

3 Der Experimentelle Aufbau und die Probenpräparation

Die ersten beiden Unterkapitel (3.1, 3.2) beschreiben im Detail den Aufbau des Subpikosekunden-Infrarotspektrometers. Wie die experimentellen Ergebnisse¹⁰⁹ und Abbildung 23 zeigen, lassen sich derzeit Absorptionsänderungen von 1 mOD bei einer Zeitauflösung von 0.6 ps detektieren. Der spektrale Abtastbereich wird vom Linienspektrum des CO-Lasers bestimmt und überdeckt derzeit den Bereich 1458 cm^{-1} - 1942 cm^{-1} . Das anschließende Unterkapitel (3.3) beschreibt die Datenerfassung und Verarbeitung. Basierend auf einer kompakten Erläuterung der Lock-in-Technik (3.3.1) wird gezeigt, wie man aus den Spannungswerten eines Lock-in-Verstärkers auf Absorptionsänderungen schließen kann. Es folgt eine Beschreibung des elektronischen Aufbaus und der rechnergesteuerten Datenerfassung (3.3.2). Die Weiterverarbeitung (3.3.3) der so ermittelten Meßwerte erfolgt mit Hilfe zweier selbst geschriebener Anpassungsprogramme für einfache und globale Simulationen. Die notwendigen Korrekturen bezüglich des aus Siliciumkinetiken abgeleiteten Zeitnullpunktes und der Amplituden der Bakteriorhodopsinkinetiken werden hier ebenfalls beschrieben. Das experimentelle Kapitel wird durch ein Unterkapitel über eine Infrarot-Justierhilfe (3.4) ergänzt und durch ein weiteres Unterkapitel zur Probenpräparation und Probencharakterisierung (3.5) abgeschlossen. Sie erfolgte mit Hilfe statischer optischer Absorptions-, statischer Infrarot-Absorptions- und optischer Nanosekunden-Spektroskopie.

3.1 Der CO-Laser

Der CO-Laser bietet insbesondere im spektralen Bereich der Ethylenbande von Bakteriorhodopsin eine Vielzahl von Linien. Der Abstand beträgt durchschnittlich 4 cm^{-1} und ist damit klein genug, um Infrarotbanden mit einer typischen Breite von 20 cm^{-1} abzutasten. Dieser Laser ist also die Quelle des Probestrahles.

3.1.1 Der Aufbau

Der Aufbau gliedert sich in vier Einheiten, bestehend aus dem Plasmarohr, dem Resonator, dem Gasmischsystem und einer Hochspannungseinheit. Mit Hilfe des Gasmischsystems kann die richtige Gaszusammensetzung eingestellt werden. Diese Mischung tritt anschließend in das Plasmarohr ein und wird dort durch eine anliegende Hochspannung von 13 kV gezündet. Es entsteht eine spontane Emission, welche durch den Resonator transversal und longitudinal moden-selektiv verstärkt und ausgekoppelt wird. Plasmarohr und Resonator sind aus Sicherheitsgründen von einem schlagfesten Kasten aus Lexan umgeben.

Das Gasmischsystem und die Pumpeinheit

Die Gase He, N₂ und CO werden Gasdruckflaschen entnommen, O₂ dagegen aus der Luft. Wird CO aus Eisengasflaschen bezogen, dann enthalten diese auch Fe(CO)₅. Dieses Molekül hat eine große Elektronenaffinität und würde im Plasma die Elektronendichte und damit verbunden auch die Ausgangsleistung reduzieren. Aus diesem Grund wurde CO aus Aluminiumflaschen be-

¹⁰⁹ siehe hierzu das 4. Kapitel

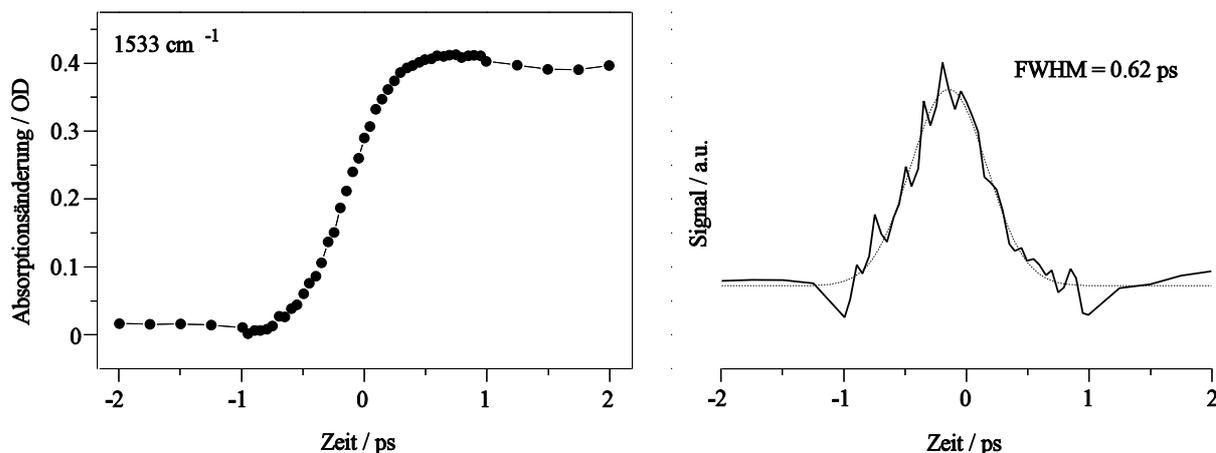


Abbildung 23: Zeitabhängige Absorptionsänderung (=Kinetik) von Silicium nach optischer Anregung bei 540 nm bei einer Wellenzahl von 1533 cm^{-1} (links). Die zugehörige Zeitableitung ist rechts dargestellt. Wie in Kapitel 2.3.5 beschrieben wurde, läßt sich aus der Ableitung direkt die Zeitauflösung des Gesamtsystems ableiten. Eine mit diesem Ziel durchgeführte Anpassung mit einer Gaußfunktion ergibt eine Halbwertsbreite und damit auch eine Zeitauflösung von $0.62 \pm 0.03 \text{ ps}$.

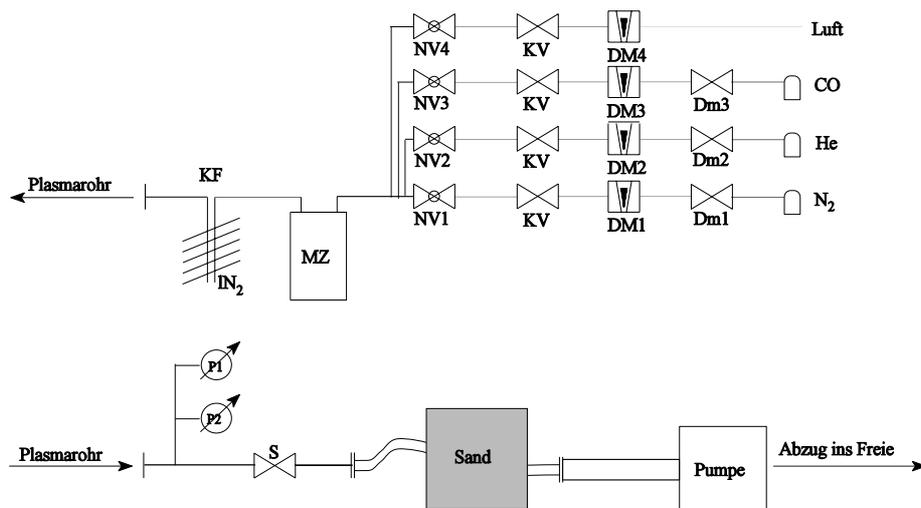


Abbildung 22: Gasmischsystem; *CO*: Kohlenmonoxid 4.7: Messer Griesheim; *He*: Helium 4.6, Linde, Air Liquide; *N₂*: Stickstoff 5.0, Linde, Air Liquide; *Dm1...Dm3*: Druckminderer für angegebene Gase; *DM*: Durchflußmeßgeräte Rota Yokogawa MI.03, *DM2*: 100-1300 l/h, *DM1*: 15-170 l/h, *DM3*: 4-46 l/h, *DM4*: 2-23 l/h; *KV*: Kugelventile; *NV1...NV4*: Nadelventile; *MZ*: Mischzelle; *KF*: Kühlfalle; *P1*: mechanisches Manometer von LH, 0-1000 mbar; *P2*: Manometer von Edwards, Active Pirani; *S*: Sicherheitsventil, KGW DN 50, 0.1 bar; *Pumpe*: Edwards RV8, Pumpleistung: $8 \text{ m}^3/\text{h}$, minimaler Enddruck: 10^{-3} mbar .

zogen.¹¹⁰ Die Gase stehen in den Flaschen unter einem Druck von bis zu 200 bar. Mit Hilfe von Druckminderventilen wurde der Druck auf 1 bar reduziert und in 6 mm Kupferrohren mit Durch-

¹¹⁰ Saupe S., Diplomarbeit Universität Bonn 1991, 31 ff

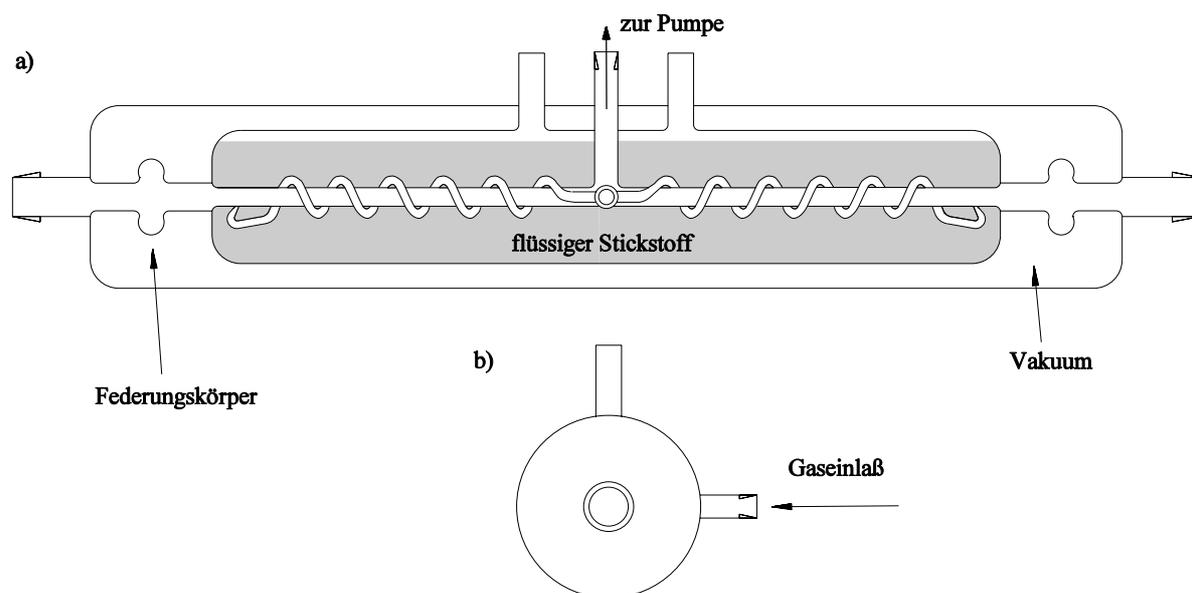


Abbildung 24: a) Querschnitt und b) Frontansicht der CO-Plasmaröhre aus Pyrex.

flußmeßgeräten verbunden¹¹¹. Anschließende Kugelventile und Feindosierventile erlauben die getrennte Regelung der Gasflüsse, die sich erst in einer Mischzelle vereinigen, bevor sie eine Kühlfalle passieren, um in das Plasmarohr zu gelangen. Die Mischzelle besteht aus einem Kupferzylinder (\varnothing 100 mm * 200 mm) und soll durch auftretende Verwirbellungen für eine zeitlich und räumlich homogene Zusammensetzung des Gasgemisches sorgen. Eine Kupferspirale eingetaucht in flüssigen Stickstoff bildet die Kühlfalle. Sie verhindert, daß Wasser und andere unerwünschte Bestandteile der Luft in das Plasmarohr gelangen. Der unerwünschte Begleitstoff $\text{Fe}(\text{CO})_5$ aus Eisengasflaschen würde auch in der Kühlfalle ausfrieren. Eine Drehschiebervakuumpumpe im große Abstand zum Lasersystem sorgt für den nötigen Unterdruck, der über zwei Manometer kontrolliert werden kann. Das Gesamtsystem kann mit ihrer Hilfe auf 10^{-2} mbar abgepumpt werden. Sie ist durch Gummifüsse vom Boden und durch Wellschläuche, die durch eine Sandkiste laufen, vom Laser mechanisch entkoppelt. Der große Abstand unterstützt diese Entkopplung und schwächt zusätzlich den diskontinuierlichen Pumpprozeß ab, der sonst zu einer Modulation des Plasmas und der Laserausgangsleistung führen würde. Letzteres wirkt sich nachteilig für die in dieser Arbeit verwendete phasenempfindliche Lock-in-Detektionsmethode aus. Der Abstand mindert nicht die Pumpleistung, wenn Röhre mit großem Innendurchmesser verwendet werden.

Das gesamte System reagiert innerhalb von 10 s auf Änderungen der Gasparameter. Eine Optimierung der Gaszusammensetzung verlangt deshalb Zeit und Geduld.

Das Plasmarohr

Das Plasmarohr (Abbildung 24) ist eine komplexe Glaskonstruktion, bestehend aus dem eigentlichen Plasmarohr, das von einem Dewar umgeben ist, und durch zwei Halter für BaF_2 -Endfenster (Abbildung 25) abgeschlossen wird. Sie sind zueinander V-förmig im Brewsterwinkel angeordnet, um einen Strahlversatz zu vermeiden und ungewollte Strahlauskoppelungen und damit verbundene Verluste zu minimieren. Bei der Konstruktion sind folgende Punkte zu beachten:

- Die Federungskörper sind ein wichtiger Bestandteil der Glaskonstruktion. Sie gleichen

¹¹¹ Soweit möglich wurden Quetschverschraubungen von Swagelock verwendet.

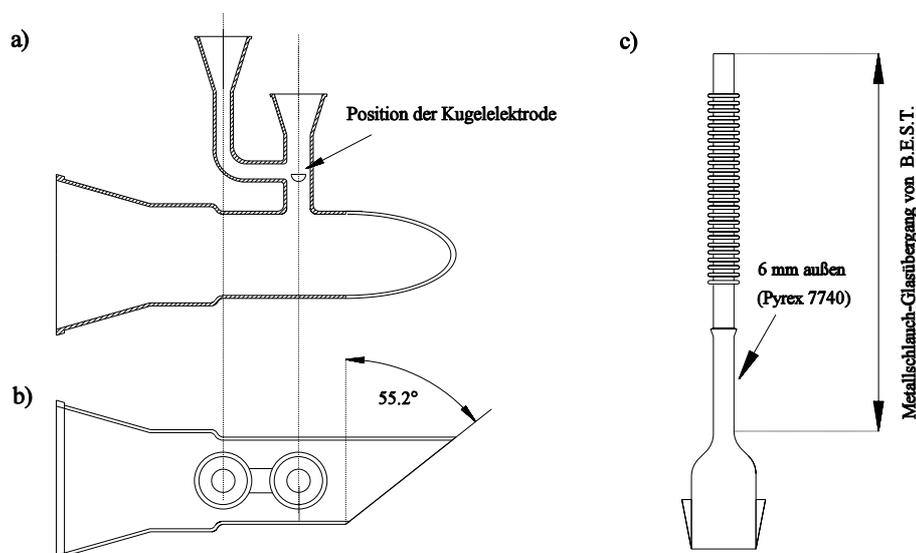


Abbildung 25: a) Schnittzeichnung und b) Aufsicht des Halters für die Endfenster. c) Der Normschliff-Metallrohr-Übergang verbindet das Kupferrohr des Gasmischsystems mit dem Plasmarohr.

Spannungen als Folge einer unterschiedlichen temperaturbedingten Ausdehnung der Plasmaröhre gegenüber dem Dewar aus. Damit sie diese elastische Eigenschaft haben, sollten die Wände so dünn wie möglich gehalten werden.

- Der Innendurchmesser des eigentlichen Plasmarohres beträgt 13 mm und ist ein Kompromiß aus Beugungsverlusten, Kühlleistung und Handhabbarkeit beim Herstellungsprozeß.¹¹² Bei diesem Herstellungsprozeß ist zu jedem Zeitpunkt darauf zu achten, daß das Plasmarohr keine Krümmung erhält. Eine Leistungssteigerung ist zu erzielen, wenn es verdreht ausgeführt wird¹¹³. Diese Form erhöht die Oberfläche und führt zu einer besseren Durchmischung der Gase.
- Die angesetzten Schliffe NS 29 K sollten möglichst koaxial zur Rohrsymmetrieachse verlaufen.
- Der zweite Einfüllstutzen ist wichtig, um den verdampfenden Stickstoff beim Befüllen entweichen zu lassen, ohne daß sich im Dewar ein zu großer Innendruck ausbilden kann.
- Die Mündung der Kühlschlange ist seitlich versetzt und unter einem Winkel von 45° an das Plasmarohr angesetzt. Auf diese Weise sollen Wirbel entstehen, welche die Kühlleistung erhöhen. Der Abstand der Mündung (hier 0.8 m) definiert die aktive Länge des Plasmarohres.

Die BaF_2 -Fenster (Dorotek, 2 oder 1.5 Zoll, Dicke 3mm, $\lambda/2$ bei 633nm) wurden mit Hilfe von Torr Seal (Varian) mit dem Halter verbunden. Dieser Kleber ist hochvakuumtauglich und kann durch Erhitzen in einem Ofen eines Glasblägers bei $560^\circ C$ rückstandslos entfernt werden. Letzteres ist deshalb wichtig, weil die Lebensdauer der Endfenster begrenzt ist (1-2 a). Zusätzlich nehmen die Halter zwei Elektroden (\varnothing 10 mm) aus Titan auf und bieten über einen Spüleingang die Möglichkeit, den laserinaktiven Teil der Laserröhre mit einem Gemisch aus kaltem He und N_2 zu

¹¹² Saupe S., Diplomarbeit Universität Bonn 1991, 21 ff

¹¹³ Büscher et al, Appl. Phys. **B 64**, (1997), 307

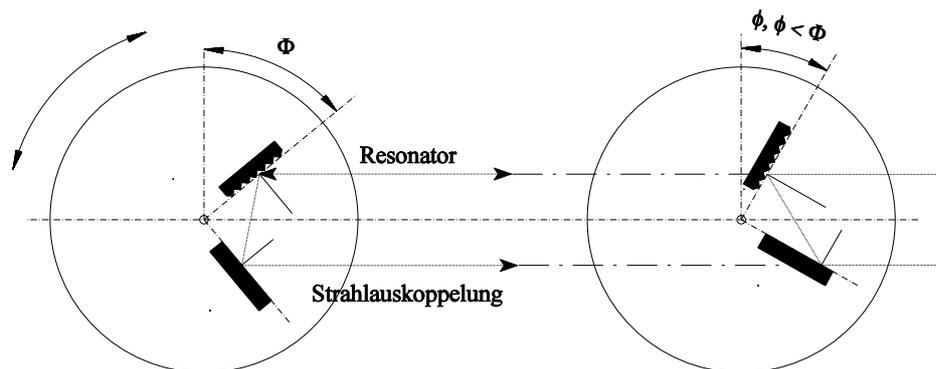


Abbildung 26: Position von Gitter und und Auskoppelspiegel für zwei verschiedene Winkeinstellungen des Rotationshalters. Die beiden Beispiele zeigen, daß bei der dargestellten Geometrie von Gitter und Auskoppelspiegel die Strahlage unabhängig von der Winkeinstellung ist.

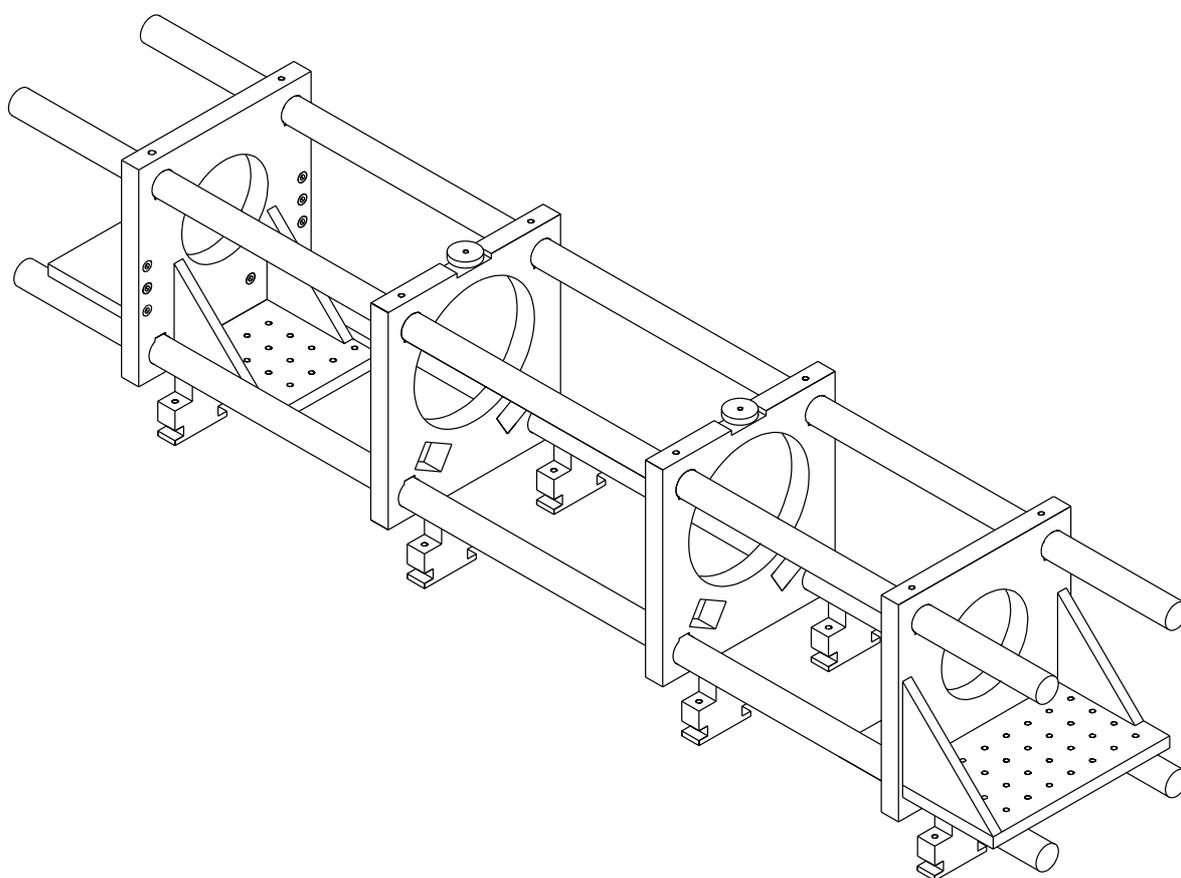


Abbildung 27: Das Resonatorgerüst. Weiteres im Text.

spülen, um so Selbstabsorptionsprozesse zu minimieren.

Der Resonator

Vier Invarstangen (Länge 1800 mm, Durchmesser 25 mm) bilden das Gerüst des Resonators (Abbildung 27). Die geringe Wärmeausdehnung ($1,7 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ im Bereich von $20^\circ\text{-}100^\circ\text{C}$) und hohe Eigenfrequenzen von Invar bedingen eine passive Stabilisierung. Dieser Rahmen nimmt justierbare Halterungen für das Plasmrohr und kleine optische Tische für Modenblenden, Silberspiegel und

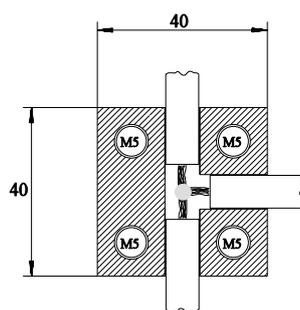


Abbildung 28: Hochspannungsfeste Verzweigung. Die Enden eines hochspannungsfesten Kabels münden wie in der Abbildung dargestellt in einem Teflonquader. Die gebohrten Löcher sind so eng bemessen, daß das Gegenstück die gelötete Verbindung luftdicht verschließen kann.

das Gitter, montiert auf einem Rotationshalter, auf.

Der Silberspiegel (Silicium-Substrat, $\lambda/20$ bei $10.6 \mu\text{m}$, $R = 2 \text{ m}$) und das Gitter (Carl Zeiss, Herr Dr. Nilles, $24 \times 18 \text{ mm}^2$, 205 l/mm , $R \approx 98 \%$, Original in Gold) stehen im Abstand von 186 cm zueinander und legen damit den transversalen Modenabstand von 81 MHz fest. Das Gitter reflektiert in Littrow-Anordnung mit hoher Effizienz die erste Ordnung zurück in den stabilen Resonator und koppelt die nullte Ordnung aus. Der Linienabstand reicht aus, um einen Einlinienbetrieb zu gewährleisten. Zur Justage werden vier Freiheitsgrade benötigt. Auszurichten sind die Gitterlinien, die Neigung des Gitters und die Position in zwei Dimensionen senkrecht zur Drehachse des Rotationshalters (PI M-036.00). Die letzten zwei Freiheitsgrade ermöglichen ein Zusammenfallen der Drehachse mit der Verlängerung der Gitteroberfläche. Liegt diese Achse auch in der Verlängerung der Oberfläche des ersten Auskoppelspiegels, der auch auf dem Rotationshalter montiert ist, und schließen beide Flächen einen Winkel von 90° ein, dann ist die Position des ausgekoppelten Laserstrahles unabhängig von der Winkeleinstellung des Rotationshalters (Abbildung 26). Um diese Bedingung erfüllen und einstellen zu können, werden vier Freiheitsgrade für den Spiegel benötigt. Zwei richten die Spiegeloberfläche senkrecht zur Drehachse aus und zwei weitere legen die Schnittlinie mit der Drehachse fest.

Die Hochspannungseinheit

Das Herzstück der Hochspannungseinheit ist ein Heinzinger Netzgerät (PNC 20000-30, 20 kV , 30 mA). Die Masse ist mit der mittleren zylinderförmig geformten Elektrode und der Plus-Pol mit beiden äußeren, kugelförmig gestalteten Elektroden des Plasmarohres verbunden. Auf diese Weise läßt sich die Plasmalänge bei vorgegebener Spannung verdoppeln. Die dazu nötige Hochspannungsverzweigung befindet sich in einer luftgekühlten (Leistungslüfter Conrad Electronic, 53810833) Widerstandsschachtel aus Aluminium¹¹⁴, die auch zwei Tefloneinschübe mit glasierten und hochspannungsfesten Drahtwiderständen (Schuricht, 80 W) aufnimmt. Die Einschübe haben einen Gesamtwiderstand von je $669.5 \text{ k}\Omega$ und $675.3 \text{ k}\Omega$. Sie sind unverzichtbarer Bestandteil, um eine stabile Plasmaentladung für beide Plasmaäste, unter Berücksichtigung der negativ differenti-

¹¹⁴ Hochspannungsfest bis 20 kV (getestet). Wichtige Durchbruchfeldstärken: Luft 3.2 kV/mm (1 atm); PTFE 25 kV/mm ; Pyrex: $> 10 \text{ kV/mm}$, aus Ardenne von M., *Tabellen zur angewandten Physik*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften (1973), Bd. III, 413 ff; Kind D. et al, *Hochspannungs-Isoliertechnik*, Vieweg 1982, 179 ff

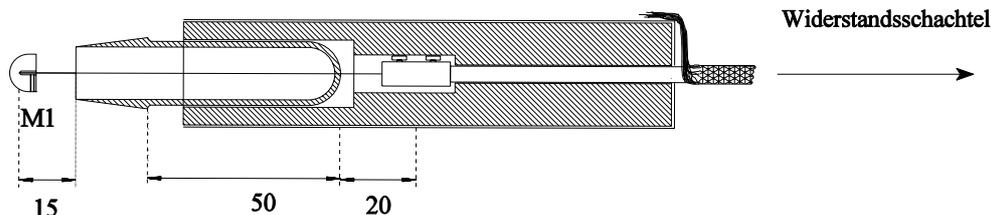
Halbkugel aus Titan, \varnothing 10 mm

Abbildung 29: Hochspannungsfeste elektrische Vakuumdurchführung. Links befindet sich die eigentliche Elektrode, die mit Hilfe einer Madenschraube mit einem Wolframdraht (Goodfellow, \varnothing 1 mm) leitend verbunden ist. Der Wolframdraht ist in einem Glaskörper eingeschmolzen. Das Ende ist mit einer Lüsterklemme elektrisch leitend mit dem spannungsführenden Teil eines hochspannungsfesten Kabels verbunden. Die Verbindungen werden aus Sicherheitsgründen von einem paßgenauen Teflonkörper (\varnothing 25 mm) umhüllt, der sich seinerseits in einem Metallmantel befindet. Dieser Mantel ist wiederum mit Hilfe einer Schlauchschelle mit der Erde des Hochspannungskabels (Wunderlich Elektronik, 30 kV) verbunden. Um auf der rechten Seite ein Eindringen von Schmutz zu verhindern und die Hochspannungsfestigkeit gegenüber Luft zu erhöhen, wurde die Öffnung des Teflonkörpers zusätzlich mit einem Teroson-Dichtband abgeschlossen. Der Aufbau gewährleistet, daß ein Finger eines unachtsamen Benutzers nur geerdete Teile berühren kann.

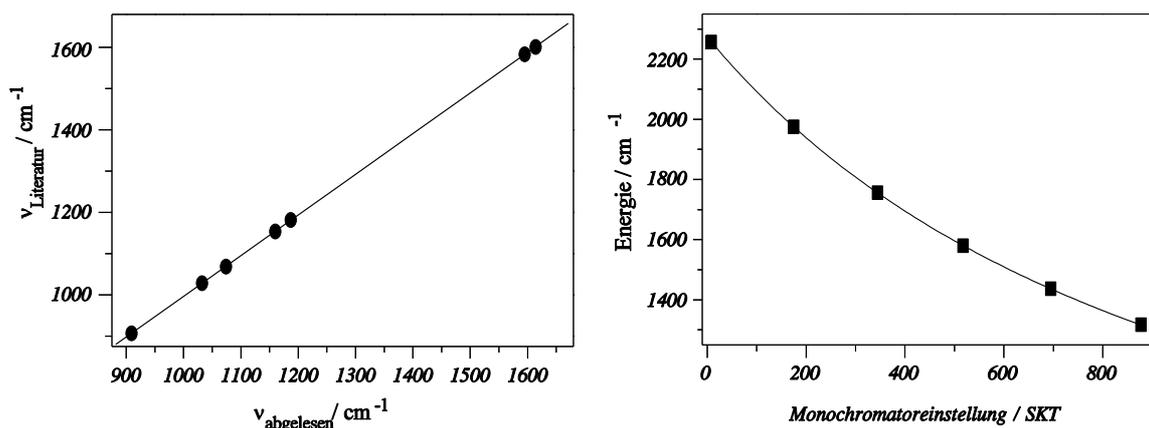


Abbildung 30: Eichkurven für das Infrarotspektrometer YASCO A-100 (links) und den Monochromator ISA M25 (rechts). Setzt man für die linke Eichkurve einen linearen Zusammenhang $Y = A \cdot x + B$ an, dann gilt: $B = (10.84 \pm 0.63) \text{ cm}^{-1}$; $A = 0.98566 \pm 0.0051$; $Y(1541 \text{ cm}^{-1}) = 1530 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$. Für die rechte Eichkurve gilt ein nichtlinearer Zusammenhang. Setzt man $Y = 10^4 / (A x^2 + B x + C)$ an, dann gilt: $A = (-2.2806 \cdot 10^{-7} \pm 9.05 \cdot 10^{-9}) \text{ cm}$; $B = (0.00385 \pm 6.987 \cdot 10^{-6}) \text{ cm}$; $C = (4.39746 \pm 0.00093) \text{ cm}$; $Y(575) = 1530 \pm 1.2 \text{ cm}^{-1}$. Das Gitter wurde so justiert, daß der Monochromator einen möglichst großen Spektralbereich transmittiert. Die Näherung $\sin(\phi) \approx \phi$ ist dann nicht mehr zulässig, weshalb in der Anpassung ein nichtlinearer Term benötigt wird.

len Entladungscharakteristik,¹¹⁵ zu gewährleisten. Hat ein Plasmaast gezündet, dann sinkt der Gesamtwiderstand und bei konstantem Gesamtstrom auch die Gesamtspannung soweit ab, daß eine Zündung des zweiten Astes nicht erfolgen kann. Der vom Netzgerät maximal zur Verfügung gestellte Strom reicht nicht aus, um diesen Spannungsabfall auszugleichen. Die Vorwiderstände verhindern dagegen den Spannungsabfall.

¹¹⁵ Francis G., "The glow discharge at low pressure", in Flüge S., *Gasentladungen II*, Handbuch der Physik **XXII**, Springer 1956, 53 ff

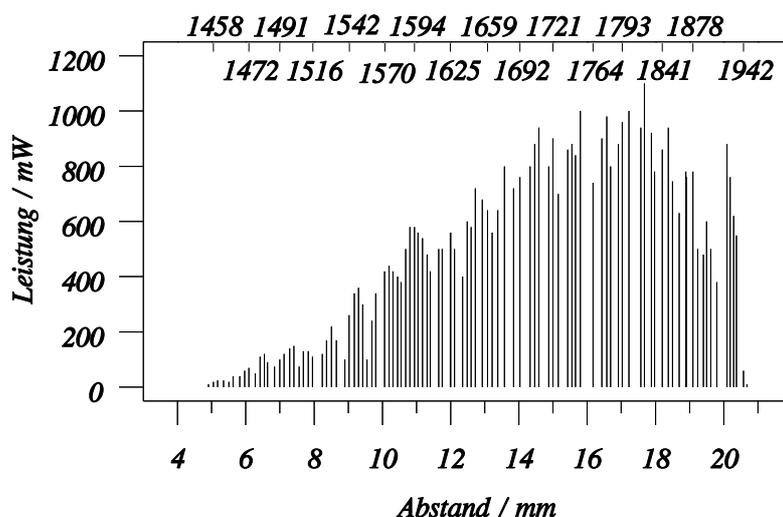


Abbildung 31: Die derzeitig erzielbare Linienvielfalt des CO-Lasers. Aufgetragen ist die Ausgangsleistung gegen die Winkeleinstellung des Gitters in Millimeter. Einige Linien wurden mit Hilfe des Infrarotspektrometers YASCO A-100 mit einer Genauigkeit von $\pm 2.3 \text{ cm}^{-1}$ zugeordnet. Die entsprechenden Wellenzahlen wurden am oberen Rand der Grafik vermerkt.

3.1.2 Die Eigenschaften des CO-Lasers

Polarisation, longitudinale (=Wellenlänge) und transversale Mode (=Strahlprofil) der Laserstrahlung sind für diese Arbeit von Interesse. Eine feste Polarisation ist für den Anregungsprozeß und die Summenfrequenzbildung im AgGaS_2 Kristall wichtig. Als transversale Mode ist aus Fokussierbarkeitsgründen eine Gaußmode erwünscht.

Die Polarisation ist auf Grund der Brewster-Endfenster der Plasmaröhre linear und parallel zum Lasertisch (Newport) ausgerichtet.

Die transversale Mode wird durch zwei Modenblenden im Resonator festgelegt. Die erwünschte Gaußmode wird durch Schließen der Blenden eingestellt. Als Indikator dient dabei die Transmission des fokussierten Laserstrahles durch ein Lochblende ($100 \mu\text{m}$), die stark modenabhängig ist.

Die erzielte Linienvielfalt ist in Abbildung 31 zu sehen. Zugeordnet wurden sie mit Hilfe eines Infrarotspektrometers (Yasco A-100) und eines Monochromators (ISA, M25, Gitter 150 l/mm , $\lambda_B = 4 \mu\text{m}$). Im zweiten Fall diente eine Stickstoff gekühlte HgCdTe -Diode (Laser Components) als Detektor. Das Spektrometer wurde mit einem Polystyrenfilm geeicht, der Monochromator mit Hilfe höherer Beugungsordnungen eines He-Ne-Lasers.

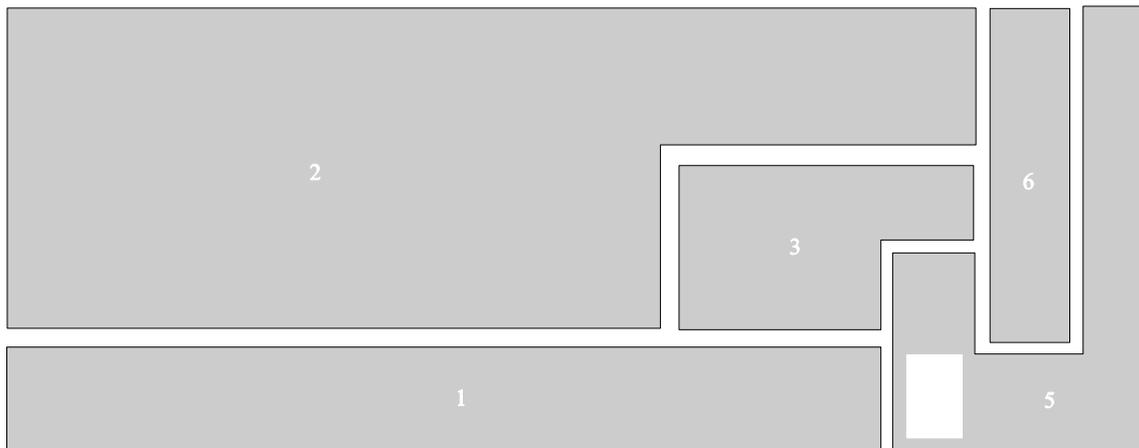


Abbildung 32: Schematische Übersichtszzeichnung des optischen Gesamtaufbaus. 1: Infraroteinheit; 2: Femtosekunden-Lasereinheit; 3: Pumplichterzeugung und Verzögerungsstrecke; 4: Probenhalter; 5: Detektionseinheit; 6: Strahlanalyse.

3.2 Der optische Gesamtaufbau

Der optische Aufbau ist in Abbildung 32 schematisch gezeigt. Er besteht aus sechs Einheiten:

- Infraroteinheit (1)
- Femtosekunden-Lasereinheit (2)
- Pumplichterzeugung und Verzögerungsstrecke (3)
- Probenhalter (4)
- Detektionseinheit (5)
- Strahlanalyse (6)

Die "Infraroteinheit" (3.2.1) besteht aus dem CO-Laser sowie optischen- und elektrooptischen Bauelementen, die für eine Erzeugung und Fokussierung eines quasi-kontinuierlichen Probestrahles notwendig sind. Die "Femtosekunden-Lasereinheit" (3.2.2) fungiert als Quelle von Femtosekundenpulsen im nahen Infrarotbereich. Die Pulse werden in der dritten Einheit "Pumplichterzeugung und Verzögerungsstrecke" (3.3.3) in zwei Teile aufgespalten. Der erste Teil wird zur Erzeugung des Pumpulses mit Hilfe einer Weißlichtzelle benötigt, der zweite Teil kann gegenüber dem ersten zeitlich verzögert werden und dient als "gate"-Puls. Beide Pulse bedingen die Zeitauflösung und sind für die gemessene Zeitabhängigkeit verantwortlich. Die Probe befindet sich in einem "Probenhalter" (3.3.4), der sich wiederum in einer Rotations-Hubeinheit befindet. Diese Einheit sorgt dafür, daß für jeden Puls relaxiertes Probenmaterial zur Verfügung steht. Der "gate"-Prozeß und die Signaldetektion finden in der "Detektionseinheit" (3.3.5) statt. Zur "Strahlanalyse" (3.3.6) stehen routinemäßig ein Autokorrelator, ein Kreuzkorrelator und ein Leistungsmeßgerät zur Verfügung.

3.2.1 Die Infraroteinheit

Für Details über das Herzstück der Infraroteinheit, dem CO-Laser wird auf die Kapitel 2.2 und 3.1

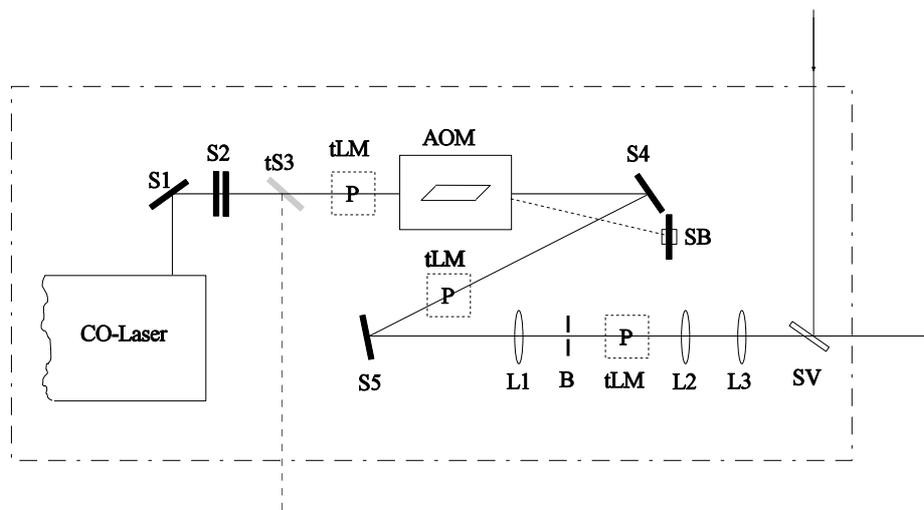


Abbildung 33: Aufbau der Infrarot-Einheit. *S1, S4, S5*: Ag-Spiegel; *S2*: Vertikaler Strahlversatz mit Hilfe zweier Ag-Spiegel; *tS3*: temporärer Silberspiegel; *tLM*: temporäre Position zur Leistungsmessung; *AOM*: Akusto-Optischer-Modulator (Intra Action AGM-406 B20, A/R Coating 3-8 μ m, Transmissin: 0.7 bei 6.5 μ m) auf Rotationshalter; *SB*: Strahlblocker; *B*: Irisblende; *L1*: CaF₂-Linse, 50 mm, \varnothing 1.5"; *L2*: CaF₂-Linse, 200 mm, \varnothing 1.5"; *L3*: CaF₂-Linse, 100 mm, \varnothing 1.5"; *SV*: Dichroitischer Spiegel (Strahlvereiniger), HR 540nm, HT 5-8 μ m (> 75 %), Substrat CaF₂

verwiesen. Die Spiegel *S1, S2, S4* und *S5* führen den Infrarotstrahl zur Linse *L3*, die ihn auf die Probe fokussiert. Damit die Strahltaile kleiner als die Strahltaile des Anregungspulses wird, muß der Infrarotstrahl aufgeweitet werden. Dazu dienen die Linsen *L1* und *L2*, die ein 1:4 Teleskop bilden. Der Akusto-Optische-Modulator formt aus dem kontinuierlichen Strahl eine Pulssequenz, mit einer Repetitionsrate von 1.04 kHz und einer Pulsbreite von 1.5 μ s. Diese Breite ist auf der Zeitskala des Experimentes (20 ps) lange und deshalb als "quasi kontinuierlich" anzusehen, aber kurz genug, um außerhalb des zeitlichen Beobachtungsfensters ein unnötiges Aufheizen der Probe zu verhindern. Die im Fokus der Linse *L1* stehende Blende *B* dient als Raumfilter und reduziert in dieser Funktion störendes Streulicht.

3.2.2 Die Femtosekunden-Lasereinheit

Diese Einheit besteht im wesentlichen aus einem geringfügig modifizierten Femtosekunden-Laser,¹¹⁶ CPA-1 der Firma Clark-MXR. Ein Ar⁺-Laser (Coherent, Innova-310, all line, cw, 8 W) dessen horizontale Polarisation im Strahlumlenkturm *UP* über Spiegel um 90° gedreht wird, liefert die nötige Antriebsleistung von 4.2 W für den Ti:Sa-Oszillator¹¹⁷ (Clark-MXR, NJA-4, 750-870 nm). Nach dem Prinzip des passiven "Kerr Lens Mode Locking"¹¹⁸ erzeugt dieser einen Femtosekundenpulszug (100 Mhz) mit einer Pulsbreite von <100 fs, bei einer mittleren Leistung von typischerweise 400 mW. Der Strahl tritt dann in den Isolator (Clark-MXR IS-1) ein. Man könnte diese Einheit auch als optische Weiche bezeichnen. Ihre Aufgabe besteht darin, den Pulszug an die verschiedenen Komponenten (Pulsstrecke, Kompressor, Verstärker) weiterzuleiten und von

¹¹⁶ Eine Sammlung wichtiger Arbeiten zum Thema "Ultrafast optics and electronics" ist in Heritage J.P. et al, IEEE J. Quantum. Electron. QE. **28** (1992), 2084 und der darin zitierten weiteren vier "Special Issue"-Ausgaben dieser Zeitschrift zu finden.

¹¹⁷ Spence D.E. et al, Optics Lett. **16** (1991), 42

¹¹⁸ Haus H.A. et al, IEEE J. Quantum. Electron. QE. **28** (1992), 2086

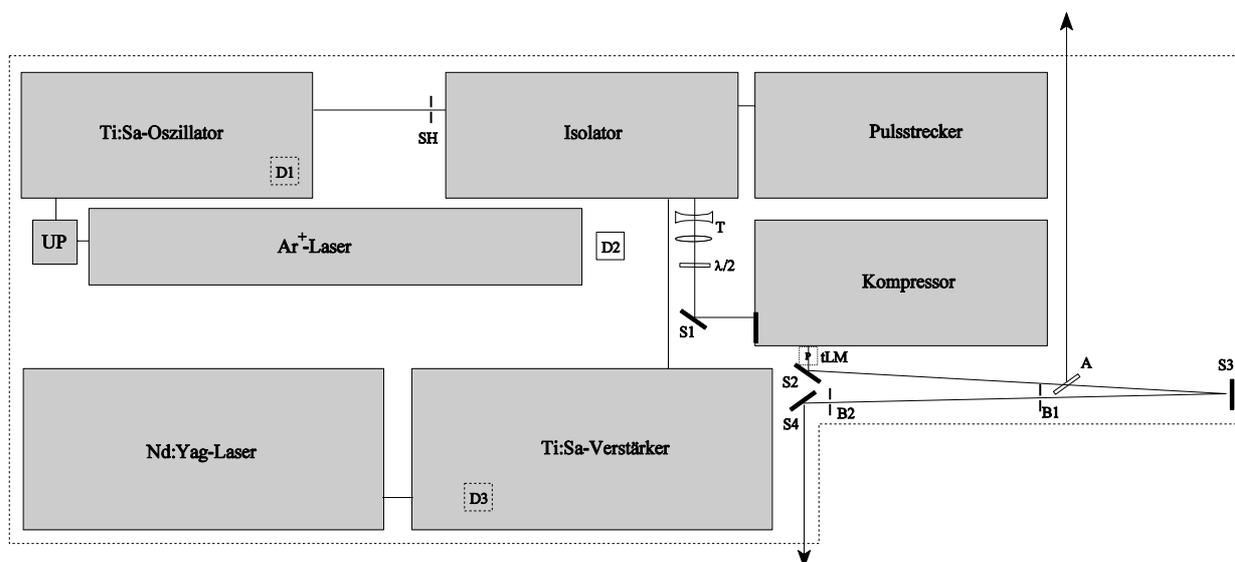


Abbildung 34: Schematische Zeichnung der Femtosekunden-Lasereinheit. *T*: Teleskop, $\lambda/2$: Verzögerungsplatte, *T*: Teleskop, *UP*: Strahlumlenk- und Polarisationsdreheinheit, *S1*..*S4*: Dichroitischer Spiegel HR 700-950nm, *B*: Blenden, *SA*: 1% Strahlauskopplung zum Autokorrelator; *tLM*: Position zur Leistungsmessung; *SH*: Fernsteuerbarer Irisblende; *D1*: Diode zur Überprüfung der Modenkopplung im Oszillator und Generation des Systemtaktes; *D2*: Diagnostikdiode vor Kompressor, Si-Pin-Fotodiode 0.9 ns Anstiegszeit; *D3*: Diode um Pulsaufbau und Pulsstabilität im Verstärker zu prüfen, Si-PIN-Fotodiode, 0.9 ns Anstiegszeit

diesen Komponenten auch wieder entgegenzunehmen. Diese Fähigkeit erhält die Einheit durch eine Abfolge an optischen Komponenten, bestehend aus polarisationsabhängiger Strahlteiler, $\lambda/2$ -Platte, Faraday-Rotator¹¹⁹ und polarisationsabhängige Strahlteiler.¹²⁰ Der Witz der Anordnung besteht darin, daß bei der $\lambda/2$ -Platte die Polarisationsdrehung mit dem Bezugssystem des Photons verknüpft und dadurch richtungsabhängig ist, beim Faraday-Rotator dagegen nicht. Bei diesem Element ist die Rotation mit dem Laborsystem verknüpft und damit bezogen auf die Flugrichtung des Photons richtungsabhängig. Der Pulszug verläßt den Isolator und tritt in den Pulsstrecker (Clark-MXR, PS-1) ein. Dort trifft er auf ein Gitter und wird räumlich in seine spektralen Komponenten aufgefächert. Unter Ausnutzung unterschiedlicher Weglängen der spektralen Komponenten werden die Pulse definiert "gechirpt" und dadurch zeitlich auf 200 ps verlängert. Sie verlassen danach den Pulsstrecker und werden durch den Isolator an einen Nd:YAG (Clark-MXR, ORC-1000, 12 W mittlere Leistung, 532 nm, 1.04 kHz, Pulsbreite 220 ns) gepumpten (8W) Ti:Sa-Verstärker (Clark-MXR, TRA-1, Satellitenpulsunterdrückung 200:1, 1.4 W) weitergereicht. Dort wird nur jeder 100000-te Puls nachverstärkt und anschließend wieder durch den Isolator zum Kompressor (Clark-MXR, PC-1) umgelenkt und zeitlich rekomprimiert. Die Pulse haben nun typischerweise eine Energie von 0.7 mJ, eine Pulsdauer von <200 fs, eine Wellenlänge von 795 nm bei einer Repetitionsrate von 1.04 kHz.

Von Zeit zu Zeit ist beim Ar⁺-Laser eine Justage der Resonatorspiegel notwendig. Das führt bei fehlender Strahlstabilisierungseinrichtung zu einer Strahllagenänderung, mit der Folge einer notwendigen Justage des Gesamtsystems. Um sie zu vermeiden, wurde eine manuelle Strahllagenstabilisierung integriert. Zu diesem Zweck wurden die starren Spiegel im Umlenkturm *UP* durch

¹¹⁹ Hecht E., Optics, Addison-Wesley 1987, 2. Aufl., 316 f

¹²⁰ Inhalt ist großes Firmengeheimnis!

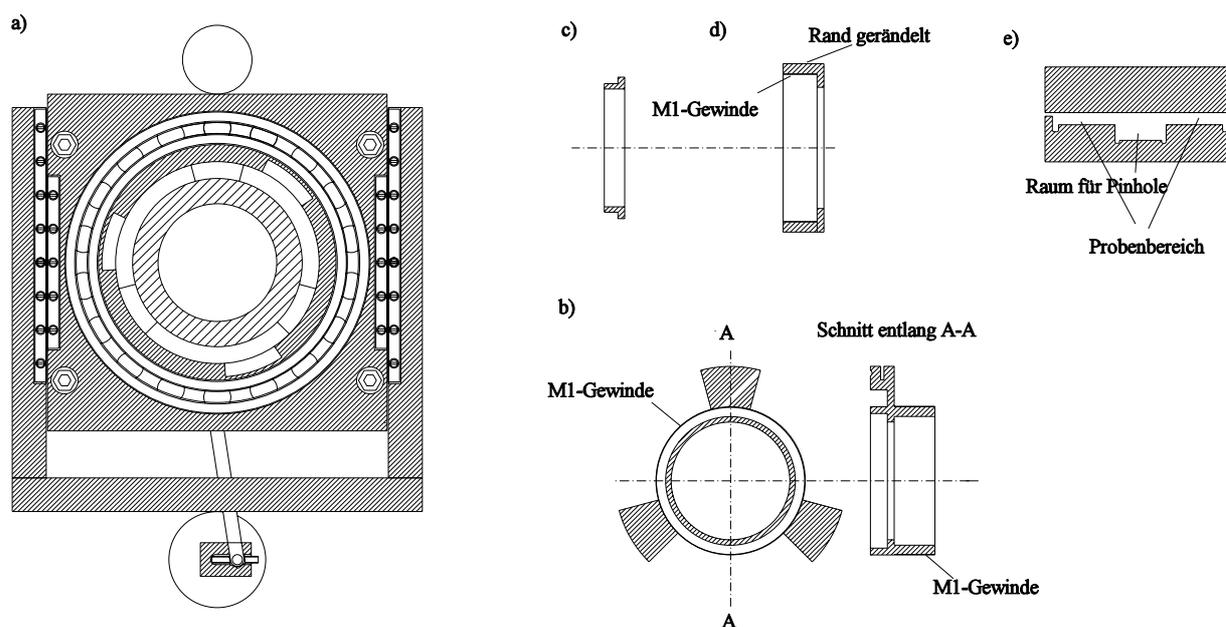


Abbildung 36: Skizze von a) Rotations-Hubeinheit mit Probenhalter, b) Probenhalter, c) Abstandsring, d) Überwurfring, e) Spezialküvette (3mmDicke) aus CaF_2 mit CaF_2 -Deckfenster (3 mm Dicke, $\lambda/10$ bei 632 nm). Durchmesser von Innen nach außen: 9 mm, 10 mm, 30 mm, 32 mm, 38.1 mm. Abstände vom oberen Rand: 4 bzw. 8 μm , 15 μm , 3mm. Die zentrale Vertiefung (\varnothing 9 mm) nimmt das 100 μm Pinhole auf, mit dessen Hilfe der Pump- und der Infrarotfokus zur Deckung gebracht werden. Die breite Vertiefung nimmt die Probe auf.

Spiegel ($S6$, $S7$, $S9$) und zusätzlich abgeschwächt durch den Filter $F3$ wird er schließlich der Detektionseinheit zugeführt. Der zweite Teil wird den Pumpstrahl mit einer Wellenlänge von 540 nm bei einer maximalen Energie von 2.5 μJ generieren. Zu diesem Zweck fokussiert die Linse $L1$ den Strahl in VE^{121} -Wasser, das, um Bläschenbildung zu minimieren, mit Hilfe einer Farbstofflaserpumpe durch die Küvette WZ gepumpt wird.¹²² Die verschiebbare Linse $L2$ dient der anschließenden Kollimation des hauptsächlich durch Selbstphasenmodulation¹²³ entstandenen Weißlichtes und bildet zusammen mit $L1$ ein Teleskop. Über den Filter $F1$ und zwei dichroitische Spiegel, welche die stärkste aber störende Komponente des Weißlichtes, die Fundamentalmode bei 795 nm stark abschwächen, wird das Spektrum für den "gechirpten" und nicht fourierlimitierten Pumpimpuls festgelegt. Seine Repetitionsrate wird durch einen "Chopper" auf 0.52 kHz halbiert. Die letzte Linse $L5$ fokussiert den Strahl in die Infraroteinheit und wird dort, wie schon beschrieben, mit dem Fokus des Probestrahles zur Deckung gebracht. Um beide Fokusse optimal überlagern zu können, kann die Linse parallel zum Tisch verschoben werden.

Mit Hilfe der temporären Spiegel $tS3$ und $tS8$ können der Pump- und der Gatestrahl ausgekoppelt und der Analyseeinheit zugeführt werden.

¹²¹ $\text{VE} \triangleq$ vollständig entsalztes Wasser

¹²² Herr K. Heyne ermittelte einen Durchfluß durch die Küvette von $100 \text{ ml}/26\text{s} = 38 \mu\text{m cm}^2 / \text{ms}$. Bei einer Breite x Tiefe der Küvette von $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ erhält man eine Durchflußgeschwindigkeit von $38 \mu\text{m} / \text{ms}$. Diese führt bei einer Repetitionsrate von 1 kHz zu einem fast vollständigen Austausch des Wassers im Fokusvolumen.

¹²³ Shen Y.R. et al in Alfano R.R., *The supercontinuum laser source*, Springer 1989, 1

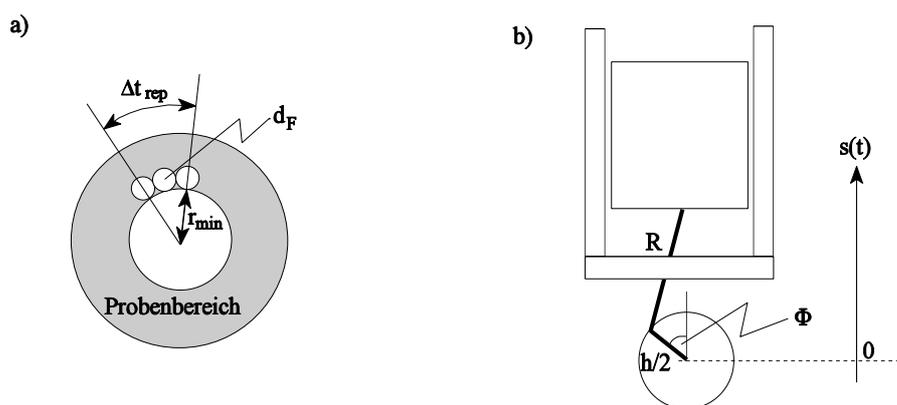


Abbildung 37: Skizze zur Bestimmung der a) Rotationsfrequenz und b) Hubfrequenz.

3.2.4 Die Rotations-Hubeinheit, der Probenhalter und die Spezialküvette

Die Rotations-Hubeinheit sorgt ähnlich einem Plattenspieler dafür, daß die eingesetzte Probe im Probenhalter spiralförmig abgetastet wird. Im Unterschied zum Plattenspieler ist allerdings der abtastende Laserstrahl (\triangleq Nadel) fixiert und die Probe (\triangleq Platte) vollführt eine rotierende und vertikal translatorische Bewegung. Rillenkugellager von SKF und spielfrei einstellbare Schneeberger-Führungen sorgen für einen präzisen Lauf. Ein Elektromotor Mabuchi RS-380 PH, angesteuert von einem Labornetzgerät (Votcraft TNG 40), versetzt den Probenhalter über einen Keilriemen (Untersetzung 7:1) in Rotation. Für die vertikale Bewegung ist dagegen ein Faulhaber-Elektromotor mit Getriebe (Motor 3540 K, Getriebe 34 PG, Übersetzung 30:1) zuständig, der seinen Strom ebenfalls durch ein Labornetzgerät (Votcraft TNG 40) bezieht. Über ein Pleuel,¹²⁴ dessen Abstand zur Rotationsachse mit Hilfe einer M1-Madenschraube einstellbar ist, versetzt dieser Motor den Halter in Hubbewegungen. Der integrierte Bajonettverschluß ist platzsparend und erleichtert das reproduzierbare Einsetzen des Probenhalters. Die gesamte Rotations-Hubeinheit ist mit einem x-y-z-Verschiebetisch verbunden und kann deshalb reproduzierbar mit einer Genauigkeit von 10 μm positioniert werden.

Der Probenhalter nimmt der Reihenfolge nach einen O-Ring, die Spezialküvette aus CaF_2 mit Probe und CaF_2 Deckfenster mit einem Silicium-Bruchstück, einem zweiten O-Ring und den Abstandsring auf. Der aufschraubbare Überwurfring sorgt für eine leichte Quetschung der O-Ringe, wodurch sich ein von der Umgebungsluft abgeschlossener Raum bildet, in dem sich die Spezialküvette¹²⁵ befindet. Schweres Vakuumpfett verbessert zusätzlich die Dichtigkeit.

Soll jedem Probepuls eine relaxierte Probe zur Verfügung stehen, dann sind Rotations- und Hubfrequenz nicht beliebig wählbar. Ist Δt_{rep} die Repetitionsrate (1.04 kHz), d_F der Fokusbereich des Pumpimpuls (230 μm) und ν_{Rot} die Rotationsfrequenz, dann gilt nach Abbildung 37 a):

$$\Delta t_{rep} 2 \pi \nu_{Rot} r_{min} = 2 d_F$$

$$\nu_{Rot} = \frac{d_F}{\pi \Delta t_{rep} r_{min}} = 6.4 \text{ Hz.} \quad (88)$$

¹²⁴ Material des Pleuels: V2A. Material der Zapfen, die direkt mit dem Pleuel verbunden sind: Messing, Bronze

¹²⁵ Nach Mäntele W., Universität Erlangen, Institut für physikalische Chemie

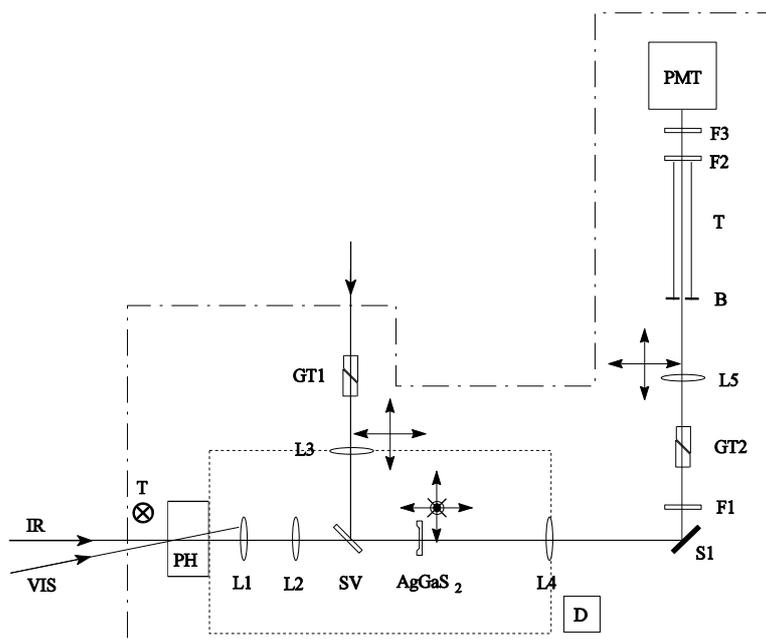


Abbildung 38: Detektionseinheit. *PH*: Probenhalter; *PMT* Photomultiplier Hamamatsu R636/10 mit magnet. Abschirmung E989; *L1*: CaF₂-Linse, 100 mm; *L2*: CaF₂-Linse, 100; *SV*: Strahlvereiner Dorotek HR 790, HT 5-8 μm (>65 %), CaF₂-Substrat; *GT*, *GT2*: Glan-Thomson-Prisma in Rotationshalter; *L3*: BK7-Linse, 150 mm auf x-y-Verschiebetisch; AgGaS₂: AgGaS₂-Kristall, Typ I, 10 x 10 x 0.5 mm³, θ = 60°, φ = 45°, AR/AR 600-900 nm, Summenfrequenzbildung, in Rotationshalter und auf x-y-z-Verschiebetisch; *L4*: CaF₂-Linse, 100 mm; *S1*: Silberspiegel; *F1*: Schottfilter RG1, 2 mm; *L5*: BK7-Linse, 200 mm auf x-y-Verschiebetisch; *B*: Blende; *T*: Tubus, ∅ 25.4 mm x 500 mm; *F2*: CORION-Bandpassfilter, Bsp. S10-720; *F3*: LOT Kurzpaßfilter, λ_g = 700 nm; *D*: Diode, um Rotations- und Hubfrequenz des Probenhalters zu bestimmen, Thorlabs, SI-PIN-Fotodiode, 10ns Anstiegszeit; *L*: Taschenlampe als Lichtquelle zur Bestimmung der Rotations- und Hubfrequenz des Probenhalters in der Rotations- und Hubeinheit.

Gewählt wurden 18 Hz, womit sich ein ausreichend großer Sicherheitsspielraum ergibt. Für die Hubfrequenz gilt unter Berücksichtigung von Abbildung 37 b) und einer typischen, abtastbaren Probenbreite $h = 6 \text{ mm}$:

$$\begin{aligned}
 s(t) &= \frac{h}{2} \cos \Phi(t) + \sqrt{R^2 - \frac{h^2}{4} \sin^2 \Phi(t)} \approx \frac{h}{2} \left(1 - \frac{\Phi^2(t)}{2} \right) + R \\
 s(T_{rot}) &\equiv R + \frac{h}{2} - 2 d_F \\
 \Phi(t) &\equiv 2 \pi \nu_{Hub} t \\
 \rightarrow \nu_{Hub} &= \nu_{Rot} \frac{1}{\pi} \sqrt{\frac{2d_F}{h}} \approx 1.6 \text{ Hz.}
 \end{aligned} \tag{89}$$

Als Hubfrequenz wurde 1 Hz gewählt. Zum Zweck der Frequenzbestimmung beleuchtet eine Taschenlampe die drei Speichen des Probenhalters. Das modulierte Licht wird dann durch eine lichtempfindliche Diode (Si-PIN-Photodiode, 10 ns Anstiegszeit) detektiert und mit Hilfe eines Oszilloskopes (Tektronix TDS 380) sichtbar gemacht.

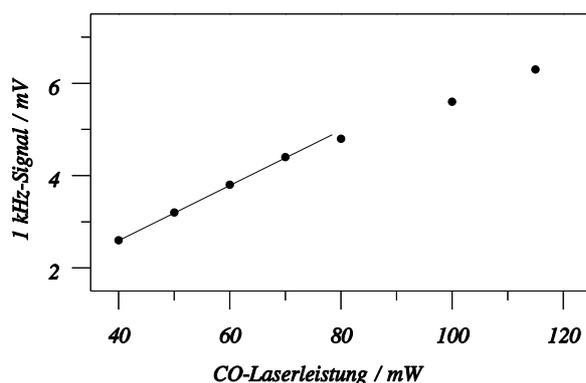


Abbildung 39: Abhängigkeit des Detektionssignals von der mittleren CO-Laserleistung. Um die Leistungen mit einem Coherent-Leistungsmeßgerät (Coherent 200/10) gut messen zu können, wurden die Infrarotpulse mit Hilfe des akusto-optischen Modulators auf 560 μ s verlängert.

3.2.5 Die Detektion

Infrarotprobestrahl und optischer Anregungspuls kreuzen sich in der Probe. Die Rotations-Hu-
beinheit, samt Probenhalter kann den Anregungspuls nicht abfangen. Er "schlängelt" sich durch die
nachfolgenden Optiken und wird erst durch den Filter *F1* in seiner Leistung abgeschwächt und
dann durch den Raumfilter B eliminiert. Die Linse *L1* kollimiert und *L2* fokussiert den IR-Abfra-
gestrahl in den nichtlinearen Kristall AgGaS_2 um die Summenfrequenz mit dem durch die Linse *L3*
und über den Strahlvereiner *SV* ebenfalls in den Kristall fokussierten "gate"-Puls zu bilden. Um
beide Fokusse überlagern und eine optimale Phasen Anpassung gewährleisten zu können, befinden
sich die Linse *L3* auf einem x-y-Verschiebetisch, der dichroitische Spiegel (Strahlvereiner) in
einem Spiegelhalter und der Kristall in einem Rotationshalter auf einem x-y-z-Verschiebetisch. Die
Summenfrequenzbildung erfolgt nur mit einer Effizienz kleiner als Eins. Deswegen sind neben der
erwünschten Summenfrequenz auch die ursprünglichen, nun aber unerwünschten Wellenlängen
vorhanden. Der Infrarotanteil wird durch nachfolgende Optiken effektiv abgeschwächt. AgGaS_2 ist
ein Typ I-Kristall, d.h. die Polarisation der einfallenden Strahlen und die Summenfrequenz stehen
senkrecht aufeinander. Diese Eigenschaft wird verwendet, um die Intensität des "gate"-Pulses zu
reduzieren. *GT1* erhöht den Grad an linearer Polarisation des "gate"-Strahles, der hinter dem
Kristall durch *GT2* stark abgeschwächt wird ($1:10^5$). Die direkt vor dem Photomultiplier positio-
nierten Bandpassfilter *F2* und Kantenfilter *F3* dienen der zusätzlichen Strahlabschwächung. Um
Streulicht effektiv unterdrücken zu können, ist der Photomultiplier einschließlich der Filter
lichtdicht mit einem langen Tubus verbunden. Seine Innenseite ist mit schwarzem Fotokarton
ausgekleidet und die offene Seite wird durch eine verschließbare und zusammen mit der Linse *L5*
als Raumfilter wirkenden Irisblende abgeschlossen.

Abbildung 39 zeigt die Abhängigkeit der 1.04 kHz-Komponente des Detektionssignals von
verschiedenen mittleren CO-Laserleistungen ohne Probe. Das Signal beinhaltet die Störungen des
"gate"-Prozesses, der Detektion und der nachfolgenden Elektronik. Die ebenfalls in die Abbildung
integrierte Gerade verdeutlicht, daß oberhalb von 4.4 mV ein nichtlinearer Kurvenverlauf auftritt.
Es wurde deshalb bei den noch zu beschreibenden Messungen darauf geachtet, daß die zu messen-
den Signale der 1.04 kHz-Komponente unterhalb von 4 mV blieben.

Die zu erreichende Nachweisempfindlichkeit auf Grund der im Photomultiplier erzeugten Elek-

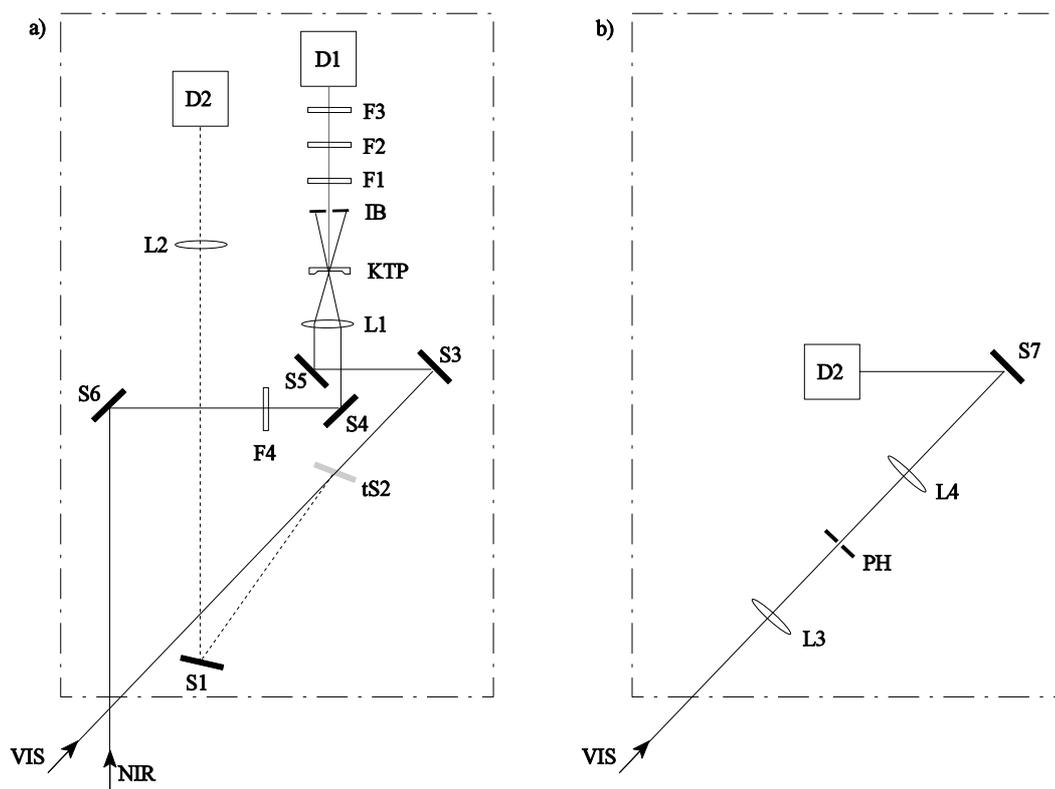


Abbildung 40: a) Strahlanalyseeinheit, b) Einmaliger Aufbau zur Messung des Fokus des Anregungsstrahles; *S1, S3, S5, S7*: Silberspiegel; *tS2*: temporärer Silberspiegel; *S4, S6*: Dichroitischer Spiegel HR 700-950nm; *L1*: CaF₂-Linse, 50 mm; *L2*: CaF₂-Linse, 200 mm; *L3*: BK7-Linse, 50 mm; *L4*: BK7-Linse 75.6 mm; KDP: KDP-Kristall von Eksma, 10 x 10 x 0.5 mm³, Typ 1, $\theta = 43^\circ$, $\varphi = 45^\circ$); *IB*: Irisblende; *PH*: Pinhole; *F1*: Schottfilter BG24, 3 mm; *F2*: Schottfilter UG 1, 2 mm; *F3*: Schottfilter UG 11, 2 mm; *F4*: Schottfilter KG 3, 2 mm *DI*: Si-Pin-Fotodiode, 10 ns Anstiegszeit; *D2*: Coherent Leistungsmeßgerät Lasermate, Meßkopf *S1* (max 1W); *VIS*: Anregungspuls; *NIR*: Ti:Sa-Puls = "gate"-Puls

tronen kann nach Locke¹²⁶ wie folgt abgeschätzt werden: Die Leistung des CO-Lasers sei bei einer Wellenlänge von $\lambda_0 = 6.5 \mu\text{m}$ $P_0 = 100 \text{ mW}$. Sie wird auf dem Weg zum nichtlinearen Kristall AgGaS₂ durch Reflexion an CaF₂-Optiken mit einer Transmission¹²⁷ $T_1 = 0.975$, $T_{SV1} = 0.75$ und $T_{SV2} = 0.65$ auf $P_0 \cdot T_1^{10} \cdot T_{SV1} \cdot T_{SV2}$ reduziert. Durch den "gate"-Prozeß werden Infrarotphotonen nur in Gegenwart des "gate"-Pulses mit einer effektiven Halbwertsbreite von $\Delta = 500 \text{ fs}$ und mit einer Effizienz von $D_{\text{Kristall}} = 10\%$ ¹²⁸ konvertiert. $P_0(T_1^{10})T_{SV1}T_{SV2}\Delta\lambda_0 D_{\text{Kristall}}/hc$ Photonen machen sich auf dem Weg zum Photomultiplier und werden wiederum durch Optiken mit einer Transmission von nun $T_2 = 96\%$ in ihrer Zahl reduziert, bevor sie mit einer Quanteneffizienz von $q = 10\%$ in $3 \cdot 10^3$ Elektronen konvertiert werden. Typischerweise wird bei einer Repetitionsrate von 1.04 kHz 18s lang gemittelt. Das Schrotrauschen der Elektronen stellt dann eine Grenze für die kleinste meßbare Absorptionsänderung ΔOD_{min} dar. Für diese Grenze gilt:

¹²⁶ Locke B. et al. in Clark R.J.H. et al., *Biomolecular Spectroscopy B*, John Wiley & Sons 1993, 14

¹²⁷ Die Transmission wurde mit Hilfe der Fresnelschen Gleichungen und dem Brechungsindex für CaF₂ bei 6.5µm berechnet. Hecht E., *Optics*, Addison-Wesley 1987, 2. Aufl., 102; ARTAS, Datenblätter, Augsburgstr. 39, D-93051 Regensburg. SV1 und SV2 bezieht sich auf die als Strahlvereiniger wirkende dichroitische Spiegel von Dorotek

¹²⁸ Locke B. gibt für LiIO₃ eine Konversionseffizienz von 10 % an.

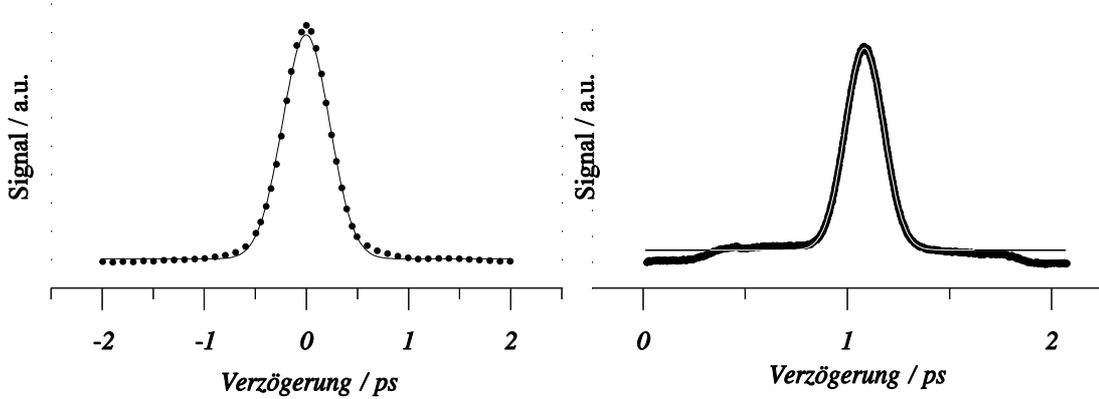


Abbildung 41: Autokorrelation der Ti:Sa-Laserpulse (rechts) und Kreuzkorrelation (links) von diesen Pulsen mit den Anregungspulsen, die mit Hilfe von Weißlicht generiert werden.

$$\Delta OD_{min} \approx 1 / \sqrt{\frac{P_0 T_1^{10} T_{SV1} T_{SV2} \Delta D_{Kristall} \lambda_0 T_2^{16} q}{h c}} 18 \cdot 10^3 = 1.3 \cdot 10^{-4}. \quad (90)$$

Diese Grenze kann geprüft werden, indem in ihrer Leistung stark abgeschwächte Ti:Sa-Laserpulse den Detektor beleuchten, so daß sich in Bezug auf das Experiment ein vergleichbares Ausgangssignal am Lock-in-Verstärker einstellt. Unter diesen Umständen detektiert man eine Absorptionsänderung von $3 \cdot 10^{-4}$. Berücksichtigt man die Unsicherheiten in der Quanteneffizienz des Photomultipliers und in der Konversionseffizienz des Kristalls, dann ist dieser gemessene Wert mit der Abschätzung gut verträglich.

3.2.6 Die Strahlanalyseeinheit

Zur routinemäßigen Bestimmung der Pulsbreite der Ti:Sa-Laserpulse und der Anregungspulse stehen ein kommerzieller Autokorrelator (Clark-MXR AC-150) und ein selbst gebauter Kreuzkorrelator zur Verfügung. Letzterer ist folgendermaßen aufgebaut. Der "gate"-Puls und der Anregungspuls werden mit Hilfe von Spiegeln $S4$, $S6$, $S3$, $S5$ zur Linse $L1$ gelenkt, die beide Pulse in den KTP-Kristall fokussiert. Nur die sich bildende Summenfrequenz, die den Kristall mittig verläßt, kann die Blende passieren und trifft dann auf die Diode DI . Die Filter dienen der Strahlabschwächung, um eine Sättigung der Diode zu verhindern.

Abbildung 41 zeigt eine Autokorrelation und die dazugehörige Kreuzkorrelation. Unter der Annahme von gaußförmigen Pulsen erhält man eine Pulsbreite von 0.16 ps FWHM für den "gate"-Puls und eine Pulsbreite von 0.52 ps FWHM für den Anregungspuls.

Mit Hilfe des temporären Spiegels $tS3$ kann der Anregungsstrahl zum Leistungsmeßgerät umgelenkt werden, um seine Leistung bestimmen zu können.

Zur Messung des Fokusbereichs des Anregungsstrahles wurde der Aufbau in Abbildung 40 b) verwendet, um so direkt die Transmission durch verschiedene Lochblenden (400 μm , 200 μm , 150 μm) zu messen. Die Transmission ist mit der Strahlbreite w und dem Durchmesser D der

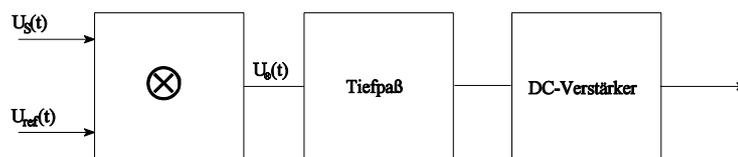


Abbildung 42: Blockschaltbild eines Lock-in-Verstärkers.

Lochblende über

$$T \sim \int_0^{D/2} \exp(-4r^2/w^2) r \, dr \sim 1 - \exp(-D^2/w^2) \Rightarrow w = \frac{D}{\sqrt{-\ln(1-T)}} \quad (91)$$

verbunden. Unter Verwendung dieser Beziehung erhält man einen Strahldurchmesser von $270 \pm 14 \mu\text{m}$, der in seiner Größe die experimentelle Erfahrung widerspiegelt, daß sich mit Hilfe von Weißlicht generierte Pulse schlecht kollimieren und fokussieren lassen. Die Strahltaile des Infrarotprobestrables läßt sich unter der Annahme eines beugungsbegrenzten gaußförmigen Strahlprofils abschätzen. Ist die Wellenlänge $\lambda = 6.5 \mu\text{m}$, die Brennweite der fokussierenden Linse $f = 100 \text{ mm}$ und der Strahldurchmesser $D \approx 10 \text{ mm}$, dann gilt für die Strahltaile:

$$w \approx \frac{\lambda f}{D} \approx 65 \mu\text{m}. \quad (92)$$

Sie ist kleiner als der Fokus des Anregungsstrahles. Dieses Verhältnis ist wichtig, damit die Absorptionsänderung des Anregungsstrahles nicht durch räumliche Mittelung über unterschiedliche Anregungsintensitäten zu stark verkleinert wird.

3.3 Die Datenerfassung und die Datenverarbeitung

Die Datenerfassung basiert auf der Lock-in-Technik, die deshalb mit Bezug auf die Anwendung in dieser Arbeit knapp erläutert wird.

3.3.1 Die Lock-in-Technik

Das Ersatzschaltbild eines Lock-in-Verstärkers¹²⁹ ist in Abbildung 42 zu sehen. Eine periodische Signalspannung $U_s(t) \equiv U_{\omega}(t) \sin(\omega t) + U_{Rest}(t)$, wobei die Fouriertransformierte von $U_{\omega}(t)$ nur Anteile kleiner ω haben soll und eine, der Einfachheit wegen, sinusförmig angenommene Referenzspannung $U_{ref}(t) \equiv U_{ref} \sin(\omega t + \delta)$ werden in einer Multipliziereinheit "⊗" miteinander verknüpft. Als Ergebnis $U_{\otimes}(t)$ erhält man nach trigonometrischen Umformungen:

¹²⁹ Schatz G. et al, *Nukleare Festkörperphysik*, Teubner 1992, 2. Aufl., 136 ff; Rohe K.H., *Elektronik für Physiker*, Teubner 1987, 3. Aufl., 240 ff

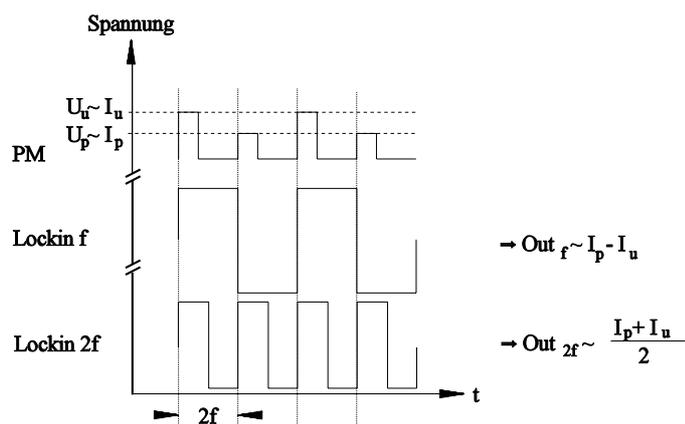


Abbildung 43: Idealisierter zeitlicher Verlauf der Ausgangsspannung des Photomultipliers und der Referenzspannungen mit Frequenz f und $2f$ für Lock-in- f und Lock-in- $2f$. Die höhere Rechteckspannung ist in diesem Fall proportional zur transmittierten Intensität des Probestrahls I_u (u =unpumped) ohne vorherige Anregung und die kleinere Rechteckspannung ist proportional zur Intensität I_p (p = pumped) nach Anregung. Das gezeigte Photomultipliersignal entspricht einem Absorptionssignal (im Gegensatz zu einem Bleichsignal) der Probe zu einem festen, durch die Verzögerungsstrecke festgelegten Verzögerungszeitpunkt.

$$\begin{aligned}
 U_{\omega}(t) &= U_s(t) \cdot U_{ref}(t) \\
 &= \frac{U_{\omega}(t) U_{ref}}{2} \cos(\delta) + U_{ref} U_{Rest}(t) \sin(\omega t + \delta) - \frac{U_{\omega}(t) U_{ref}}{2} \cos(2\omega t + \delta). \quad (93)
 \end{aligned}$$

Der erste Term erklärt den Namen des Verstärkers. Nur der zu $\sin(\omega t)$ proportionale Anteil der Signalspannung $U_s(t)$ "lockt" an das Referenzsignal an und kann den nachfolgenden Tiefpaß mit einer einstellbaren Grenzfrequenz¹³⁰ $\omega_g < \omega$ passieren. Die beiden letzten Terme tragen zum Rauschen bei. Nach einer zusätzlichen Verstärkung erhält man schließlich am Ausgang ein Spannungssignal das proportional zu $U_{\omega}(t)$ ist. Auf diese Art und Weise können extrem kleine Wechselspannungen in Gegenwart von großen Stör- oder Rauschspannungen gemessen werden.

Diese Technik wird angewendet, um aus dem zeitlich modulierten Signal des Photomultipliers die eigentliche Meßgröße "Absorptionsänderung" zu berechnen. Mit einer Repetitionsrate von $2f = 1.04 \text{ kHz}$ ¹³¹ wird die Probe abgetastet. Nur bei jedem zweiten Schuß, also mit halber Frequenz erfolgt eine Anregung der Probe durch den Anregungslaserstrahl. Der Photomultiplier produziert eine Ausgangsspannung, die zum transmittierten Signal proportional ist. Idealisiert könnte der zeitliche Spannungsverlauf des Photomultipliers dann - wie in Abbildung 43 gezeigt - aussehen. Verbindet man die Ausgangsspannung mit dem Lock-in-Verstärker, der mit einer Referenz der Frequenz f verbunden ist, dann erhält man an dessen Ausgang eine Spannung:

$$Out_f \sim I_p - I_u. \quad (94)$$

Mit einem zweiten Lock-in-Verstärker verfährt man analog, bis auf die Referenzspannung, die nun eine Frequenz $2f$ hat. Für dessen Ausgangsspannung Out_{2f} gilt dann:

¹³⁰ $2\pi/\omega_g$ entspricht der Zeitkonstante am Lock-in-Verstärker

¹³¹ Die Referenzfrequenz sollte nicht ein Vielfaches der Netzfrequenz sein, sonst werden durch die Lock-in-Technik auch störende Spannungen, die mit höheren Harmonischen der Netzfrequenz verknüpft sind, verstärkt. In diesem Aufbau wurde deshalb die vom Ti:Sa-Oszillator vorgegebene Referenzfrequenz auf $f = 520 \text{ Hz}$ eingestellt.

$$Out_{2f} \sim \frac{I_u + I_p}{2} \quad (95)$$

Die Absorptionsänderung ΔOD wird so definiert:

$$\Delta OD \equiv OD_p - OD_u \quad (96)$$

daß ein absorptives Signal (Bleichsignal) zu einer Änderung der optischen Dichte $\Delta OD > 0$ ($\Delta OD < 0$) führt. Über das Lambert Beersche Gesetz ist die optische Dichte mit der Intensität des Probestrahles vor I_0 und hinter der Probe I_p, I_u verbunden:

$$I_p \equiv I_0 10^{-OD_p}, \quad I_u \equiv I_0 10^{-OD_u}. \quad (97)$$

Berücksichtigt man die drei vorhergehenden Gleichungen, dann kann die gesuchte Absorptionsänderung

$$\Delta OD = \frac{Sen_{2f}/Sen_f \cdot Out_{2f} - Out_f/2}{Sen_{2f}/Sen_f \cdot Out_{2f} + Out_f/2} \quad (98)$$

durch die beiden Lock-in-Ausgangsspannungen Out_f und Out_{2f} ausgedrückt werden. Die Faktoren Sen_{2f} und Sen_f berücksichtigen dabei, daß die in Grenzen wählbare Verstärkung der beiden Lock-in-Verstärker Lock-in f und Lock-in 2f verschieden sein kann.

3.3.2 Die Elektronik und die Datenerfassung

Der Oszillator bildet die "Systemuhr". Ein kleiner Prozentsatz des emittierten Pulszuges wird zu diesem Zweck ausgekoppelt und mit einer Diode detektiert. Das auf diese Weise produzierte elektrische Signal (0.1 GHz) wird anschließend durch den Frequenzteiler des Pockelszellentreibers auf 1.04 kHz reduziert. Ein weiterer Frequenzteiler $f/2$ reduziert diese Frequenz um einen Faktor Zwei. Als Systemtakte stehen somit zwei phasengekoppelte Frequenzen von 0.52 kHz und 1.04 kHz zur Verfügung.

Die 1.04 kHz-Komponente legt die Repetitionsrate des Experimentes fest. Sie triggert den Nd:Yag-Laser, die Pockelszelle im Verstärker und den akusto-optischen Modulator, der quasi kontinuierliche Infrarotpulse erzeugt. Die zweite Komponente synchronisiert den "Chopper" Ch mit dem Systemtakt, wodurch die Frequenz der Anregungspulse auf 0.52 kHz reduziert wird und bildet die Referenzfrequenz für zwei Lock-in-Verstärker (Lock-in 1,2), die zur Bestimmung der Absorptionsänderung benötigt werden. Die Referenzfrequenz kann intern dann wieder verdoppelt werden, um die im vorherigen Kapitel beschriebene Methode zur Ermittlung der Absorptionsänderung anwenden zu können.

Die Lock-in-Verstärker liefern zeitlich gemittelte¹³² Spannungen, die von einer A/D-PC-Einsteckkarte umgewandelt werden. Die Mittelungsfunktion der Lock-in-Verstärker hat den Vorteil, daß die Datenaufnahme und damit der Meßcomputer nicht mit dem Systemtakt synchronisiert werden muß. Mögliche Phasenschwankungen werden durch die Software eliminiert.

Bei dem Meßprogramm handelt es sich um eine Windows-Anwendung, die in Borland C++ unter Verwendung der "Object Windows" Klassen geschrieben wurde. Es steuert das Experiment

¹³² Die eingestellte Zeitkonstante betrug 1 s

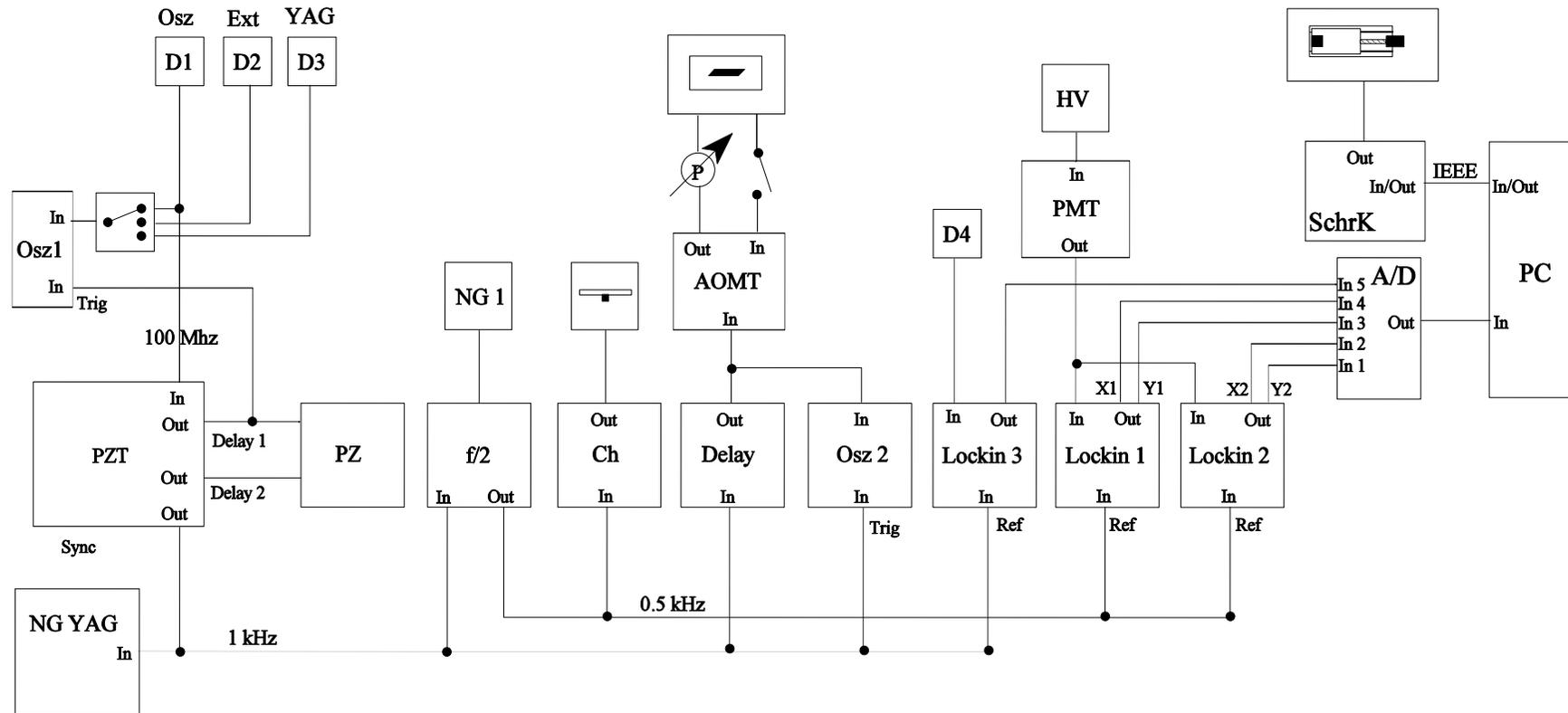


Abbildung 44: Schematische Zeichnung des elektronischen Aufbaus. *D1*: Diode im Oszillator; *D2*: Externe Diode, Si-PIN-Fotodiode, 0.9 ns Anstiegszeit; *D3*: Diode im Verstärker, Si-PIN-Fotodiode, 0.9ns Anstiegszeit; *D4*: Diode für Kreuzkorrelator, Si-PIN-Fotodiode, 10 ns Anstiegszeit; *Osz1*: Tektronix Oszilloskop 485; *PZT*: Medox Pockelszellentreiber; *PZ*: Pockelszelle in Verstärker; *Ng*: YAG: Netzgerät für Nd:Yag-Laser; *NG 1*: Netzgerät aus der Elektronikwerkstatt; *f/2*: Frequenzteiler; *Ch*: HMS Light Beam Chopper 221; *Delay*: Philips Pulsgenerator PM 5712; *Lock-in-1/2*: HMS Lock-in DYNATRAC 503; *Lock-in-3*: ITHACO Lock-in DYNATRAC 391 A; *Osz 2*: Tektronix Oszilloskop 7613; *PC*: Computer 486 DX2/66Mhz; *A/D*: Bockstaller Analog/Digital-Konverter 16Bit, 100 kHz, 16 Kanal gemultiplext für ± 10 V; *IEEE*: IEEE-Einsteckkarte PCIIA von NI; *SchrK*: PI Schrittmotorkontroller C530; *HV*: Fluke Hochspannungsnetzgerät 415 B; *AOMT*: Intra Action Treiber GE 4080 für AOM.

asynchron zum Systemtakt. Über eine IEEE-Schnittstelle und einen Schrittmotorkontroller wird der Schrittmotor der Verzögerungstrecke spielfrei¹³³ angesteuert. Nachdem eine festgelegte Schrittmotorposition (\triangleq Verzögerungszeit) angefahren wurde, verstreicht die dreifache Zeit der an beiden Lock-in-Verstärkern eingestellten Zeitkonstante. Anschließend liest die A/D-Karte mit maximaler Wandelrate (17.5 kHz) eine vorgegebene Anzahl an Spannungswerten ein. Sie bilden den Datensatz für einen Meßpunkt, bestehend aus einer Absorptionsänderung und einer dazugehörigen Verzögerungszeit.

3.3.3 Die Datenverarbeitung und ihre Auswertung

Im Zentrum der Datenverarbeitung und Auswertung stehen ein eindimensionales¹³⁴ (fit.exe) und ein zweidimensionales, globales Fitprogramm (gfit.exe). Beide Windows-Anwendungen sind in Borland C++ unter Verwendung der "Object Windows"-Klassen geschrieben worden und nutzen ausgiebig numerische Routinen der "Numerical Recipes in C".¹³⁵ Auch die eigentliche Anpassungsroutine, die auf der Levenberg-Marquardt-Methode¹³⁶ beruht, ist dieser Sammlung entnommen.

Die Programme wurden entwickelt, weil kommerzielle Programme (z.B. "Origin") die geforderte Leistungsfähigkeit und Flexibilität nicht erfüllen. Die Anpassungsprogramme bilden einen Rahmen, welcher die gewünschten Anpassungsfunktionen aufnimmt. Dieser Struktur liegt die Idee zu Grunde, daß mit der Zeit eine Sammlung spezieller Anpassungsfunktionen integriert sein wird, die den numerischen Bedarf eines Arbeitsgebietes (hier Femtosekunden (fs)-Infrarotpektroskopie) abdeckt.

Eine zweidimensionale (globale) Anpassung läßt sich in einfacher Weise auf eine eindimensionale zurückführen.¹³⁷ In dieser Arbeit handelt es sich um Absorptionsänderungen, die von der Zeit und der Wellenzahl des Probelasers abhängen und in Kinetiken¹³⁸ strukturiert sind. Bildet man in Gedanken eine Kette aus diesen Kinetiken, dann muß nur zusätzlicher Verwaltungsaufwand geleistet werden, um die eindimensionale Anpassungsroutine aus den "Numerical recipes in C" anwenden zu können. Der zusätzliche Aufwand läßt sich auf die richtige Zuordnung der Probewellenzahl reduzieren, die der Modellfunktion zu jedem Zeitpunkt bekannt sein muß.

Zur Analyse und Auswertung einer Kinetik gehören eine Autokorrelation der Ti:Sa-Femtosekunden-Laserpulse, eine Kreuzkorrelation der Anregungspulse mit den Ti:Sa-fs-Laserpulsen, eine Silicium-Kinetik, um den Nullpunkt festzulegen und eine Amplitudenkinetik mit dazugehöriger Anregungsleistung zur Amplitudenbestimmung. Die globale Simulationsfunktion

¹³³ Jede Verzögerungsposition wird unabhängig von der vorherigen Position des Schrittmotors von der gleichen Seite angefahren.

¹³⁴ Unter einem n-dimensionalen Anpassung sei die Minimierung der Summe der Abstandsquadrate einer von den Variablen x_1, \dots, x_n und den Parametern P_1, \dots, P_k abhängigen Funktion $f(x_1, \dots, x_n, P_1, \dots, P_k)$ und den dazugehörigen Meßpunkten $(y_r, x_{1,r}, \dots, x_{n,r})$ zu verstehen.

¹³⁵ Press W.P. et al, *Numerical recipes in C*, Cambridge University Press 1995, 2. Aufl.

Im Kapitel 4.3 "Romberg integration" auf Seite 140 hat sich im Programmtext ein Fehler eingeschlichen. Die dritte Programmzeile "#define JMAX 20" ist durch "#define JMAX 15" zu ersetzen.

¹³⁶ Press W.H. et al., *Numerical recipes in C*, Cambridge University Press 1995, 2. Aufl., 683 ff

¹³⁷ Für nützliche Hinweise sei Peter Hamm an dieser Stelle gedankt.

¹³⁸ Eine Kinetik faßt alle zeitabhängigen Absorptionsänderungen die zu einer Probewellenzahl gehören zusammen.

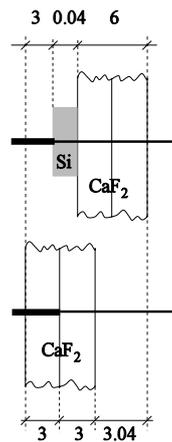


Abbildung 45: Skizze, zur Korrektur des ersten und aus einem Siliciumexperiment gewonnenen zeitlichen Nullpunktes. Oben ist die Seitenansicht eines Schnitts durch die Probenanordnung im Fall eines Siliciumexperimentes und unten im Fall eines Bakteriorhodopsinexperimentes dargestellt. Der waagrecht dicke Strich symbolisiert den grünen Anregungspuls, der dünnere den quasi kontinuierlichen Infrarotlaserstrahl. Die Zahlenangaben erfolgen in Millimeter.

benötigt eine effektive "gate"-Pulsbreite¹³⁹ und die Pulsbreite der Anregungspulse. Der Zeitnullpunkt der Kinetik muß geeicht und die Amplitude korrigiert werden. Letzteres ist notwendig, weil die Signalamplitude selbst bei einer festgelegten Wellenzahl von Probe zu Probe verschieden und abhängig von der Bestrahlungszeit ist.

Aus einer Anpassung der Autokorrelation erhält man die Ti:Sa-Femtosekunden-Laserpulsbreite, die in die Kreuzkorrelation eingeht, um die gesuchte Anregungspulsbreite zu ermitteln. Eine Anpassung an die Siliciumkinetik führt unter Verwendung der Anregungspulsbreite zu der ebenfalls gesuchten effektiven "gate"-Pulsbreite und einem ersten Zeitnullpunkt.

Um den eigentlichen Zeitnullpunkt ermitteln zu können, muß die unterschiedliche Laufzeit der Pulse beim Silicium- und beim Bakteriorhodopsin-Experiment beachtet werden. Unter Berücksichtigung von Abbildung 45, den Brechungsindices¹⁴⁰ $n_{Luft}(6.5\mu) \equiv 1.0$, $n_{Luft}(550\text{ nm}) = 1.0002771$, $n_{Si}(6.5\mu) = 3.41963$, $n_{CaF_2}(6.5\mu) = 1.37784$, $n_{CaF_2}(540\text{ nm}) = 1.43512$, und den Ableitungen $dn_{CaF_2}/d\lambda(540\text{ nm}) = -0.0302\ \mu\text{m}^{-1}$, $dn_{CaF_2}/d\lambda(6.5\mu) = -0.0163\ \mu\text{m}^{-1}$, $dn_{Si}/d\lambda(6.5\mu) = -0.0012\ \mu\text{m}^{-1}$ gilt:

<i>Si:</i>	<i>BR</i>
<i>3 mm Pumpuls in Luft: 10.00 ps</i>	<i>3 mm Pumpuls in CaF₂: 14.53ps; $v_g=v_p \cdot 0.9886$</i>
<i>40 μm IR-Puls in Si: 0.46 ps; $v_g=v_p \cdot 0.9978$</i>	<i>3 mm IR-Puls in CaF₂: 14.93ps</i>
<i>6 mm IR-Puls in CaF₂: 29.87 ps; $v_g=v_p \cdot 0.9231$</i>	<i>3.04 mm IR-Puls in Luft: 10.14ps</i>
<i>Σ: 40.33 ps</i>	<i>Σ: 39.6 ps</i>

$$\rightarrow 0_{BR} = 0_{Si} + 0.73\text{ ps.}$$

¹³⁹ Die Pulsbreitenangaben beziehen sich immer auf FWHM einer Gaußschen Form. Die Gruppengeschwindigkeitsdispersion für die am "gate"-Prozeß beteiligten Infrarotstrahlung (6.5 μm) und des im nahen Infrarotbereich liegenden "gate"-Pulses (790 nm) führen dazu, daß der "gate"-Puls im Kristall über einen Zeitbereich mittelt, der größer als seine Pulsbreite ist. Dieses Phänomen wird durch eine effektive Pulsbreite berücksichtigt.

¹⁴⁰ Brechungsindex für Luft aus Weast R.C. et al, *CRC handbook of chemistry and physics*, 63. Aufl., CRC-Press 1982, E-379. Die restlichen Brechungsindexdaten aus Dietrich P., *Refractn: A Program for Dispersion of optical materials*, Version 96.12.19

Die Gruppengeschwindigkeit v_g läßt sich aus der Phasengeschwindigkeit v_p nach:

$$\begin{aligned} v_g &\equiv \frac{d\omega}{dk}; \quad v_p \equiv \frac{c}{n}; \quad kc = \omega n \\ \Rightarrow v_g &= v_p \left(1 + \frac{\lambda}{n} \frac{dn}{d\lambda} \right) \end{aligned} \quad (100)$$

bestimmen. Ein Vergleich der berechneten Verschiebung mit der gemessenen Verschiebung von 0.94 ps, die an Hand der Bleichsignale abgeleitet werden kann, ergibt im Rahmen der Meßgenauigkeit eine gute Übereinstimmung. Die gemessene Verschiebung (0.94 ps) wurde schließlich als Nullpunktkorrektur berücksichtigt.

Zur Festlegung der Amplitude bei einer beliebigen Wellenzahl X werden drei Kinetiken mit einer minimalen Anzahl von Zeitpunkten in der Reihenfolge N, X, N benötigt. N ist dabei die Normwellenzahl (hier 1533 cm^{-1}) auf die sich die Amplitudennormierung bezieht. Zusätzlich wird vor und nach jeder Kinetik die Anregungsleistung gemessen. Der gemittelte Wert wird auf eine Normleistung von 500 nJ bezogen und führt zu einer Korrektur der Amplituden der drei Kinetiken N, X, N . Die Amplituden der Kinetiken bei der Normwellenzahl werden gemittelt und auf eine Normamplitude von 5 mOD bezogen. Der so gewonnene Korrekturfaktor wird mit der Amplitude der Kinetik X multipliziert. Das ist dann die zur Wellenzahl X gesuchte Amplitude. Liegen mehrere Kinetiken zu einer Wellenzahl vor, dann wurden sie auf ihre Amplitude normiert und gemittelt.

3.4 Die Infrarot-Justierhilfe

Infrarotstrahlung liegt außerhalb des sichtbaren Bereiches und macht deshalb Hilfsmittel zur Strahljustage notwendig. Bei einer Leistung von 10 mW und kontinuierlicher Laserstrahlung kann man in diesem Spektralbereich temperaturempfindliches Flüssigkeitskristallpapier verwenden (Edmund Scientific Co¹⁴¹, 20-25°C), das eine Temperaturänderung durch einen Farbumschlag anzeigt. Der Nachteil besteht in einer sehr schnellen Sättigung des Prozesses, die zu einer Unempfindlichkeit für Infrarotstrahlung führt. Dieser Prozeß kann durch Kühlung rückgängig gemacht werden.

Damit bietet sich folgende technische Lösung an. Flüssigkeitskristallpapier wird mit einer Wärmeleitpaste in thermischen Kontakt mit einem Peltierelement (Peltron GmbH, PKE 72 A0021, $Q_{\text{max}} = 25 \text{ W}$) gebracht, das den nötigen Strom aus einem einfachen Labornetzgerät (Votcraft TNG 235) bezieht. Die vom Papier absorbierte Energie wird auf diese Art und Weise aktiv einem ebenfalls mit dem Peltierelement in thermischen Kontakt stehenden Kühlkörper aus Kupfer zugeführt und schließlich an die Umgebungsluft abgegeben. Eine Sättigung tritt dann nicht mehr auf.

Die Infrarot-Justierhilfe hat sich bei der Justage des Strahlenganges, insbesondere beim Überlagern vom CO- ($6.6 \mu\text{m}$) mit dem Ti:Sa- (790 nm) Laserstrahl, zum Zweck der Summenfrequenzbildung bestens bewährt. In begrenztem Maße läßt sich auch die transversale Mode sichtbar machen.

¹⁴¹ Edmund Scientific Co, 101 E. Gloucester Pike, Barrington NJ08007-1380, Fon: 001 609 573-6250, Fax: 001 609 573-6295 (6882)

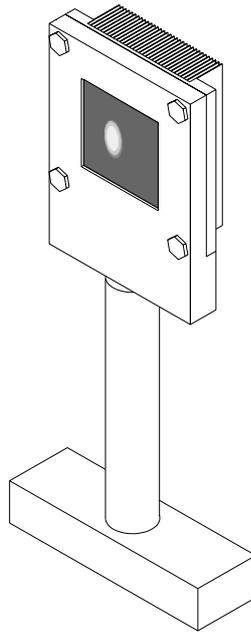


Abbildung 46: Skizze der Infrarot-Justierhilfe.

Verwendet man kein Flüssigkeitskristallpapier mit einem linearen, sondern einem logarithmischen Temperatur-Farbverlauf, dann sollten auch höhere transversale Moden des Infrarotstrahles in ihrer ganzen strukturellen Vielfalt sichtbar werden.

3.5 Probenpräparation und Probencharakterisierung

Bakteriorhodopsin (BR) in Purpormembran-"patches"¹⁴² vom Stamm ET1001 wurde als $\text{H}_2\text{O}/\text{NaN}_3$ -Suspension ($\text{pH} = 7$) von Frau Wallat¹⁴³ zur Verfügung gestellt. Die Herstellung erfolgt nach einem geringfügig modifizierten Verfahren von Oesterhelt.¹⁴⁴ Der Lösung wurde VE-Wasser zugefügt oder nach dem Zentrifugieren überschüssiges Wasser entnommen, um eine optische Dichte von $OD = 0.67$ (570 nm, 200 μm) zu erhalten. Anschließendes Homogenisieren (30 s) und kurzzeitiges Zentrifugieren (10 s) führt zu einem Verschwinden vorhandener Luftblasen und Bakteriorhodopsinklumpen aus dem Volumen der Lösung. Eine mit Aceton und Wasser gereinigte Spezialküvette wird dann für 2 min bei mittlerer Intensität in einen Plasmareiniger (Starna PDC-32G-2) gelegt. Die Oberfläche wird dadurch hydrophil und schafft die Voraussetzung für einen gleichmäßigen Probenauftrag. Zu diesem Zweck wurde die Spezialküvette auf einen lotrecht ausgerichteten Halter gelegt, der sich in langsame Rotation versetzen läßt (Elektromotor von Faulhaber mit Stirngetriebe 141:1, Rotationsfrequenz ca. 1Hz). Die anschließend aufgebracht 120 μl

¹⁴² Ein "patch" ist ein zusammenhängender zweidimensionaler Kristall, der aus Bakteriorhodopsinmolekülen und Lipiden besteht.

¹⁴³ Wallat I., Fachbereich Physik, Freie Universität Berlin; Konzentration von NaN_3 : 3 mM

¹⁴⁴ Osterhelt D., in Fleischer S. et al, *Biomembranes*, Meth. in Enzym. **31**, Academic Press (1974), 667

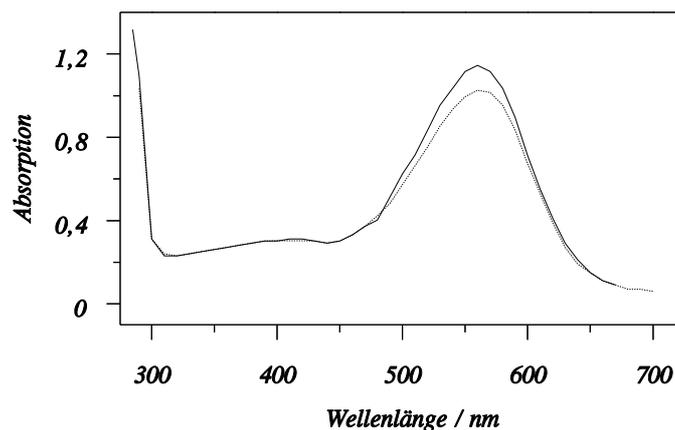


Abbildung 47: Optische Absorptionsspektren eines feuchten Bakteriorhodopsinfilmes auf CaF_2 vor (durchgezogene Linie) und nach (punktierte Linie) einem Subpikosekunden-Infrarot-Experiment. Die Spektren wurden mit einem Shimadzu UV-240 Spektrometer aufgenommen.

der Probe (\triangleq 3 mg reines Bakteriorhodopsin) mußten mit einer Eppendorfspitze unter langsamer Rotation innerhalb nur weniger Sekunden gleichmäßig verteilt werden. Es bildete sich ein homogener Film, mit einem geringen Gradienten der optischen Dichte in radialer Richtung, aus. Die Spezialküvette wurde daraufhin in den Probenhalter eingeführt und die Einheit in einen Handschuhkasten gestellt. Bei einer Luftfeuchtigkeit¹⁴⁵ von 97 %, die durch eine gesättigte K_2SO_4 -Lösung (Merck, Kaliumsulfat reinst) eingestellt wird, trocknete der Film über Nacht. Auch hier liegt der Probenhalter auf einer lotrecht ausrichtbaren Fläche auf. Am nächsten Tag kommt das Deckfenster in den Probenhalter. Das geschieht außerhalb des Handschuhkastens, weshalb die Probe eine weitere Nacht unverschlossen der hohen Luftfeuchtigkeit im Handschuhkasten ausgesetzt wird, bevor sie dann in dieser Umgebung geschlossen wird. Auf diese Weise soll ein Absinken des Feuchtigkeitsgehaltes der Probe vermieden werden. Als Ergebnis liegt schließlich ein nahezu homogener, feuchter Bakteriorhodopsinfilm mit einer optischen Dichte von $OD = 1$ (570 nm) und einem geringen Gradienten in radialer Richtung vor.

Die Güte jeder Probe wurde durch optische Spektren und Infrarotspektren überprüft und dokumentiert. Abbildung 47 zeigt zwei optische Spektren einer Probe vor (durchgezogene Linie) und nach (punktierte Linie) einem Subpikosekunden-Infrarotexperiment. Die Zahl der anregbaren Moleküle vermindert sich während des Experimentes. Aus diesem Grund ist die schon in Kapitel 3.3.3 beschriebene zeitaufwendige Normierung unerlässlich. Desweiteren wurde für jeden Experimentiertag eine frische Probe bereitgestellt.

Die Qualität der Präparationsmethode wurde zusätzlich durch Nanosekundenspektroskopie¹⁴⁶ geprüft. Der zeitliche Verlauf bei 410 nm ist dafür besonders gut geeignet. Bei dieser Wellenlänge absorbiert das M_{410} -Intermediat, welches spektroskopisch gut von den restlichen Intermediaten getrennt und mit der Deprotonierung der Schiffschen Base verbunden ist. Das Ergebnis der von

¹⁴⁵ Wexler A. et al, J. Res. Natl. B. Stds **53** (1954), 19

¹⁴⁶ Engel F., Diplomarbeit an der Freien Universität Berlin, 1989

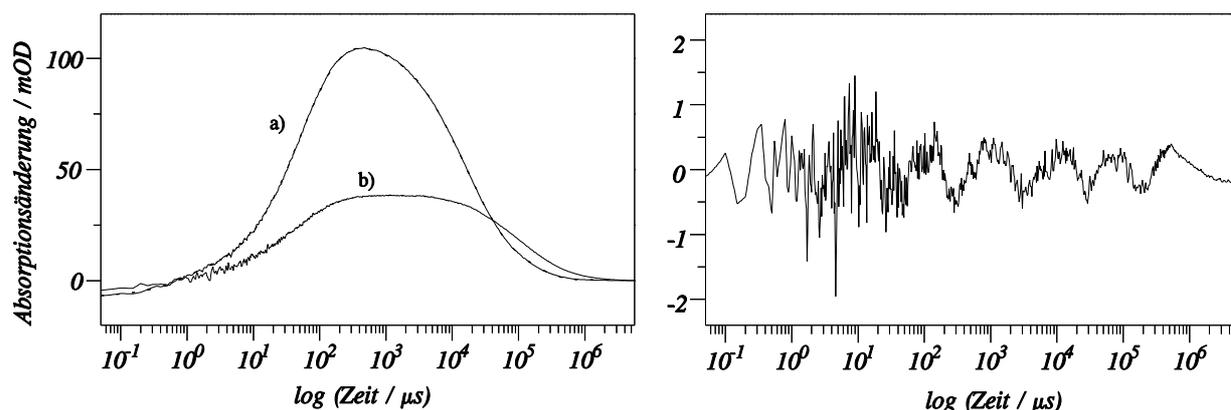


Abbildung 48: Zeitaufgelöste Differenzspektren des M -Intermediates bei 410 nm unterschiedlicher Bakteriorhodopsinfilme auf CaF_2 a) und b) (links). Auf der rechten Seite sind die Residuals einer Anpassung mit 6 Exponentialfunktionen an die Kurve a) dargestellt.

	Zeitkonst. f. Entstehung / μs			Zeitkonst. f. Zerfall / ms		
Probe a)	0.88 ± 0.02 (-1)	26.4 ± 0.6 (-4)	88 ± 1 (-7)	6.3 ± 0.2 (3)	24.9 ± 0.6 (6)	154 ± 3 (2)
Probe b)	1.1 ± 0.1 (-0.6)	16 ± 1.3 (-1)	92 ± 4 (-2)	41 ± 28 (0.5)	105 ± 28 (2)	549 ± 73 (1)

Tabelle 4: Zusammenfassung der Zeitkonstanten einer Anpassung von 6 Exponentialfunktionen an den experimentellen Kurvenverlauf obiger optischer Absorptionsänderungen des M_{410} -Intermediates von feuchten Bakteriorhodopsinfilmen auf CaF_2 . In Klammern wurden die Amplituden in Prozent vermerkt

Frau U. Alexiev¹⁴⁷ aufgenommenen Absorptionsänderungen zweier feuchter Bakteriorhodopsinfilme auf CaF_2 sind in den Abbildung 48 a) und b) zu sehen. Die Kurvenform wurde mit Hilfe von 6 Exponentialtermen der Art $A \cdot \exp(-t/\tau)$ angepaßt. Die für die Entstehung und den Zerfall von M_{410} so erhaltenen Zeitkonstanten sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Kurve a) zeigt einen, aus der Literatur¹⁴⁸ bekannten Verlauf, an Hand dessen auf einen Feuchtigkeitsgehalt von $\geq 94\%$ geschlossen werden kann. Die zweite, schon mehrere Wochen alte Probe weist kleine Risse auf. Der Kurvenverlauf (b) und das in Tabelle 4 zusammengefaßte Anpassungsergebnis zeigen, daß die Zeitkonstanten für den Zerfall deutlich länger sind. Der Feuchtigkeitsgehalt beträgt nun 50%. Die Funktionsfähigkeit der Probe kann als vermindert bezeichnet werden, weshalb Proben dieser Art vom Experiment ausgeschlossen wurden.

¹⁴⁷ Alexiev U., Fachbereich Physik, Freie Universität Berlin

¹⁴⁸ Tiedemann G.U., Dissertation an der Freien Universität Berlin, 1994

