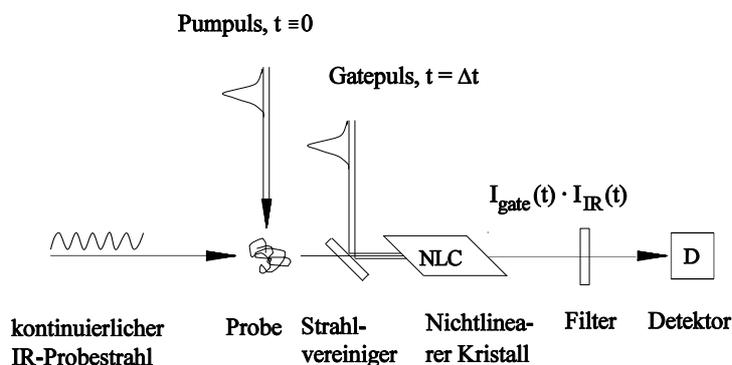
<sup>78</sup>  $T_2 = 1 / \pi c \Delta(\tilde{\nu})$ , siehe Boyd R.W., *Nonlinear optics*, Academic Press 1992, 202

<sup>79</sup> Midwinter J.E. et al, *J. Appl. Phys.* **38** (1967), 519; Warner J., *Appl. Phys. Lett.* **13** (1968), 360

a) Gewöhnliche Detektionsmethode



b) Methode des "optischen gatens"



**Abbildung 14:** Gegenüberstellung der gewöhnlichen Detektionsmethode und der in der vorliegenden Arbeit angewandten Methode des "optischen gatens". Weiteres im Text.

dann durch schrittweises Variieren der Verzögerungszeit.

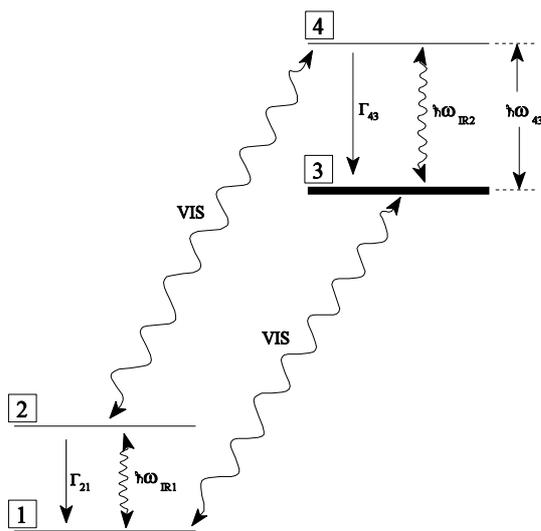
Eine andere Möglichkeit, die ohne Femtosekunden-Infrarotpulse auskommt, benötigt als wesentliche technische Vereinfachung nur einen kontinuierlichen Infrarotstrahl. Wieder regt ein Pumpimpuls die Probe an, die dauernd in Wechselwirkung mit einem sehr schwachen Infrarotlaserstrahl steht. Als Folge davon erhält die Intensität des Probelaserstrahles hinter der Probe eine zeitliche Struktur, welche die gesuchte Information über die zeitliche Entwicklung der Probenantwort auf den Anregungspuls darstellt. Diese Struktur kann mit Hilfe eines, zum Pumpimpuls verzögerbaren "gate" Pulses zeitlich aufgelöst werden. Zu diesem Zweck werden der Infrarotstrahl und der "gate"-Puls in einem nichtlinearen Kristall überlagert und beispielsweise durch einen Filter dafür gesorgt, daß nur die Summenfrequenz vom Detektor wahrgenommen werden kann. Nachdem die Intensität des Summenfrequenzpulses proportional zur Intensität des "gate"-Pulses und des Infrarotlaserstrahles ist, kann die gesuchte Struktur mit dieser Anordnung schrittweise zeitlich aufgelöst werden.

Der Name "gate"-Puls rührt daher, daß dieser Puls im Sinne eines Zeittores betrachtet werden kann. Der Detektor ist nur dann sensitiv, wenn das Tor offen ist bzw. sich der "gate"-Puls im nichtlinearen Kristall befindet. Aus der Sichtweise der Elektronik können nichtlinearer Kristall und Filter auch als optisches UND-Gatter angesehen werden.

Zum Abschluß soll die Heisenbergsche Unschärferelation betrachtet werden. Setzt man für die Energieunschärfe eine typische Linienbreite des kontinuierlichen Infrarotlaserstrahles von 100 MHz und eine zeitliche Auflösung, determiniert durch Anregungs- und "gate"-Pulsbreite von 100 fs an, dann ergibt sich ein scheinbarer Widerspruch zur Heisenbergschen Unschärferelation:

$$\Delta E \cdot \Delta t = h \cdot 10^8 \cdot 10^{-13} \ll \hbar. \quad (24)$$

Bei genauer Betrachtung der experimentellen Gegebenheiten läßt sich dieser Widerspruch auflösen und auf eine fehlerhafte Verknüpfung zueinander scheinbar in Beziehung stehender Größen zurückführen. Betrachtet man dazu den Infrarotlaserstrahl, dann ist er vor der Probe schmalbandig. Durch Wechselwirkung mit einer angeregten Probe erhält er aber eine zeitliche Struktur, die über die Fouriertransformation zu einem Spektrum mit jetzt größerer Bandbreite führt. Setzt man diese Bandbreite und eine den zeitlichen Verlauf der Struktur charakterisierende Zeit zueinander in Beziehung, dann erfüllt das Produkt die Heisenbergsche Unschärferelation.



**Abbildung 15:** Zur Veranschaulichung kohärenter Phänomene wird ein vier-Niveau-System angenommen. Die Zustände 1, 2 und 3, 4 können mit einem Infrarotlaser  $\hbar\omega_{\text{IR}1}$  und  $\hbar\omega_{\text{IR}2}$  abgefragt werden. Der eingezeichnete optische Puls VIS sei in seiner Bandbreite so gering, daß er nur die Zustände 2, 4 und 1, 3 miteinander koppeln kann. Zusätzlich zu den angegebenen Übergangsraten  $\Gamma_{21}$  und  $\Gamma_{43}$  existieren noch Dephasierungsraten  $\gamma_{21}$  und  $\gamma_{43}$ .

### 2.3.2 $T_2$ - Zeit und kohärente Effekte

Für die noch zu erklärenden Effekte wird das in Abbildung 15 dargestellte Vier-Niveau-System benötigt.<sup>80</sup> Zur Diskussion von Dephasierungszeiten und Rabi-Oszillationen reicht es, die Zustände 3 und 4 zu betrachten.<sup>81</sup>

#### Die Dephasierungszeiten

Die Hamiltonmatrix lautet dann für dieses System:

$$\begin{aligned} \mathbf{H} &= \mathbf{H}_0 + \mathbf{V}(t) \\ &= \begin{bmatrix} \hbar\omega_3 & 0 \\ 0 & \hbar\omega_4 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & -\mu_{34} E(t) \\ -\mu_{43} E^*(t) & 0 \end{bmatrix}. \end{aligned} \quad (25)$$

$H_0$  ist darin der Hamiltonoperator und  $V(t)$ <sup>82</sup> beschreibt die Wechselwirkung mit dem Strahlungsfeld. Die Wellenfunktionen haben angenommener Weise eine definierte Parität, weswegen die Hauptdiagonalelemente von  $V$  null sind. Setzt man diesen Hamiltonoperator in die Liouville von Neumann Gleichung ein

$$\dot{\rho} = \frac{i}{\hbar} [\mathbf{H}, \rho] + \mathbf{R}, \quad \mathbf{R} \equiv \begin{bmatrix} \rho_{44} \Gamma_{43} & -\gamma_{34} \rho_{34} \\ -\gamma_{34} \rho_{43} & -\rho_{44} \Gamma_{43} \end{bmatrix}, \quad (26)$$

wobei Relaxationsprozesse phänomenologisch durch eine Relaxationsmatrix  $\mathbf{R}$  beschrieben wer-

<sup>80</sup> Wynne K., Hochstrasser R.M., Chem. Phys. **193** (1995), 211

<sup>81</sup> Boyd R.W., *Nonlinear Optics*, Academic Press, 1992, 191

<sup>82</sup> Die 2x2 Matrix  $V(t)$  hat die Komponenten  $V_{33}$ ,  $V_{34}$ ,  $V_{43}$  und  $V_{44}$  !

den,<sup>83</sup> und definiert man eine Populationsdifferenz  $\Delta\rho \equiv \rho_{44} - \rho_{33}$ , sowie die Energiedifferenz  $\hbar\omega_{43} = \hbar\omega_4 - \hbar\omega_3$ , dann erhält man die beiden Differentialgleichungen:

$$\begin{aligned}\dot{\Delta\rho} &= -(\Delta\rho + 1)\Gamma_{43} - \frac{2i}{\hbar}(V_{43}\rho_{34} - \rho_{43}V_{34}) \\ \dot{\rho}_{43} &= -\rho_{43}(i\omega_{43} + \gamma_{43}) + \frac{i}{\hbar}V_{43}\Delta\rho,\end{aligned}\quad (27)$$

die als Ausgangspunkt folgender Diskussionen anzusehen sind.

Um die Natur der beiden Raten  $\Gamma$ ,  $\gamma$  zu ergründen, betrachtet man das ungestörte System, d.h.  $V_{34} = V_{43} = 0$ . Beide Differentialgleichungen sind dann entkoppelt und man erhält die Lösungen:

$$\begin{aligned}\Delta\rho(t) &= (\Delta\rho(0) + 1)\exp(-t\Gamma_{43}) - 1 \\ \rho_{43} &= \rho_{43}(0)\exp[-(i\omega_{43} + \gamma_{43})t]\end{aligned}\quad (28)$$

Die erste Gleichung verdeutlicht, daß  $\Gamma_{43} \equiv 1/T_1$  tatsächlich eine Übergangsrates<sup>84</sup> ist.  $T_1$  ist dann die Lebensdauer des Zustandes 4. Betrachtet man weiterhin den Erwartungswert des Dipolmomentes

$$\langle\mu\rangle = \text{Tr}(\rho\mu) = \rho_{43}\mu_{34} + \rho_{34}\mu_{43} = (\rho_{43}(0)\mu_{34}\exp(-\omega_{43}t) + \text{c.c.}) \cdot \exp(-\gamma_{43}t),\quad (29)$$

dann zeigt sich, daß  $\gamma_{43}$  den exponentiellen Zerfall der makroskopischen Polarisation  $P = N\langle\mu\rangle$  beschreibt. Deshalb heißt  $T_2 \equiv 1/\gamma_{43}$  auch Dipoldephasierungszeit oder kurz Dephasierungszeit.

Die makroskopische Polarisation setzt sich aus den schwingenden Dipolen, die mit angeregten Atomen oder Molekülen verbunden sind, zusammen. Ein Zerfall angeregter Zustände, welcher durch die  $T_1$ -Zeit charakterisiert wird, geht mit einer Reduktion der Anzahl dieser mikroskopischen Dipole einher und führt damit zu einer Verminderung der Polarisation. Werden die Zustände durch ein kohärentes Feld induziert, dann kann die Phasenbeziehung der mikroskopischen Dipole untereinander durch Stöße beispielsweise gestört werden. Dieser Effekt, der reinen Dephasierungseffekt genannt und durch die reine Dephasierungszeit  $T^*$  bestimmt wird, führt auch zu einer Verminderung der Polarisation. Mathematisch wird die eben besprochene Abhängigkeit der Lebensdauer  $T_1$ , der Dephasierungszeit  $T_2$  und der reinen Dephasierungszeit  $T^*$  durch:

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{2T_1} + \frac{1}{T^*}\quad (30)$$

beschrieben. Mit diesen Zeiten ist auch die Linienbreite  $\Delta_{FWHM}$  des betrachteten Überganges verbunden. Es gilt:<sup>85</sup>

$$\Delta_{FWHM} = \frac{1}{\pi c T_2} = \frac{1}{2\pi c T_1} + \frac{1}{\pi c T^*}, \quad [\Delta_{FWHM}] = \text{cm}^{-1}.\quad (31)$$

### Die Rabi-Oszillation

Ausgangspunkt für die weitere Diskussion ist wieder Gleichung (27). Desweiteren gilt nun  $V_{43} = V_{34}^* \neq 0$ , und es sei:

<sup>83</sup> Boyd W., *Nonlinear optics*, Academic Press, 1992, 116 ff

<sup>84</sup> population relaxation time

<sup>85</sup> Boyd R.W., *Nonlinear optics*, Academic Press 1992, 202

$$V_{43} = -\mu_{43} \left[ E \exp(-i\omega_{IR2} t) + E^* \exp(i\omega_{IR2} t) \right] \approx -\mu_{43} E_0 \exp(-i\omega_{IR2} t). \quad (32)$$

Die durchgeführte Näherung heißt "rotating wave approximation". In Abwesenheit eines elektromagnetischen Feldes propagiert  $\rho_{43}$  mit der Zeit wie  $\exp(-i\omega_{43}t)$ . Der erste Faktor  $\exp(-i\omega_{IR2}t)$  in der Klammer ist diesem intrinsischen Verhalten näher als der zweite und bildet deshalb den wesentlichen Teil der treibenden Kraft. Zur weiteren Vereinfachung wird der Resonanzfall  $\omega_{IR2} = \omega_{43}$  angenommen und der ortsabhängige Teil des elektrischen Feldes vernachlässigt.  $E_0$  beschreibt deshalb nur noch die Amplitude des elektrischen Feldes. Transformiert man in das rotierende System durch:

$$\rho_{43} \equiv \bar{\rho}_{43} \exp(-i\omega_{43} t) \quad (33)$$

und definiert man eine neue Frequenz, nämlich die "Rabi-Frequenz":

$$\Omega_R \equiv \frac{2}{\hbar} |\mu_{43}| |E|, \quad (34)$$

die den Einschwingvorgang charakterisiert, wie sich in wenigen Zeilen zeigen wird, dann erhält man ein gekoppeltes Differentialgleichungssystem:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \bar{\rho}_{43} &= -\gamma_{43} \bar{\rho}_{43} - \frac{i}{2} \Delta\rho \Omega_R \frac{\mu_{43}}{|\mu_{43}|} \\ \frac{d}{dt} \Delta\rho &= -(\Delta\rho + 1) \Gamma_{43} - 2 \Omega_R \operatorname{Im} \left( \frac{\mu_{43}}{|\mu_{43}|} \bar{\rho}_{34} \right). \end{aligned} \quad (35)$$

Die Rabi-Frequenz  $\Omega_R$  taucht darin als Kopplungskonstante auf. Ist für diese Frequenz die Ungleichung

$$\Omega_R \ll \gamma_{43}, \Gamma_{43} \quad (36)$$

erfüllt, dann entkoppelt das Gleichungssystem zu zwei unabhängigen linearen Differentialgleichungen. Insbesondere die zweite, welche die zeitabhängige Besetzung beschreibt, ist dann mit Hilfe eines einfachen Ratenmodells herleitbar. Der Dichtematrixansatz enthält also als Grenzfall den einfacheren Ratenmodellansatz, der verwendet werden darf, wenn Bedingung 36 erfüllt ist.

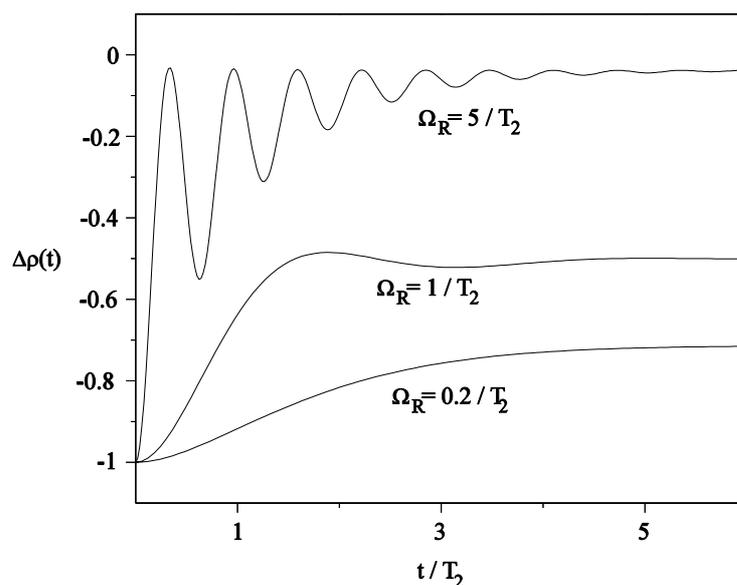
Die relaxierten Lösungen des gekoppelten Differentialgleichungssystems findet man durch Nullsetzen der Ableitungen und Lösen der daraus resultierenden algebraischen Gleichungen. Für die relaxierte Besetzungsdifferenz  $\Delta\rho_\infty$  gilt somit:

$$\Delta\rho_\infty \equiv - \frac{1}{1 + \Omega_R^2 T_1 T_2}. \quad (37)$$

Setzt man zur weiteren Vereinfachung  $T_1 = T_2$  und sucht nach Lösungen des Differentialgleichungssystems mit folgenden Anfangsbedingungen:

$$E(t) \equiv \Theta(t) \cdot E_0, \quad \Delta\rho(0) \equiv -1, \quad \langle \mu(0) \rangle \equiv 0, \quad (38)$$

dann erhält man für die zeitabhängige Besetzungsdifferenz  $\Delta\rho(t)$ :



**Abbildung 16:** Lösung der Rabigleichungen für ein 2-Niveau-System für unterschiedlich starke elektromagnetische Felder und damit verbundener Rabifrequenzen  $0.2/T_2$ ,  $1/T_2$ ,  $5/T_2$ . ( $T_1 = T_2$ )

$$\Delta\rho(t) = \Delta\rho_\infty - (1 + \Delta\rho_\infty) \cos(\Omega_R t) \left( \cos(\Omega_R t) + \frac{\sin(\Omega_R t)}{\Omega_R T_2} \right) \exp(-t/T_2). \quad (39)$$

In Abbildung 16 ist die zeitabhängige Lösung für drei verschiedene Rabifrequenzen zu sehen. Deutlich zeigt sich das Ausbleiben von Rabioszillationen, wenn die Ungleichung (36) erfüllt ist. Gilt die Ungleichung dagegen nicht, dann erhält man einen, durch die  $T_2$ -Zeit dominierten exponentiellen und von Rabioszillationen überlagerten Anstieg der Besetzungsdifferenz.

### Kohärenz und verschiebende Banden<sup>86</sup>

Im nächsten Schritt werden kohärente Effekte, die bei anregungsinduzierter Präparation oder Zerstörung eines Absorbers in Anwesenheit eines Infrarotstrahles auftreten, beschrieben. Die Detektionsmethode des "optischen gatings" wird berücksichtigt.

Hinter der Probe seien deshalb das durch die induzierte Polarisation  $P(t)$  generierte Feld  $E_{gen}(t)$  und das ursprüngliche Probefeld  $E_{IRI}(t)$  vorhanden. Beide treffen in einem nichtlinearen Kristall mit einem "gate"-Puls  $E_{gate}(t)$  zusammen um die Summenfrequenz zu bilden, die schließlich von einem langsamen Detektor detektiert wird. Für das Detektorsignal  $S(\tau)$  gilt somit:

$$S(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t''-\tau) \left[ |E_{IRI}(t'')|^2 + |E_{gen}(t'')|^2 + 2 \operatorname{Re} E_{gen}(t'') E_{IRI}(t'') \right] dt''. \quad (40)$$

Der erste Term fällt weg, wenn man an der Absorptionsänderung interessiert ist, der zweite ist im Vergleich zum dritten klein und kann aus diesem Grund vernachlässigt werden. Als nächsten Schritt muß das generierte Feld berechnet werden. In der "slowly varying envelope"<sup>87</sup>- Näherung

<sup>86</sup> Wynne K. et al, Chem. Phys. **193** (1995), 211

<sup>87</sup> In dieser Näherung können zweite Ortsableitungen auftretender Amplituden gegenüber ersten Ableitungen vernachlässigt werden.

und im Grenzfall kleiner Felder gilt:

$$E_{gen}(t) \sim i P(t) \sim i \langle \mu(t) \rangle \sim i Tr(\rho(t)\mu) \sim i Re(\rho_{21}(t) \mu_{21}). \quad (41)$$

Zur Berechnung von  $\rho_{21}(t)$  werden alle Zustände in Abbildung 15 benötigt. Die Liouville-von-Neumann-Gleichung nimmt nun folgende Gestalt an:

$$\begin{aligned} \dot{\rho}_{11} &= A_{1133}(t) (\rho_{33} - \rho_{11}) + i/\hbar V_{IR1}(t) (\rho_{12} - \rho_{21}) + \Gamma_{21} \rho_{22} \\ \dot{\rho}_{22} &= A_{2244}(t) (\rho_{44} - \rho_{22}) + i/\hbar V_{IR1}(t) (\rho_{12} - \rho_{21}) - \Gamma_{21} \rho_{22} \\ \dot{\rho}_{33} &= A_{1133}(t) (\rho_{11} - \rho_{33}) + i/\hbar V_{IR2}(t) (\rho_{43} - \rho_{34}) + \Gamma_{43} \rho_{44} \\ \dot{\rho}_{44} &= A_{2244}(t) (\rho_{22} - \rho_{44}) + i/\hbar V_{IR2}(t) (\rho_{34} - \rho_{43}) - \Gamma_{43} \rho_{44} \\ \dot{\rho}_{21} &= -(i\omega_{21} + \gamma_{21}) \rho_{21} + A_{1234} (\rho_{43} - \rho_{21}) \\ \dot{\rho}_{43} &= -(i\omega_{43} + \gamma_{43}) \rho_{43} + A_{1234} (\rho_{21} - \rho_{43}). \end{aligned} \quad (42)$$

Darin kommen Differenzen der Bohrfrequenzen (z.B.  $\omega_{21} \equiv \omega_2 - \omega_1$ ) der beteiligten Zustände,  $V_{IR1}$  und  $V_{IR2}$ , welche die Wechselwirkung der beiden möglichen Infrarotstrahlen  $IR1$  mit den Zuständen  $1, 2$  und  $IR2$  mit den Zuständen  $3, 4$  beschreiben und eine optische Anregungsfunktion<sup>88</sup>  $A_{iklm}(t)$  definiert durch:

$$A_{iklm}(t) \equiv \frac{\mu_{il} \mu_{km} \gamma_e |E_{VIS}(t)|^2}{2\hbar^2 (\gamma_e^2 + \Delta^2)} \quad (43)$$

vor.  $\mu_{il}$  und  $\mu_{km}$  sind die beteiligten elektronischen Dipolmomente,  $\gamma_e$  die elektronische Dephasierungsrate,  $E_{VIS}(t)$  das zeitabhängige Anregungsfeld und  $\Delta$  die Verstimmung von der Resonanz. Sind die Infrarotmoden nicht Franck-Condon aktiv, dann können alle elektronischen Dipolmomente gleichgesetzt und die optische Anregungsfunktion  $A_{iklm}(t)$  durch  $A(t)$  ersetzt werden.

Im ersten Fall sei  $IR1$  der Beobachtungsübergang, d.h.  $V_{IR1} \neq 0$  und  $V_{IR2} = 0$ . Der optische Puls soll dann zu einer Verschiebung der Infrarotbande außerhalb des spektralen Detektionsbereiches von  $IR1$  führen. Berechnet werden muß deshalb die Dynamik der Zustände  $1$  und  $2$ , die Zustände  $3$  und  $4$  können dagegen außer Acht gelassen werden. Die Berechnungen werden störungstheoretisch nur bis zur ersten Ordnung des schwach angenommenen Infrarotfeldes durchgeführt. Terme proportional zu  $V_{IR1}(t) \rho_{12}$ ,  $V_{IR1}(t) \rho_{21}$  bedingen Korrekturen höherer Ordnung, weshalb sie vernachlässigt werden können. Das Differentialgleichungssystem reduziert sich nun zu:

$$\begin{aligned} \dot{\rho}_{11} &= -A(t) \rho_{11} \\ \dot{\rho}_{21} &= [-i\omega_{21} + \gamma_{21} - A(t)] \rho_{21} - i/\hbar V_{IR1} \rho_{11}. \end{aligned} \quad (44)$$

Die erste Differentialgleichung kann einfach integriert werden und man erhält:

$$\rho_{11}(t) = \rho_{11}(0) \exp\left(-\int_{-\infty}^t A(\tau) d\tau\right). \quad (45)$$

Einsetzen der Lösung in die Zweite führt auf:

<sup>88</sup> visible pump interaction function

$$\begin{aligned} \dot{\rho}_{21} + \kappa(t) \rho_{21} &= f(t), \\ \kappa(t) &\equiv i\omega_{21} + \gamma_{21} - A(t), \quad f(t) \equiv -i/\hbar V_{IR1} \exp\left(-\int_{-\infty}^t A(t') dt'\right) \end{aligned} \quad (46)$$

und wird durch

$$\rho_{21}(t) = -i/\hbar \exp\left(\int_{-\infty}^t A(t') dt'\right) \cdot \int_{-\infty}^t V_{IR1}(t_1) \exp[-(i\omega_{21} + \gamma_{21})(t-t_1)] dt_1 \quad (47)$$

gelöst. Setzt man  $V_{IR1}(t_1) \equiv \mu_{12} E_{IR1} \exp(-i\omega_{IR1} t_1)$ , dann kann die Integration ausgeführt werden

$$\rho_{21}(t) = \mu_{12}/\hbar E_{IR1} \frac{\Delta_{IR} + i\gamma_{21}}{\Delta_{IR}^2 + \gamma_{21}^2} \exp\left(-\int_{-\infty}^t A(t') dt' - i\omega_{IR1} t\right), \quad \Delta_{IR} \equiv \omega_{21} - \omega_{IR1}. \quad (48)$$

Setzt man Gleichung (48) in Gleichung (41) und das Ergebnis in Gleichung (40) ein, dann gilt:

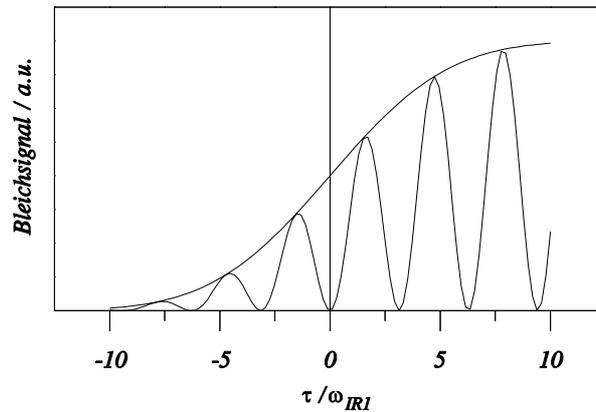
$$S(\tau) \sim \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t''-\tau) \exp\left(-\int_{-\infty}^{t''} A(t') dt'\right) \frac{\Delta_{IR}/2 \sin(2\omega_{IR1} t'') + \gamma_{21} \sin^2(\omega_{IR1} t'')}{\Delta_{IR}^2 + \gamma_{21}^2} dt''. \quad (49)$$

Für die optische Anregungsfunktion wird eine Gaußfunktion mit der Halbwertsbreite  $\sigma_p$  und für den Intensitätsverlauf des "Gate"-Pulses eine Deltafunktion angesetzt. Wird zusätzlich die e-Funktion genähert und das Integral durch die Fehlerfunktion  $erf(x)$  ausgedrückt, dann erhält man schließlich den gesuchten Ausdruck für das zeitabhängige Detektionssignal:

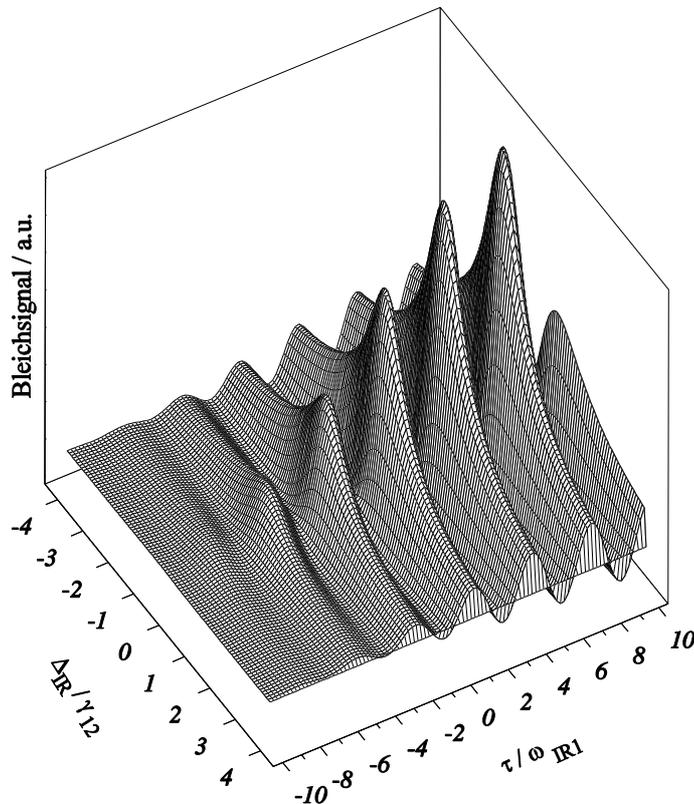
$$S(\tau) \sim \frac{1}{2} \left[ 1 + erf\left(2\sqrt{\ln 2} \tau/\sigma_p\right) \right] \frac{\Delta_{IR}/2\gamma_{12} \sin(2\omega_{IR1} \tau) + \sin^2(\omega_{IR1} \tau)}{1 + \Delta_{IR}^2/\gamma_{21}^2}. \quad (50)$$

Das Ergebnis, welches grafisch in den Abbildungen 17 und 18 dargestellt ist, setzt sich aus der Einhüllenden  $1/2 [..]$ , die von einer oszillatorischen Struktur (Quotient) überlagert wird zusammen. Bei einer für diese Arbeit typischen Zeitauflösung von 0.6 ps und einer Infrarotfrequenz von  $\omega_{IR1} = 2\pi c\tilde{\nu} = 2\pi c 1530 \text{ cm}^{-1} \approx 1/4 \text{ fs}^{-1}$  erfolgen die Oszillationen so rasch, daß sie nicht beobachtet werden können. Die Einhüllende legt den Signalanstieg fest, der nur durch apparative Zeitkonstanten, hier die Anregungspulsbreite  $\sigma_p$ , bestimmt wird. Das ist das wichtige Ergebnis dieser Rechnung.

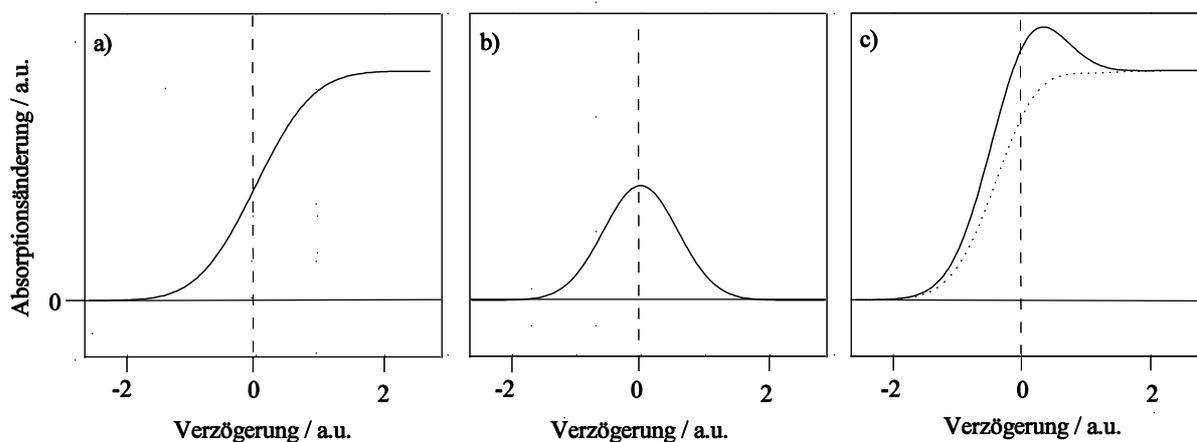
Im zweiten Fall ist  $V_{IR2} \neq 0$  und  $V_{IR1} = 0$ .  $\omega_{IR2}$  ist damit die Detektionsfrequenz und der optische Puls erzeugt im Gegensatz zum vorhergehenden Fall einen Absorber. Die Rechnung verläuft analog zum schon beschriebenen Fall, fällt aber komplexer aus, weshalb das Ergebnis ohne Rechnung diskutiert wird. Die Einhüllende beschreibt einen Anstieg, der sich aus einer Faltung der Pulsbreite des Anregungspulses und der, mit dem Übergang 3, 4 verbundenen  $T_2$ -Zeit zusammensetzt. Überlagert wird dieser zeitliche Verlauf von Schwebungsozillationen. Sie haben ihre Ursache in einer Interferenz des mit  $\omega_{43}$  oszillierenden generierten Feldes und des Probefeldes, welches bezüglich der zum Übergang 3, 4 gehörende Resonanzfrequenz  $\omega_{43}$  verstimmt werden kann.



**Abbildung 17:** Der zeitabhängige Verlauf der Absorptionsänderung  $S(\tau)$  und dessen Einhüllende, der sich durch Wechselwirkung eines IR-Probestrabes mit einem Zwei-Niveau-System nach optischer Anregung ergibt. Der Infrarotstrahl sei in Resonanz mit dem System ( $\Delta_{IR} = 0$ ) und der optische Anregungspuls führe zu einer so großen Verschiebung der Bande, welche dem Zwei-Niveau-System zugeordnet sei, daß deren Einfluß auf das gemessene Signal dann vernachlässigt werden kann.



**Abbildung 18:** Der zeitabhängige Verlauf der Absorptionsänderung  $S(\tau, \Delta_{IR})$ , der sich durch Wechselwirkung eines IR-Probestrabes mit einem Zwei-Niveau-System nach optischer Anregung ergibt. Der IR-Strahl sei in Frequenz gegenüber der Resonanzfrequenz des Übergangs verstimmbar. Diese Verstimmung wird durch  $\Delta_{IR}$  beschrieben. Der optische Anregungspuls führe zu einer so großen Verschiebung der Bande, welche dem Zwei-Niveausystem zugeordnet sei, daß deren Einfluß auf das gemessenen Signal dann vernachlässigt werden kann.



**Abbildung 19:** Einfluß des kohärenten Artefaktes auf eine hier nur durch  $\text{erf}(x)+1$  simulierte und in Teilbild a) zu sehende Kinetik. Teilbild b) zeigt das Artefakt, das die Kreuzkorrelation enthält. Im letzten Teilbild (c) sind schließlich die Kinetiken zu sehen, die sich bei unterschiedlich starkem Einfluß des Artefaktes ergeben. Man beachte die scheinbare Nullpunktverschiebung!

### Der gestörte freie Induktionszerfall<sup>89</sup>

Zu negativen Zeiten erreicht der Infrarotabfragepuls die Probe vor dem optischen Anregungspuls und ist dann in der Lage, eine mit dem Grundzustand verknüpfte kohärente Polarisation zu erzeugen. Sie zerfällt mit der dazugehörigen  $T_2$ -Dephasierungszeit. Dieser Zerfall heißt freier Induktionszerfall. Führt der nachfolgende Pumpuls zu einer Verschiebung der Bandenposition oder Änderung des dazugehörigen Wirkungsquerschnittes, dann wird die Abnahme der Polarisation gestört und führt bei zeitabhängigen Absorptionmessungen zu Oszillationen, die bei negativen Zeiten auftreten. Sie nehmen in Richtung negativer Zeiten mit der schon genannten Dephasierungszeit ab. Dieses Signal enthält keine Informationen über die zeitliche Entwicklung chemischer Reaktionen oder Energierelaxationsprozesse.

### Der Optischer Kerr-Effekt<sup>90</sup>

Die Suszeptibilität dritter Ordnung von Materialien führt zum optischen Kerr-Effekt. Das gilt auch für  $\text{CaF}_2$ , ein für die Infrarotspektroskopie typisches Küvettenmaterial. Der Brechungsindex wird dabei intensitätsabhängig,<sup>91</sup> und damit auch orts- und zeitabhängig:

$$n(\vec{r},t) = n_0 + n_2 I(\vec{r},t), \quad n_2 = \frac{12 \pi^2}{n_0^2 c} \chi^{(3)}. \quad (51)$$

Sind Anregungs- und Abfragepuls so polarisiert, daß der eingeschlossene Winkel zwischen  $0^\circ$  und  $90^\circ$  liegt (Grenzen ausgeschlossen), dann induziert der Anregungspuls eine zeitabhängige Doppelbrechung im Küvettenmaterial. Sie führt zu einer zeitabhängigen Polarisationsdrehung des Abfragepulses. Befinden sich auf dem Weg zum Detektor noch polarisationsabhängige optische Elemente, die beispielsweise der Unterdrückung pumpulsinduzierten Streulichtes dienen, dann

<sup>89</sup> perturbed free induction decay; Hamm P., Chem. Phys. **200** (1995), 415; Joffe M. et al, Opt. Lett. **13** (1988), 276; Brito Cruz C.H. et al, IEEE J. Quantum. Electron. QE **24** (1988), 261

<sup>90</sup> Lian T. et al, J. Phys. Chem. **99** (1995), 7272; Hamm P. et al, J. Chem. Phys. **106** (1997), 519

<sup>91</sup> Boyd R.W., *Nonlinear Optics*, Academic Press 1992, 169 ff

wird die eigentliche Kinetik von einer zusätzlichen Absorption um den zeitlichen Nullpunkt herum überlagert.

Im parallelen Fall führt der durch den Pumpimpuls zeitlich modulierte Brechungsindex zu einer "Kerr-Linse" und beeinflusst damit die Divergenz des Strahles. Hängt das detektierte Signal nun von dieser Divergenz ab, dann überlagert sich der eigentlichen Kinetik wieder ein Kerr-Signal. Wie Lian T. et al zeigten, kann dieser Effekt verwendet werden, um Suszeptibilitäten dritter Ordnung zu bestimmen. Sie verwendeten eine Apparatur, die sich nur im CO-Laser von der in dieser Arbeit beschriebenen unterschied.

Der zeitabhängige Anteil führt unter anderem auf die Kreuzphasenmodulation. In einer einfachen Betrachtung sei  $\exp(i\Phi) = \exp(ik_{IR}z - \omega_0 t)$  der Infrarotprobestrahl, dann wird dessen Phase  $\Phi$  über die Dispersionsbeziehung  $k_{IRC} = \omega_0 n(I_{VIS})$  vom optischen Anregungspuls abhängig. Als Folge davon kommt es zu einer zeitabhängigen Frequenzverschiebung

$$\omega_{IR}(t) = \frac{\partial \Phi}{\partial t} = \omega_0 \left( 1 - \frac{n_2 z}{c} \dot{I}_{VIS}(t) \right) \quad (52)$$

der ursprünglichen Infrarotprobenfrequenz  $\omega_0$ . Im Fall von Hamm P., Ohline S.M., Zinth W. hatte das von einer CaF<sub>2</sub>-Küvette zusätzlich herrührende Signal eine Größe von 1 mOD und war damit um ein Dreifaches größer als die erwarteten Signale. Es war zudem erst nach 0.7 ps verschwunden, so daß der gesuchte zeitliche Verlauf der Absorptionsänderung vor 0.7 ps nicht gemessen werden konnte.

### Die Kohärenzspitze<sup>92</sup>

Wenn Anregungs- und Abfragepuls die gleiche Wellenlänge haben und gleichzeitig mit der Probe wechselwirken, dann kann ein Brechungsindexgitter erzeugt werden, an dem ein Teil des im allgemeinen intensiveren Anregungspulses in Richtung des Abfragepulses gestreut wird. Es entsteht im günstigen Fall eine sichtbare und in Abbildung 19c) durchgezogen dargestellte Kohärenzspitze, deren Breite nur durch die Kohärenz der beiden Pulse bedingt wird und keine kinetische Information über die Probe enthält. Definiert man einen scheinbaren Nullpunkt als zeitliche Position des Wendepunktes der Anstiegsflanke einer Kinetik im Gegensatz zum wirklichen Nullpunkt, der durch den Anregungspuls definiert wird, dann zeigt das abgebildete Beispiel, daß die Kohärenzspitze zu einer Verschiebung des scheinbaren bezüglich des wirklichen Nullpunktes führt.

### 2.3.3 Ratenmodelle und damit verbundene Phänomene

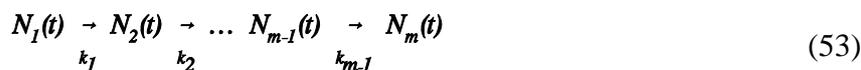
Ratenmodelle können nach dem Kriterium des vorhergehenden Kapitels die Dichtematrix und den damit verbundenen Formalismus zur Berechnung von zeitabhängigen Zustandsbesetzungen ersetzen. Das Modell hat den Vorteil, weniger rechenintensiv zu sein. Es sind aber trotzdem folgende Punkte zu berücksichtigen.

---

<sup>92</sup> coherence peak, coherence artefact, pump polarisation coupling; Shank C.V. et al, Appl. Phys Lett. **26** (1975), 62; Shank C.V. et al, Phys. Rev. Lett. **34** (1975), 479; Vardeny Z. et al, Opt. Comm. **39** (1981), 396; Rauscher C.R., Dissertation an der TU-München, 1997, 7 ff

### Der Zeitsortierungseffekt

Ausgangspunkt sei das Ratenmodell



mit  $m$  zeitabhängigen Zuständen  $N_1(t), \dots, N_m(t)$  und Übergangsraten  $k_0, \dots, k_m$ , wobei  $k_0 = k_m = 0$  gilt. Aus Gleichung (53) folgen die  $m$  Differentialgleichungen:

$$\frac{dN_r(t)}{dt} = k_{r-1} N_{r-1}(t) - k_r N_r(t), \quad r \in [1, m]. \quad (54)$$

Formuliert man folgenden Lösungsansatz:<sup>93</sup>

$$\begin{aligned} N_1(t) &\equiv C_{11} \exp(-k_1 t) \\ N_2(t) &\equiv C_{21} \exp(-k_1 t) + C_{22} \exp(-k_2 t) \\ &\vdots \\ N_m(t) &\equiv C_{m1} \exp(-k_1 t) + C_{m2} \exp(-k_2 t) + \dots + C_{mm} \exp(-k_m t), \end{aligned} \quad (55)$$

dann erhält man eine Rekursionsformel für die darin auftretenden Koeffizienten  $C_{hr}$ :

$$C_{hr} = \begin{cases} C_{h-1,r} \frac{k_{h-1}}{k_h - k_r}, & h \neq r \\ N_1(0) - C_{h1} - C_{h2} - \dots - C_{hh-1}, & h = r. \end{cases} \quad (56)$$

Als instruktives Beispiel seien die Randbedingungen  $N_r(0) = \delta_{1r}$  (Kronecker-Delta) gegeben. Nur  $N_m(t)$  soll zu einer absorptiven Änderung der optischen Dichte führen. Sieht man von kohärenten Effekten ab, dann ist die optische Dichte proportional zu  $N_m(t)$ . Ist zusätzlich ein  $k_r$ ,  $r = 1..m$  deutlich größer als die restlichen Raten, dann wird in dem Ausdruck für  $N_m(t)$  zu frühen Zeiten nur dieser Summand dominieren und damit nur diese Rate, unabhängig von ihrer Position im Ratenmodell, den Anstieg des Signals zu frühen Zeiten bestimmen. Es stellt sich also ein Zeitsortierungseffekt ein.

### Die Quanteneffizienz einer Verzweigungsreaktion

Zur Erläuterung des Begriffes Quanteneffizienz wird folgendes Ratenschema:



herangezogen. Zustand A verzweigt darin in die Zustände B und C. Aus der Gleichung (57) folgen wieder die Differentialgleichungen

$$\begin{aligned} \frac{dN_A(t)}{dt} &= -k_A N_A - k_B N_B \equiv -k_{ges} N_A \\ \frac{dN_B(t)}{dt} &= k_A N_A \\ \frac{dN_C(t)}{dt} &= k_C N_A, \end{aligned} \quad (58)$$

mit den Lösungen:

<sup>93</sup> Mayer-Kuckuk T., *Kernphysik*, Teubner Stuttgart 1984, 4. Auflage, 72

$$\begin{aligned}
N_A(t) &= N_A(0) \exp(-k_{ges} t) \\
N_B(t) &= N_A(0) \frac{k_B}{k_{ges}} [1 - \exp(-k_{ges} t)] + N_B(0) \\
N_C(t) &= N_A(0) \frac{k_C}{k_{ges}} [1 - \exp(-k_{ges} t)] + N_C(0).
\end{aligned} \tag{59}$$

Es sei hier deutlich vermerkt, daß das zeitliche Verhalten aller Zustände durch die gleiche Rate  $k_{ges}$  bestimmt wird! Seien wieder die Randbedingungen  $N_A(0) = 1$  und  $N_{B,C}(0) = 0$  gegeben, dann läßt sich die Quanteneffizienz für den Reaktionsweg  $B$  durch

$$p_B \equiv N_B(\infty) \tag{60}$$

definieren und es gelten folgende nützliche Relationen:

$$\begin{aligned}
k_B &= p_B k_{ges} \\
k_C &= (1 - p_B) k_{ges} \\
N_C(\infty) &= 1 - p_B
\end{aligned} \tag{61}$$

### Bandenerweiterung und die Verschiebung des scheinbaren Nullpunktes

Verknüpft man Absorptionsbanden mit einem Ratenmodell, dann erhält man ein Modell, das zeitabhängige Spektren simulieren kann. Die beteiligten Absorptions- und Bleichbanden können sich spektral überlagern, mit der Folge, daß sich der scheinbare Nullpunkt<sup>94</sup> verschieben kann und zusätzliche, zeitliche Strukturen in Form von Unter- oder Überschwingern auftreten können. Weiteres zu diesem Thema findet man in den Kapiteln "2.3.4 Das einfache phänomenologische Modell für Bakteriorhodopsin" und "4.2.1 Das verwendete Modell und seine Parameter".

#### 2.3.4 Das einfache phänomenologische Modell für Bakteriorhodopsin

Unter dem einfachen phänomenologischen Modell für Bakteriorhodopsin wird ein Modell verstanden, mit dessen Hilfe das zeitliche Verhalten von Bakteriorhodopsin-Infrarotabsorptionsbanden nach optischer Anregung auf der Piko- und Subpikosekundenzeitskala simuliert werden kann. Das Modell wird auf einem Ratenmodell, das die ersten Zustände im Fotozyklus beschreibt, aufbauen und auch die Detektionsmethode "optisches gaten"<sup>95</sup> berücksichtigen.

Beschrieben werden muß also die zeitabhängige Absorptionsänderung  $\Delta OD(\delta)$ . Sie läßt sich in einen zeitabhängigen (angeregten)  $OD_a(t)$  und einen statischen  $OD_s$ , den großen Untergrund bildenden Anteil, aufspalten:

$$\Delta OD(\delta) \equiv OD_a(t) - OD_s, \quad \begin{array}{l} \Delta OD > 0 \Leftrightarrow \text{Absorptionssignal} \\ \Delta OD < 0 \Leftrightarrow \text{Bleichsignal.} \end{array} \tag{62}$$

Das Lambert-Beersche Gesetz verknüpft die Intensität hinter ( $I_n$ ) und vor ( $I_v$ ) der Probe mit der optischen Dichte  $OD$ :

<sup>94</sup> Der scheinbare Nullpunkt wird als Wendepunkt der Anstiegsflanke einer zeitabhängigen Absorptionsänderung definiert. Dieser Punkt muß nicht mit dem wirklichen Nullpunkt, der durch den Anregungspuls festgelegt wird, übereinstimmen.

<sup>95</sup> optical gating via upconversion

$$I_n = I_v 10^{-OD}, \quad OD \equiv \varepsilon c d, \quad (63)$$

wobei  $\varepsilon$  der Extinktionskoeffizient,  $c$  die Konzentration und  $d$  die durchstrahlte Länge der Probe ist. Mit Hilfe dieses Gesetzes läßt sich die Absorptionsänderung auf die Intensitäten nach optischer Anregung  $I_n^a(\delta)$  und ohne Pumpimpuls  $I_n^s$  hinter der Probe zurückführen:

$$\Delta OD(\delta) = -\log \frac{I_n^a(\delta)}{I_n^s}. \quad (64)$$

Im nächsten Schritt wird die Methode des "optischen gates" berücksichtigt. Die Intensität hinter der Probe  $I_n(t)$

$$I_n(t) \sim |E_n(t) + E_{gen}(t)|^2 = |E_n(t)|^2 + |E_{gen}(t)|^2 + 2 \operatorname{Re} (\dot{E}_n(t) \cdot E_{gen}(t)) \approx |E_n(t)|^2 + 2 \operatorname{Re} (\dot{E}_n(t) \cdot E_{gen}(t)) \quad (65)$$

setzt sich aus zwei elektromagnetischen Feldern, einem transmittierten Feld  $E_n(t)$  und einem durch die induzierte Polarisation generiertem Feld  $E_{gen}(t)$  zusammen. Der zweite Term kann gegenüber den Restlichen vernachlässigt werden, da er bei den zu erwartenden Absorptionsänderungen von 1 mOD klein ist. Der Realteilterm führt zu speziellen schon diskutierten kohärenten Phänomenen. Es wird sich noch zeigen, daß der folgende Übergang zum inkohärenten Grenzfall gerechtfertigt ist. Die elektrischen Felder können dann auf eine Amplitude hinter der Probe reduziert werden, welche anschließend in einem nichtlinearen Kristall durch die Suszeptibilität zweiter Ordnung  $\chi^{(2)}$  mit der auf eins normierten Intensität des "gate"-Pulses  $I_{gate}(t)$  verknüpft<sup>96</sup> wird:

$$I_n(\delta) \sim (\chi^{(2)})^2 \cos^2(\Theta) \operatorname{sinc}^2(\Delta k d) \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t') I_n(t'+\delta) dt', \quad \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t) dt \equiv 1. \quad (66)$$

$\Theta$  bezeichnet den Winkel zwischen der Probenpolarisation und der Polarisation für die Phasenanpassung,  $d$  ist die Länge der Probe und  $\Delta k$  ist die Fehlanpassung der Wellenvektoren der beiden im Kristall wechselwirkenden Felder. Soll der Kerr-Linsen-Effekt Berücksichtigung finden, dann muß die Intensität  $I_n(t'+\delta)$  zusätzlich ortsabhängig definiert werden. In dieser Arbeit wird das nicht der Fall sein, weshalb die dann als konstant anzusehenden Vorfaktoren in das Proportionalitätszeichen gezogen werden können. Für die zeitabhängige Absorptionsänderung erhält man somit:

$$\Delta OD(\delta) = -\log \frac{\int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t') I_n^a(t'+\delta) dt'}{I_n^s}. \quad (67)$$

Die auftretenden Intensitäten sind mit  $I_{IR}$ , der Infrarotintensität vor der Probe, der statischen Absorption  $OD_{stat}$ , der Besetzungszahl  $N_X$  eines Zustandes  $X$  und der Bandenform  $L(\nu-\nu_X)$  über

$$I_n^a(t) = I_{IR} 10^{-OD_{stat} + \sum_X \varepsilon_X N_X(t) L(\nu-\nu_X)} \quad (68)$$

$$I_n^s = I_{IR} 10^{-OD_{stat}}$$

verknüpft. Eingesetzt in die vorhergehende Gleichung erhält man schließlich:

<sup>96</sup> Lian T. et al, J. Phys. Chem. **99** (1995), 7272

$$\Delta OD(\nu, \delta) = -\log \left( \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t') \exp \left( -\ln 10 \sum_X \epsilon_X N_X(\delta-t') L_X(\nu-\nu_X) \right) dt' \right) \quad (69)$$

Für die beteiligten Banden  $X$  gibt es keine Hinweise, daß sie inhomogen verbreitert sein könnten. Deshalb wird eine homogene Form  $L_X$  angenommen. Mathematisch wird dieser Sachverhalt durch eine Lorentzlinie

$$L_X(\nu-\nu_X) \equiv \frac{(\Delta \nu_X/2)^2}{(\nu-\nu_X)^2 + (\Delta \nu_X/2)^2} \quad (70)$$

mit der vollen Breite bei halber Höhe  $\Delta \nu_X$  und der Bandenposition  $\nu_X$  ausgedrückt. Die noch fehlenden zeitabhängigen Besetzungszahlen  $N_X$  erhält man aus einem geeignet angesetzten Ratenmodell. Sei  $A$  der Grundzustand und  $B$  der angeregte Zustand in einem solchen Modell, dann wird der gaußförmige Anregungspuls mit einer Pulsbreite  $\sigma_{PP}$  unter Vernachlässigung von Rückrelaxationen auf folgende Weise berücksichtigt:<sup>97</sup>

$$\frac{dN_A}{dt} = \frac{\sigma_{AB}}{h\nu} I_{PP}(t) N_A, \quad I_{PP}(t) \equiv I_0 \exp \left[ 4 \ln 2 (t/\sigma_{PP})^2 \right] \quad (71)$$

Der auftretende Wirkungsquerschnitt  $\sigma_{AB}$  für den Übergang  $A \rightarrow B$  ist mit dem experimentell leicht zu bestimmenden Extinktionskoeffizient  $\epsilon_{AB}$  durch:

$$\sigma_{AB} = 3.82 \cdot 10^{-21} \epsilon_{AB} \text{ mol cm}^3 \text{ l}^{-1} \quad (72)$$

verbunden.<sup>98</sup>

Unter der Annahme kleiner Absorptionsänderungen und einem deltaförmigen "gate"-Puls läßt sich aus Gleichung (69) die integrierte Absorptionsänderung  $\Delta OD(\delta)$

$$\Delta OD(\delta) = \int_0^{\infty} \Delta OD(\nu, \delta) d\nu \sim \sum_X N_X(\delta) \cdot \epsilon_X \quad (73)$$

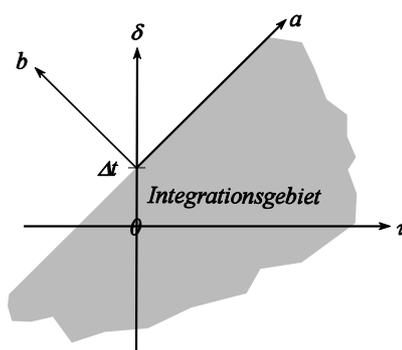
ableiten. Berücksichtigt man zusätzlich die Erhaltung der Besetzungswahrscheinlichkeit  $\sum N_X(\delta) = const$ , dann ist in Sonderfällen eine direkte Aussage über die beteiligten Oszillatorstärken, die proportional zu  $\epsilon_X$  sind, möglich.

### 2.3.5 Die Simulationsfunktion für Silicium

Silicium wird als Probe verwendet, um den apparativen Zeitnullpunkt und die effektive Pulsbreite des "gate"-Pulses zu bestimmen. Um die gewünschte Simulationsfunktion abzuleiten, wird von Gleichung (67) ausgegangen. Nachdem die Probeantwort  $K(t)$  analytisch angegeben werden kann ist eine weitere Vereinfachung der Gleichungen im vorhergehenden Unterkapitel möglich. Die auftretenden Intensitäten sind mit  $I_{IR}$ , der Infrarotintensität vor der Probe, der statischen Absorption  $OD_{stat}$  und einer vorerst beliebigen zeitabhängigen Antwort  $K$  durch

<sup>97</sup> Demtröder W., *Laserspektroskopie*, Springer 1991 2. Aufl., 24 ff; Kneubühl F.K., Sigrist M.W., *Laser*, Teubner 1991, 3. Aufl., 21 ff

<sup>98</sup> Hoppe W. et al, *Biophysik*, Springer 1982, 2.Aufl., 107



**Abbildung 20:** Integrationsgebiet und Variablentransformation

$$\begin{aligned} I_n^a(t) &= I_{IR} \exp \left( C \ln 10 \int_{-\infty}^{\infty} I_{PP}(\tau) \Theta(t-\tau) K(t-\tau) d\tau - OD_{stat} \right) \\ I_n^s &= I_{IR} \exp (-\ln 10 OD_{stat}) \end{aligned} \quad (74)$$

verbunden. Die Stufenfunktion  $\Theta$  sorgt für die notwendige Kausalität. Eingesetzt in Gleichung (67) gilt:

$$\Delta OD(\delta) = -\log \left( \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t') \exp \left( -C \int_{-\infty}^{\delta+t'-t_0} I_{PP}(\tau) K(\delta+t'-\tau) d\tau \right) dt' \right), \quad (75)$$

wenn die Basis  $10$  auf die Basis  $e$  umgeschrieben und ein weiterer Parameter  $t_0$ , mit dem sich später der Nullpunkt anpassen läßt, eingeführt wird. Nachdem die zu erwartenden Absorptionsänderungen klein sein werden, kann die Exponentialfunktion entwickelt werden. Unter der Voraussetzung eines normierten "gate"-Pulses und mit  $\Delta t \equiv \delta + t_0$  folgt:

$$\Delta OD(\delta) = -\log \left( 1 - C \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}(t') \int_{-\infty}^{t'+\Delta t} I_{PP}(\tau) K(\Delta t+t'-\tau) d\tau dt' \right). \quad (76)$$

Ziel der folgenden Variablentransformation<sup>99</sup> (Abbildung 20)

$$\begin{aligned} a &\equiv \tau + t' & t' &= \frac{a-b}{2}, & \tau &= \frac{a+b}{2}, & d\tau dt' &= \frac{1}{2} db da \end{aligned} \quad (77)$$

ist die Eliminierung von  $t'$  in der Integrationsgrenze. Aus  $b = \Delta t = const$  folgt die Achsenzuordnung und die Integrale können vertauscht werden:

$$\Delta OD(\tau) = -\log \left( 1 - C \int_{-\infty}^{\Delta t} \int_{-\infty}^{\infty} I_{gate}\left(\frac{a-b}{2}\right) I_{PP}\left(\frac{a+b}{2}\right) da K(\Delta t-b) db \right) \quad (78)$$

Das Integral über  $da$  stellt die Kreuzkorrelation dar. Liegt bei den beteiligten Pulsen keine reine Pulsform vor, dann kann dieses Integral durch eine experimentelle Kreuzkorrelation ersetzt werden, um so die Qualität der Simulation zu verbessern. Zur weiteren Vereinfachung werden

<sup>99</sup> Dietrich P., persönliche Mitteilung

Anregungs- und "gate"-Puls gaußförmig mit einer Halbwertsbreite  $\sigma$  angesetzt:

$$I(t) = 2\sqrt{\frac{\ln 2}{\pi}} \frac{1}{\sigma} \exp\left[4\ln 2 \left(\frac{t}{\sigma}\right)^2\right], \quad \int_{-\infty}^{\infty} I(t) dt = 1. \quad (79)$$

Die Integration bezüglich  $a$  kann ausgeführt werden und man erhält folgendes wichtige Zwischenergebnis:

$$\Delta OD(\delta) \approx -\log \left( 1 - C \int_{-\infty}^{\Delta t} \exp\left[4\ln 2 \frac{b^2}{(\sigma_{gate}^2 + \sigma_P^2)}\right] K(\Delta t - b) db \right). \quad (80)$$

Es muß nur noch die Kinetik  $K(t)$  festgelegt werden, um die gewünschte Simulationsfunktion<sup>100</sup> zu erhalten. Im Fall von Silicium<sup>101</sup> wird nach optischer Anregung ein Elektronen-Loch-Plasma erzeugt. Dieser elektronische Prozeß erfolgt instantan auf der Subpikosekunden-Zeitskala, weswegen  $K(t) = 1$  gewählt werden darf. Das entstehende Integral läßt sich durch die Fehlerfunktion

$$\operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-z^2} dz, \quad \frac{d}{dx} \operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{-x^2} \quad (81)$$

weiter vereinfachen:

$$\Delta OD(\delta) \approx -\log \left( 1 - C \left[ 1 + \operatorname{erf} \left( 2\sqrt{\ln 2} \frac{\Delta t}{\sqrt{\sigma_{gate}^2 + \sigma_P^2}} \right) \right] \right). \quad (82)$$

Wird der Logarithmus bis zur ersten Ordnung entwickelt, dann erhält man schließlich das gesuchte Endresultat:

$$\begin{aligned} \Delta OD(\delta) &\approx C \left[ 1 + \operatorname{erf} \left( 2\sqrt{\ln 2} \frac{\delta - t_0}{\sqrt{\sigma_{gate}^2 + \sigma_P^2}} \right) \right] \\ \frac{d}{d\delta} \Delta OD(\delta) &= C' \exp \left[ -4 \ln 2 \frac{(\delta - t_0)^2}{\sigma_{gate}^2 + \sigma_P^2} \right]. \end{aligned} \quad (83)$$

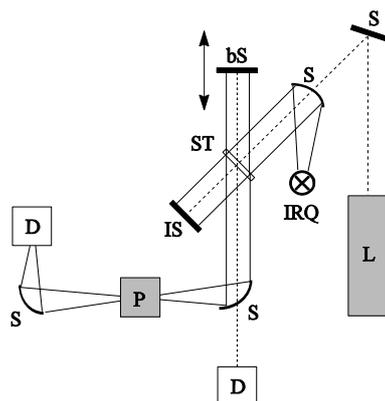
Die Ableitung entspricht einer gaußschen Funktion mit einer Halbwertsbreite, die sich in einfacher Weise aus den gesuchten Größen  $t_0$  und  $\sigma_{gate}$  zusammensetzt.

<sup>100</sup> Als weiteres Beispiel sei hier die Anpassung durch mehrere Exponentialfunktionen genannt. Zu diesem Zwecke wird  $K(t)$  durch

$$K(t) = \sum_r a_r e^{-t/T_r}$$

definiert.  $a_r$  beschreibt die Amplitude und  $T_r$  die dazugehörige Zeitkonstante des Zerfalls. Es muß allerdings ausdrücklich betont werden, daß es sich bei dieser Funktion  $K(t)$  nur um eine interpolierende und damit unphysikalische, modellunabhängige aber charakterisierende Simulationsfunktion handelt.

<sup>101</sup> Hamm P. et al, Opt. Lett. **18** (1993), 1943; Shank C.V. et al, Phys. Rev. Lett. **50** (1983), 454; Von der Linde D. et al, Appl. Phys. Lett. **41** (1982), 991



**Abbildung 21:** Einfacher Aufbau eines FTIR-Spektrometers. *L*: HeNe-Laser; *S*, *IS*: Spiegel; *bS*: beweglicher Spiegel; *ST*: Strahlteiler; *IRQ*: Infrarotlichtquelle; *D*: Detektoren; *P*: Probe. *IS*, *bS* und der Strahlteiler *ST* bilden ein Michelson-Interferometer. Die Position des Spiegels wird interferometrisch mit Hilfe des Lasers *L* bestimmt. Nach Griffiths P.R. et al, *Fourier Transform infrared spectrometry*, Chem. Anal. 83, John Wiley & Sons 1986, 168 ff

## 2.4 Weitere Methoden zeitaufgelöster Schwingungsspektroskopie

### 2.4.1 Die Fourier Infrarotspektroskopie (FTIR)

Ein einfacher Aufbau eines FTIR-Spektrometers ist in Abbildung 21 gezeigt.<sup>102</sup> Die wesentlichen Bestandteile sind eine spektral breite Strahlungsquelle *IRQ*, ein Michelsoninterferometer mit beweglichem Spiegel, eine Probe *P* und ein Infrarotdetektor *D*.

Um das Funktionsprinzip zu verdeutlichen, emittiere die Strahlungsquelle monochromatisches Licht bei einer Wellenzahl  $\tilde{\nu}$  mit einer Intensität  $I_0$ . Die Intensität  $I(\delta)$

$$I(\delta) = \frac{I_0}{2} (1 + \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta)) \quad (84)$$

hinter dem Interferometer setzt sich dann aus zwei, durch den teildurchlässigen Spiegel erzeugte Wellen mit einem optischen Wegunterschied  $\delta$  zusammen. Transformiert man  $I(\delta) \rightarrow I(t)$  mit Hilfe von  $\delta = 2\nu t$  und berücksichtigt man nur den variablen Anteil, dann ergibt sich folgender Ausdruck:

$$I(t) = I_0 \cos(2\pi\tilde{\nu}2\nu t), \quad (85)$$

der auch Interferogramm genannt wird und das experimentelle Ergebnis eines FTIR-Experimentes darstellt. Vergleicht man diesen Ausdruck mit einer Kosinusschwingung  $A(t) = A_0 \cos(2\pi f t)$  mit der Frequenz  $f$ , dann erhält man die von der Spiegelgeschwindigkeit  $\nu$  abhängige Modulationsfrequenz  $f$ :

$$f(\tilde{\nu}) = 2\nu\tilde{\nu}, \quad (86)$$

<sup>102</sup> Griffiths P.R. et al, *Fourier transform infrared spectroscopy*, Chem. Anal. 83, John Wiley & Sons 1986, 168 ff; Braiman M.S. et al, *Ann. Rev. Biophys. Chem.* **17** (1988), 541

mit der die monochromatische Lichtquelle im Interferogramm erscheint, wenn die Probe bei dieser Wellenzahl nicht absorbiert.

Im allgemeinen Fall ist also das Interferogramm  $I(t)$  gegeben und das Absorptionsspektrum  $I(\tilde{\nu})$  der Probe gesucht. Beide Größen sind durch Fouriertransformation wie folgt verknüpft:

$$I(\tilde{\nu}) = 4\nu \int_0^{\infty} I(t) \cos(4\pi\tilde{\nu}t) dt. \quad (87)$$

In der Realität erstreckt sich der Integrationsbereich auf Grund eines endlichen Spiegelhubes nur bis  $t_{max}$ . Zusätzlich ist das Differential  $dt$  durch eine endliche Schrittweite  $\Delta t$  zu ersetzen. Durch beide Einschränkungen werden der spektrale Bereich und die spektrale Auflösung begrenzt.

FTIR-Spektrometer haben gegenüber herkömmlichen Gitterspektrometern zwei entscheidende Vorteile<sup>103</sup>, die bei gleicher Meßzeit zu einem besseren Signal/Rausch-Verhältnis führen.

Der Fellgett-(oder auch Multiplex) Vorteil besagt, daß in einer Zeiteinheit die Reaktion der Probe im gesamten zu messenden Spektralbereich aufgenommen werden kann. Beim Gitterspektrometer wird dagegen in einer Zeiteinheit nur die Reaktion auf einen kleinen Spektralbereich gemessen.

Um zu einem hohen Auflösungsvermögen zu gelangen, müssen im Fall des Gitterspektrometers der Eintritts- und Austrittsspalt möglichst klein gehalten und möglichst viele Linien des Gitters ausgeleuchtet werden. Beide Bedingungen führen zu einer großen f-Zahl<sup>104</sup> oder einem schmalen Anpassungswinkel und beschränken bei gegebener Lichtquelle die Beleuchtungsstärke. Beim FTIR-Spektrometer ist die Auflösung dagegen nicht mit einem Anpassungswinkel verknüpft. Dieser Vorteil ist nach Jacquinot benannt.

Um von der statischen zur zeitabhängigen FTIR-Spektroskopie<sup>105</sup> zu gelangen, was experimentell die Ermittlung zeitabhängiger Interferogramme bedeutet, kann man die mittlere Geschwindigkeit des Spiegels erhöhen (rapid-scan FTIR). Die Zeitauflösung ist dann durch die Zeit, die für einen Spiegelzyklus benötigt wird, gegeben und auf Grund der hohen Beschleunigung (mehrere g) am Umkehrpunkt auf 1 ms begrenzt.

Mit einer stroboskopischen Technik kann die  $\mu\text{s}$  - Zeitskala erschlossen werden. Die Idee besteht darin, das Interferogramm in  $N$  Untereinheiten  $E_1 \dots E_N$  zu unterteilen. Nach Aufnahme eines Interferogramms, wofür die Zeit  $T$  benötigt wird, erhält man  $N$  Teilinterferogramme zu verschiedenen Zeiten (z. B.  $E_1(0 \cdot T/N)$ ,  $E_2(1 \cdot T/N)$ ,  $E_3(2 \cdot T/N)$ , ...,  $E_N((N-1) \cdot T/N)$ ). Die fehlenden Zeitintervalle der Untereinheiten erhält man durch schrittweises Verzögern des Triggers, der den zeitabhängigen Prozeß zwischen zwei Interferogrammen startet. Das Interferogramm wird schrittweise aufgenommen. Die Pausen zwischen jedem Schritt werden so lange gestaltet, bis der komplette Verlauf eines gestarteten zeitabhängigen Prozeßes mit Hilfe eines Infrarotdetektors aufgenommen wird. Der sub- $\mu\text{s}$ , bzw. ns - Zeitbereich kann mit der step-scan Technik erreicht werden.<sup>106</sup>

<sup>103</sup> Bell R.J., *Introductory fourier transform spectroscopy*, Academic Press 1972, 1 ff

<sup>104</sup> f = Brennweite / Aperturdurchmesser; siehe auch Hecht E., *Optics*, Addison-Wiley 1974, 2. Aufl., 152

<sup>105</sup> Gerwert K., in Takahashi H., *Time resolved Vibrational Spectroscopy V*, Springer Proceedings in Physics **68**, Springer 1992, 61

<sup>106</sup> Uhmann W. et al, *Appl. Spec.* **45** (1991), 390; Noelker K. et al, in Takahashi, *Time resolved Vibrational spectroscopy V*, Springer Series in Physics **68**, 1992, 57

Resonanz-Raman-Streuung	Infrarotabsorption
2-Photonen-Prozeß	1-Photonenprozeß
Anfang- und Endzustand haben gleiche Parität	Anfangs- und Endzustand haben verschiedene Parität
Kopplung an Polarisierbarkeitstensor	Kopplung an Dipolmoment
Bei kleinen Molekülen mit definierter Symmetrie gilt, daß ramanaktive Übergänge nicht infrarotaktiv sind und umgekehrt. Beide Prozesse sind also komplementär zueinander.	
Bei großen Molekülen wie zum Beispiel Bakteriorhodopsin, die keine definierte Symmetrie besitzen, sind ramanaktive Übergänge auch infrarotaktiv. Die ermittelten Übergangsfrequenzen für die Schwingungsmoden sind in beiden Fällen gleich.	
Die Amplituden der Wirkungsquerschnitte für beide Prozesse sind verschieden, die Linienformen aber nicht.	

**Tabelle 3:** Vergleich von Resonanz-Raman-Streuung und Infrarotabsorption. Demtröder W., Laser-Spektroskopie, Springer-Verlag 1991, 2. Aufl., 327 ff; Boyd R.W., Nonlinear Optics, Academic Press 1992, 365 ff; Myers A.B., Vortragsmanuskript, ICORS 1996; Myers A.B., J. Raman Spec. **28** (1997), 389

### 2.4.2 Die Resonanz-Raman-Spektroskopie

Fällt<sup>107</sup> elektromagnetische Strahlung, insbesondere Laserstrahlung mit der Frequenz  $\nu_L$ , auf ein Molekül, dann findet man in dem gestreuten Licht Satellitenbanden mit den Frequenzen  $\nu_L \pm \nu_v$ . Dieses Phänomen heißt Ramanstreuung. Quantenmechanisch betrachtet handelt es sich um eine inelastische Streuung bei der das Molekül ein Schwingungsquant  $h\nu_v$  vom Lichtfeld aufnimmt oder an das Lichtfeld abgibt. Betrachtet man das gestreute Lichtquant, dann spricht man von einer Stokesverschiebung (Antistokesverschiebung), wenn das gestreute Lichtquant weniger (mehr) Energie besitzt als das Einfallende.

Bei Resonanz-Raman-Streuung ist das eingestrahlte Lichtfeld in Resonanz mit einem elektronischen Übergang, wodurch der Streuquerschnitt stark verstärkt wird. Im Fall von Bakteriorhodopsin nutzt man die Grundzustandsbande bei 570 nm aus. Die Energieverschiebung wird in diesem Fall durch die verschiedenen Normalmoden des Chromophors bedingt. Mit der Resonanz-Raman-Spektroskopie können also nur Chromophormoden untersucht werden, weil durch die elektronische Kopplung nur diese resonant verstärkt werden. Die Intensität der auftretenden Raman-Streuung am Protein ist im Vergleich dazu um Größenordnungen kleiner und bildet dadurch einen Beitrag zum Rauschen.

Ein zeitaufgelöstes Resonanz-Raman-Experiment kann als Doppel- oder Einstrahlexperiment ausgeführt werden. Im ersten Fall regt der erste Laserstrahl oder Laserpuls die Probe an und der zweite erzeugt die Ramanstreuung, die senkrecht zum Abfragestrahl (Abfragepuls) frequenz-aufgelöst detektiert wird. Im Einstrahlexperiment übernimmt ein Laserstrahl die Aufgabe des Anregens und Abfragens, wodurch das so ermittelte Spektrum Ramanbanden der photochemischen Produkte und Edukte enthält. Das gesuchte Produktspektrum erhält man durch Subtraktion eines bei sehr geringer Leistung aufgenommenen Eduktspektrums. Die Gefahr bei dieser Methode besteht darin, daß man durch den Subtraktionsprozeß experimentelle Artefakte erzeugen kann. Da

<sup>107</sup> Althaus T. et al, Isr. J. Chem. **35** (1995), 227

nicht alle Moleküle durch einen Anregungsstrahl angeregt werden können ist, auch im Zweistrahlverfahren die Differenzmethode anzuwenden. Die erzielbare Zeitauflösung liegt im Subpikosekunden-Bereich.<sup>108</sup>

---

<sup>108</sup> Van den Berg R. et al, *Biophys. J.* **58** (1990), 135

