

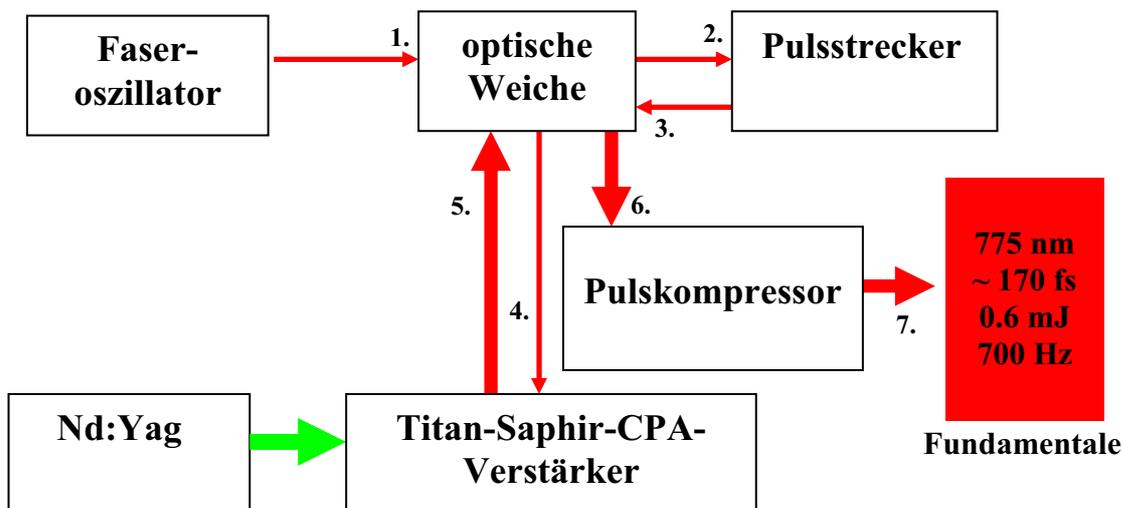
## **3 Messapparatur**

Zur zeitabhängigen Untersuchung der Schwingungsmoden im gesamten mittleren infraroten Spektralbereich zwischen 4000 nm ( $2500\text{ cm}^{-1}$ ) und 12000 nm ( $830\text{ cm}^{-1}$ ) wurde in dieser Arbeit ein Femtosekunden-Anrege-Abtast-Spektrometer verwendet. Die optischen Anregungspulse (Pump) und infraroten Abtastpulse (Probe) werden aus den 170 fs langen Pulsen des Titan-Saphir-Lasersystems erzeugt. Dabei müssen auch die Infrarotpulse eine vergleichbar kurze Dauer aufweisen, was man durch weitestgehende Vermeidung von nichtlinearen Einflüssen auf die Pulsdauer erreicht. Eine weitere notwendige Bedingung zur Messung der sehr kleinen IR-Differenzsignale ( $\sim 1\text{ mOD}$ ) ist eine hohe Intensitätsstabilität sowie der Infrarot- als auch der optischen Pulse.

Ausgangspunkt für die Erzeugung der Pump- und Probepulse sind Pulse aus einem Titan-Saphir-Lasersystem, die i. w. als *Fundamentale* bezeichnet werden. Die Pulse der Fundamentalen, deren Wellenlänge bei 775 nm liegt, haben eine Einzelpulsenergie von  $\sim 0.6\text{ mJ}$  bei einer Repetitionsrate von 700 Hz. Das Titan-Lasersystem ist modular aufgebaut und besteht aus folgenden Komponenten: Faseroszillator, Isolator (optische Weiche), Pulsstrecke, Nd:YAG-Laser, Titan-Saphir-CPA-Verstärker und Pulskompressor. Die Pulse aus dem Faseroszillator (Femtolute 780, Imra) dienen dem Titan-Saphir-CPA-Verstärker als *Seed* (vgl. Kapitel 2.2) und als Taktgeber, so dass ein verstärkter Puls mit der Repetitionsrate von 700 Hz ausgekoppelt wird. Die Faseroszillator-Pulse haben eine Wellenlänge von 775 nm bei einer Pulsdauer von 100 fs und einer Repetitionsrate von 50 MHz. Die Pulse des Faseroszillators werden über eine optische Weiche in den Pulsstrecke geleitet. Dort werden die Pulse durch ein Gitter auf eine Dauer von  $\sim 200\text{ ps}$  verlängert, damit es bei deren anschließenden Verstärkung im regenerativen Titan-Saphir-CPA-Verstärker nicht zu Zerstörungen des Titan-Saphirkristalls durch zu hohe Feldstärken kommt.

Der Titan-Saphir-CPA-Verstärker besteht aus einem Resonator. Auf den Titan-Saphirkristall treffen der Seedstrahl und der verstärkende Pumpstrahl aus einem multimode Nd:Yag-Laser (532 nm, 8 W bei 1 kHz Repetitionsrate). Der Seedpuls wird im Resonator nach mehreren Umläufen verstärkt und über eine Pockelszelle, die eine Drehung der Polarisationssebene des Seedpulses bewirkt, schließlich ausgekoppelt. Die verstärkten Pulse

müssen dann wieder komprimiert werden. Dazu werden sie in den Pulskompressor eingekoppelt, der die Pulse auf eine Länge von  $\sim 170$  fs verkürzt. Die Pulse der Fundamentalen weisen eine hohe Puls-zu-Puls-Stabilität auf, die im Bereich von 1 % liegt. In Abb. 3.1 ist das Titan-Saphir-Lasersystem dargestellt.

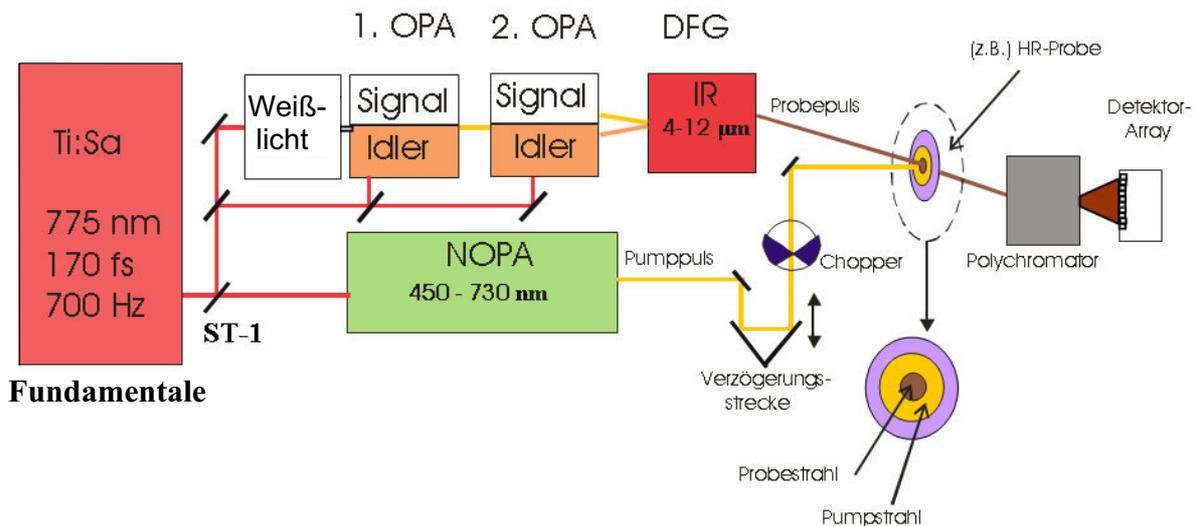


**Abbildung 3.1:** Titan-Saphir-Lasersystem (CPA 1000, CLARC). Die Pulse des Faseroszillators werden in einem Nd:Yag-Laser gepumpten Titan-Saphir-CPA-Verstärker verstärkt. Die durch den Pulsstreckter gechirpten und dadurch verlängerten Pulse werden über eine Pockelszelle ausgekoppelt. Sie werden dann in einem Kompressor wieder auf  $\sim 170$  fs verkürzt. Die Zahlen zeigen die zeitliche Abfolge an.

### 3.1 VIS-IR-Spektrometer

In diesem Kapitel werden die Erzeugung von Pump- und Probepuls und deren zeitliche und räumliche Überlagerung auf der Probe beschrieben. In Abb. 3.2 ist schematisch das VIS-IR-Spektrometer gezeigt. Die Pump- und Probepulserzeugung geschieht in zwei getrennten optischen Aufbauten. Man macht sich dabei die in Kapitel 2.2 beschriebenen OPA (IR) bzw.

NOVA-Prozesse und die Weißlichterzeugung zunutze. Dadurch erhält man über einen großen Frequenzbereich durchstimmbare Infrarot- bzw. optische Pulse.

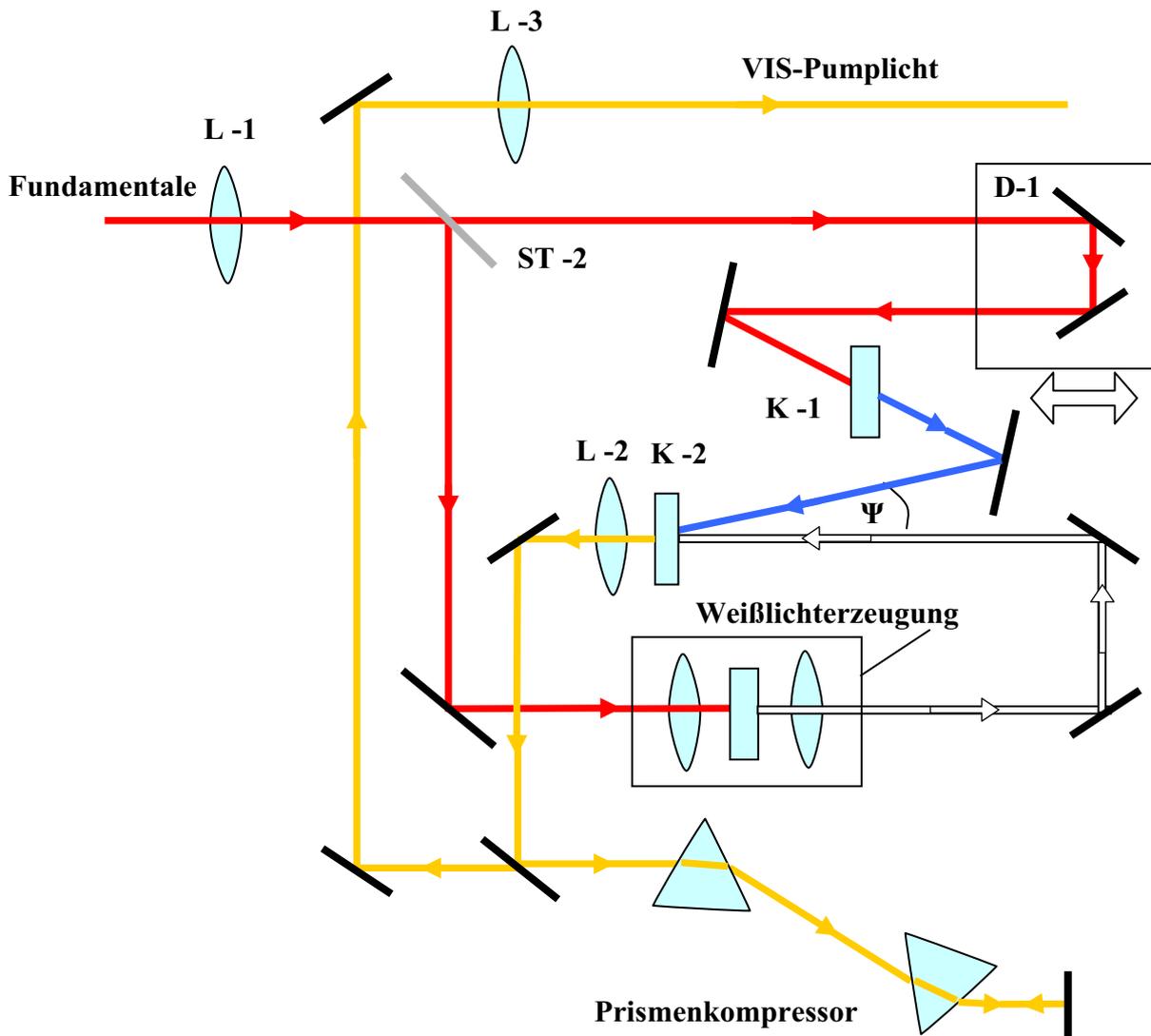


**Abbildung 3.2:** VIS-IR-Spektrometer. Die aus dem Titan-Saphir-CPA-Verstärker (Ti:Sa) kommenden Pulse der Fundamentale werden über einen zweistufigen OPA zu Infrarot-Probepulsen umgewandelt. In einem NOPA werden aus der Fundamentale Pumppulse im sichtbaren Frequenzbereich erzeugt. Der Pumpuls wird gegenüber dem Probepuls über eine Verzögerungsstrecke verzögert. In der Probenebene ist der Pumpuls räumlich und zeitlich überlagert mit dem Probepuls. Mit einem Detektorarray können bis zu zwanzig Wellenzahlen des Probepulses simultan gemessen werden. Die spektrale Breite der IR-Probepulse liegt bei  $\sim 100 \text{ cm}^{-1}$ .

### 3.1.1 Pumplichterzeugung: NOPA

Abb. 3.3 zeigt den NOPA-Aufbau zur Erzeugung der sichtbaren Anregungspulse. Am 50%-Strahlteiler ST-1 (siehe Abb. 3.2) werden  $300 \mu\text{J}$  des Fundamentalpulses durch die Linse L-1 ( $f = 100 \text{ cm}$ ) in die Pumplichterzeugung gelassen. Die Linse L-1 wird so aufgestellt, dass der Fokus der Verdoppelten ca.  $8 \text{ cm}$  hinter K-2 liegt. Von den  $300 \mu\text{J}$  werden  $100 \mu\text{J}$  für die Weißlichterzeugung in einem Saphirkristall verwendet.  $200 \mu\text{J}$  werden nach Durchlaufen der Delayline D-1 durch den negativ doppelbrechenden BBO-Kristall K-1 (Typ I,  $\Theta = 30^\circ$ ,  $500 \mu\text{m}$ ) frequenzverdoppelt. Das Weißlicht und die Verdoppelte ( $387 \text{ nm}$ ,  $40 \mu\text{J}$ ) werden im BBO-Kristall K-2 (Typ I,  $\Theta = 26^\circ$ ,  $2 \text{ mm}$ ) nichtkollinear unter einem

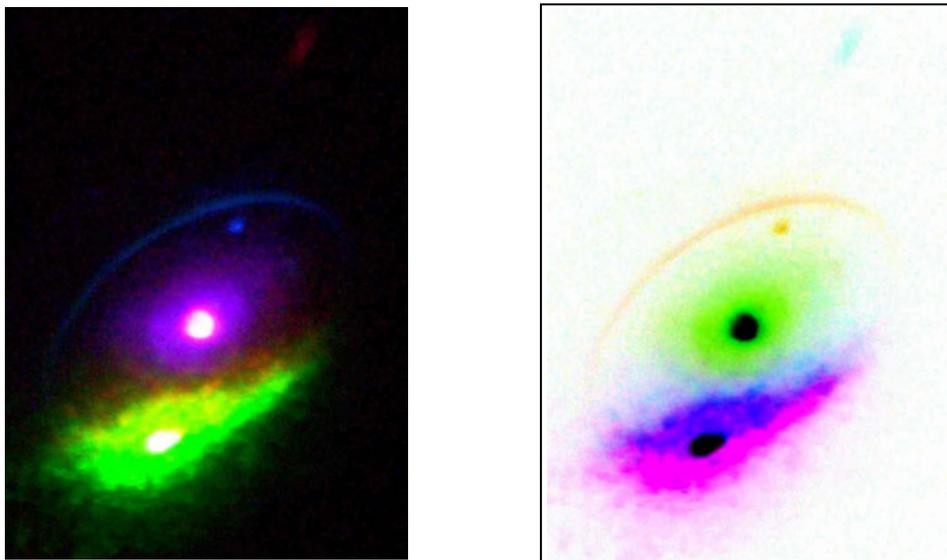
kleinen Winkel  $\Psi$  (siehe Kapitel 2.2.2) überlagert. Das Weißlicht dient als Seedstrahl und die Verdoppelte als Pumpstrahl für den NOPA. Der Weißlichtpuls weist einen chirp auf: Die roten Anteile des Weißlichtkontinuums eilen den blauen Anteilen voraus. Über die



**Abbildung 3.3:** NOPA-Aufbau zur Erzeugung der sichtbaren Anregungspulse (D-1: Delayline, Verdopplerkristall K-1: BBO (500  $\mu\text{m}$ ), NOPA-Kristall K-2: BBO (2 mm), ST-2: Strahlteiler (50%))

Delayline D-1 lässt sich somit die aus dem Weißlichtkontinuum zu verstärkende Wellenlänge auswählen. Über den Nichtkollinearitätswinkel  $\Psi$  optimiert man die Phasenanpassung

zwischen Seed- und Pumpstrahl. Damit ist eine effiziente Verstärkung für eine bestimmte Wellenlänge möglich. Für eine angestrebte Wellenlänge von z. B. 570 nm erreicht man bei einer Ausgangsenergie der Verdoppelten von  $\sim 40 \mu\text{J}$  eine Einzelpulsenergie von  $\sim 6 \mu\text{J}$  (15 % Effizienz). Der chirp des Weißlichtes überträgt sich auch auf den im NOPA erzeugten Signalpuls, was zu einer langen Pulsdauer von ca. 250 fs führt. Um die Gruppengeschwindigkeitsdispersion wieder auszugleichen, schickt man den erzeugten Strahl hinter dem NOPA durch einen Prismenkompressor (zwei SF10-Prismen). Im Prismenkompressor müssen die roten Wellenlängenanteile eine größere Strecke als die blauen Anteile zurücklegen. Die Phasendifferenz zwischen den einzelnen Spektralkomponenten des Pulses wird damit reduziert. Somit lassen sich prinzipiell Pulse erzeugen, die kürzer als 40 fs sind. In unseren Experimenten verwenden wir Pumppulse, die eine Länge von  $\sim 70$  fs haben. Der NOPA-Aufbau, so wie er in Abb. 3.3 skizziert ist, wurde auch wegen seiner Kompaktheit, der hohen Intensitätsstabilität, der guten Durchstimmbarkeit und der variablen Kompression verwendet. Der Pumpstrahl für unsere VIS-IR-Experimente wird durch die Linsen L-2 und L-3 auf einen Durchmesser von  $\sim 2$  mm kollimiert. Die Länge des

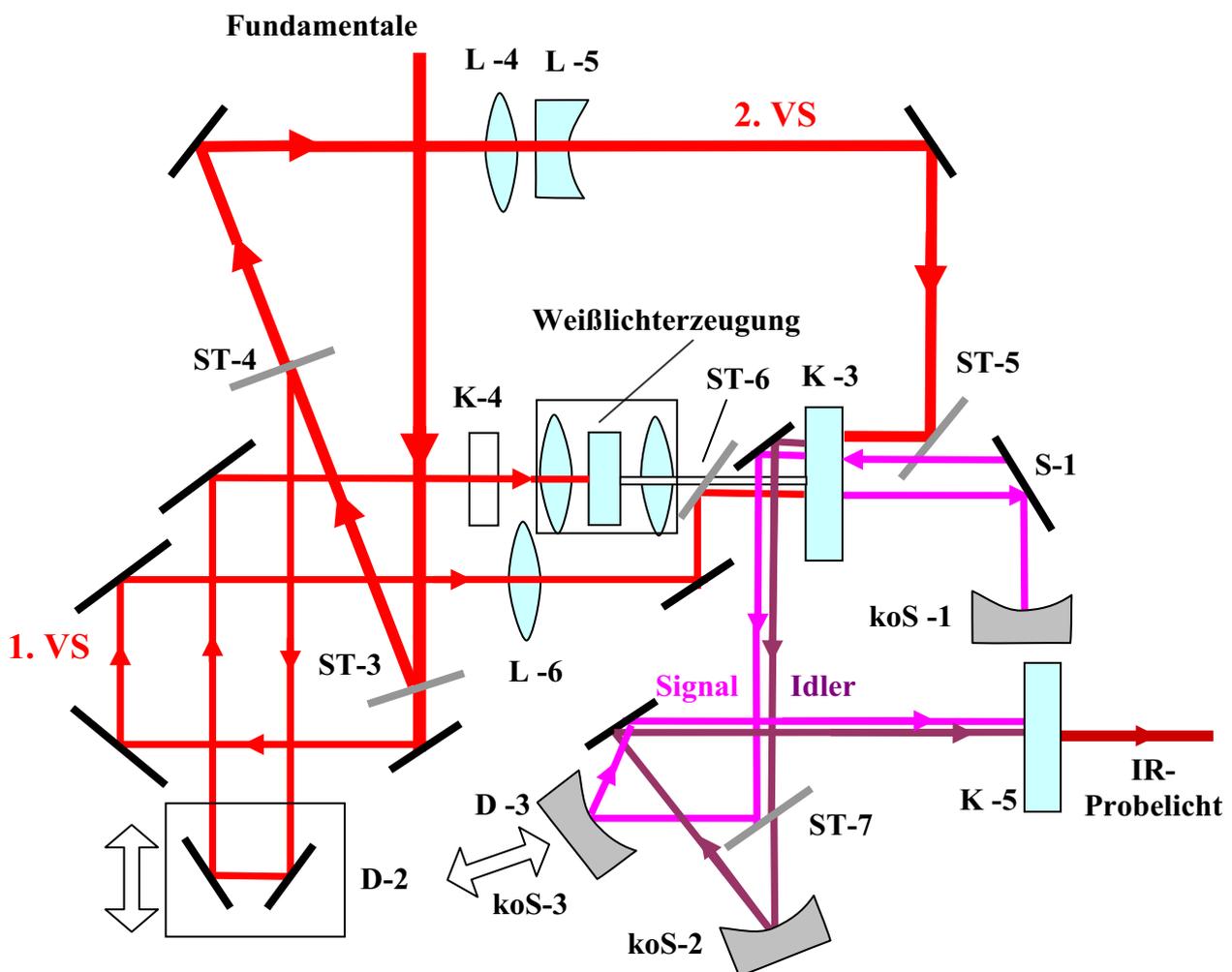


**Abbildung 3.4:** links: Bild des Strahlungsfeldes direkt hinter dem NOPA-Kristall auf einem Blatt Papier. Der weiße Spot im grünen Bereich ist der erzeugte Signalstrahl (Pumpstrahl für die VIS-IR-Experimente). Der weiße Spot in der Nähe der Mitte der Abbildung rührt vom Rest des Pumpstrahles aus dem NOPA-Prozess her. Rechts: Invertiertes linkes Bild: Die schwarzen Punkte sind die hellsten strahlenden Flächen auf dem Papier. Gut zu erkennen ist auch die Superfluoreszenz, die als kreisförmige Struktur vorliegt (gelber Kreisbogen).

Pumpulses wird mit einem Autokorrelator (Pulse Check, APE) gemessen. In Abb. 3.4

ist das Bild des Strahlungsfeldes direkt hinter dem NOPA-Kristall K-2 auf einem Schirm (Stück Papier) gezeigt. Der weiße Spot innerhalb des grünen Bereiches in Abb. 3.4/links ist der erzeugte Signalstrahl, und der zweite helle Punkt innerhalb der schwach zu erkennenden Kreisstruktur der Superfluoreszenz rührt vom Rest des Pumpstrahles aus dem NOPA-Prozess her. Da die Abbildung stark überstrahlt ist, wird sie in Abb. 3.4/rechts invertiert. Hier ist deutlicher der Spot vom erzeugten Signalstrahl (schwarzer Punkt unten auf der Kreisstruktur) zu erkennen. Auch sieht man in dieser Darstellung den Superfluoreszenzring besser (gelber Kreis).

### 3.1.2 Probelichterzeugung: Infrarot



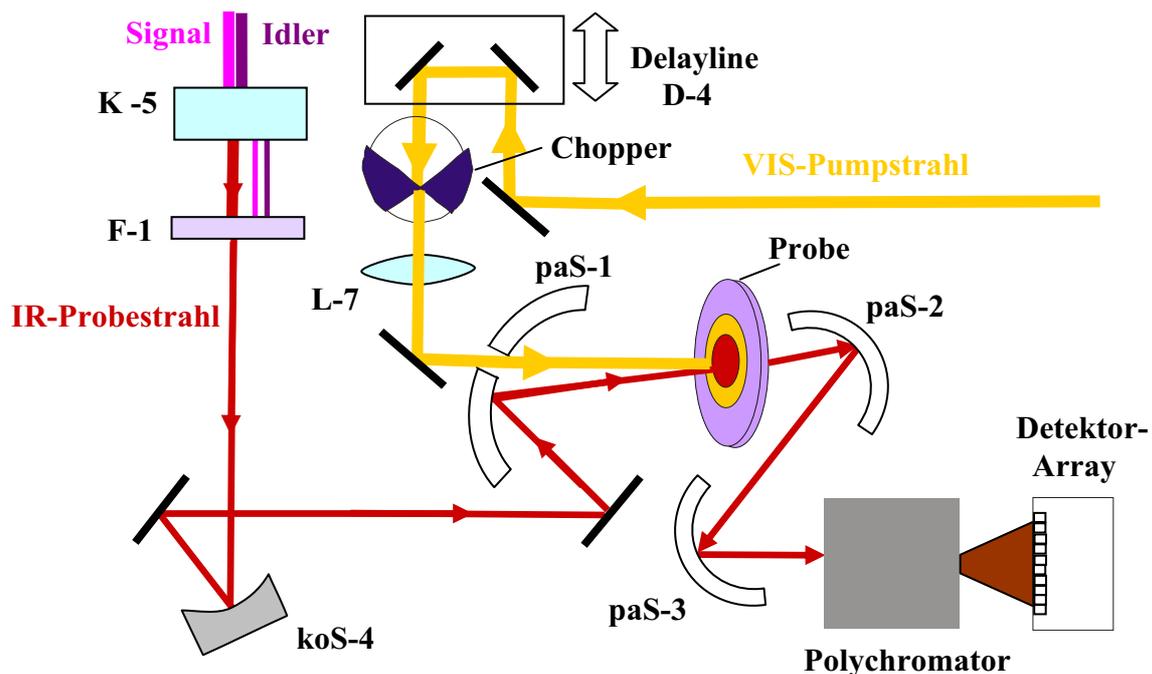
**Abbildung 3.5:** Aufbau zur Erzeugung des IR-Abtastpulses (VS: Verstärkungsstufe, koS: konkaver Spiegel, K-3: BBO-Kristall zur Erzeugung von Signal und Idler (beide im nahen IR), K-4:  $\lambda/2$ -Platte, K-5: AgGaS<sub>2</sub>-Kristall (erzeugt Differenzfrequenz von Signal und Idler → IR-Abtastpuls im mittleren infraroten Frequenzbereich (4-12  $\mu\text{m}$ )), S-1: dichrotischer Spiegel (koppelt Idler aus)).

Abb. 3.5 zeigt den Aufbau zur Erzeugung des IR-Probelichtes. Die IR-Erzeugung beruht auf einem zweistufigen OPA, wobei zunächst zwei Pulse im nahen infraroten Frequenzbereich erzeugt werden: Signal (1200 nm – 1500 nm) und Idler (1700 nm – 1900 nm). Die Differenzfrequenz der Signal- und Idlerpulse wird dann im AgGaS<sub>2</sub>-Kristall K-5 gebildet. Die erzeugte Differenzfrequenz liegt im mittleren Infrarot. Dieses Licht verwenden wir schließlich als Probelicht.

300 µJ der Fundamentalen werden für die IR-Erzeugung verwendet. Der Strahlteiler ST-3 lässt 20 % der 300 µJ in die erste und 80 % in die zweite Verstärkungsstufe gehen. Die Energie der Pumpstrahlen aus den beiden Verstärkungsstufen ist gerade so groß, dass im BBO-Kristall K-3 kein Weißlicht entsteht. Der Pumpstrahl für die erste Verstärkungsstufe wird mit der Linse L-6 ( $f = 50$  cm) in K-3 fokussiert: Die Einzelpulsenergie vor K-3 wird mit Hilfe eines Neutralsdichtefilters auf 3 µJ - 6 µJ eingestellt. K-3 ist ein 5 mm dicker BBO-Kristall vom Typ II. Neben dem Vorteil der breitbandigen Verstärkung haben die BBO-Kristalle auch eine sehr hohe Zerstörungsschwelle  $> 50$  GW/cm<sup>2</sup>. Durch den 4 %-Strahlteiler ST-4 wird nur wenig Energie für die Weißlichterzeugung abgezweigt. Zur Weißlichterzeugung wird dieser Strahl in ein 2 mm dickes Saphirplättchen fokussiert. Das Weißlicht dient als Seedstrahl zur effizienten Erzeugung von Signal und Idler im OPA-Prozess. Durch eine plankonvexe Linse ( $f = 10$  cm) wird das Weißlicht in den Kristall K-3 fokussiert. Der Pumpuls aus der ersten Verstärkungsstufe wird kollinear mit dem Weißlichtpuls im K-3 zeitlich und räumlich überlagert. Mit der Delayline D-2 stellt man dabei die zeitliche Verzögerung zwischen den beiden Pulsen ein. Durch die Überlagerung von Seed- und Pumpstrahl aus der ersten Stufe entstehen im K-3 unter einem Phasenanpassungswinkel  $\Theta = 37^\circ$  Signalwelle (1200 cm<sup>-1</sup> – 1500 cm<sup>-1</sup>) und Idlerwelle (1700 cm<sup>-1</sup> – 1900 cm<sup>-1</sup>). Die Signalwelle wird durch den konkaven Spiegel koS-1 ( $f = 50$  cm) kollimiert und zur weiteren Verstärkung wieder auf den Kristall K-3 gelenkt. Der Idler wird durch den dichroitischen Spiegel S-1 ausgekoppelt. Nur der Signalstrahl soll als Seed für die zweite Verstärkungsstufe fungieren. Der Signalstrahl trifft im K-3 kollinear mit dem Pumpstrahl aus der zweiten Verstärkungsstufe zusammen. Der Durchmesser dieses Pumpstrahls wurde zuvor durch ein Teleskop von 8 auf 2 mm verkleinert. Die Einzelpulsenergie beträgt  $\sim 150$  µJ. Das Ergebnis des zweiten OPA-Prozesses sind eine Signal- und Idlerwelle mit jeweils  $\sim 15$  µJ Einzelpulsenergie. Durch den Strahlteiler ST-6 wird die restliche Pumpstrahlenergie (@ 775 nm) aus Signal- und Idlerwelle herausgefiltert (nicht in Abb. 3.5 mit eingezeichnet).

Über einen Spiegel werden Signal und Idler auf den Strahlteiler ST-7 geleitet. ST-7 (dichroitischer Spiegel HR: 1200 nm–1500 nm; HT: 1600 nm–2000 nm) ist hochreflektierend für den Signalstrahl und hochtransmittiv für den Idlerstrahl. Signal und Idler werden zur Differenzfrequenzerzeugung im AgGaS<sub>2</sub>- Kristall K-5 (Typ I,  $\Theta = 52^\circ$ , 2 mm) räumlich und zeitlich überlagert. Über die Delayline D-3 (koS-3) kann die Laufzeitdifferenz zwischen Signal- und Idlerpuls ausgeglichen werden. Die konkaven Spiegel koS-2 und koS-3 haben jeweils eine Brennweite von 50 cm. Signal- und Idlerstrahl treffen kollinear und fokussiert auf den Kristall K-5. Aus ihnen erzeugt K-5 IR-Pulse zwischen  $830\text{ cm}^{-1}$  und  $2500\text{ cm}^{-1}$  mit einer spektralen Breite von  $\sim 100\text{ cm}^{-1}$ . Die IR-Einzelpulsenergie beträgt  $\sim 1\text{ }\mu\text{J}$ .

### 3.1.3 Überlagerung von Pump- und Probepuls auf der Probe



**Abbildung 3.6:** Probenbereich. Der optische Pumpuls und der infrarote Probepuls werden auf der Probe räumlich und zeitlich überlagert. Das Probelicht wird hinter der Probe in einen Polychromator weitergelenkt. Das IR-Probelicht trifft auf das mit Stickstoff gekühlte Detektor-Array (F-1: Langpassfilter (cut on:  $2.4\text{ }\mu\text{m}$ ), paS: Parabolspiegel ( $f=12\text{ cm}$ , Off-Axis-Typ)).

In Abb. 3.6 ist der Strahlengang für Pump- und Probestrahl im Probenbereich skizziert. Hinter dem Kristall K-5 werden durch den Langpassfilter F-1 (cut on:  $2.4\text{ }\mu\text{m}$ ) der Signal-

und Idlerstrahl herausgefiltert. Der Filter lässt nur das IR-Problicht im mittleren infraroten Frequenzbereich hindurch. Durch den Konkavspiegel koS-4 ( $f=30\text{ cm}$ ) wird der IR-Probstrahl kollimiert, so dass er auf dem Parabolspiegel paS-1 einen Durchmesser von  $\sim 7\text{ mm}$  hat. Man strebt einen derart großen Durchmesser des langwelligen IR-Probstrahles ( $\lambda_{probe} \approx 10 \cdot \lambda_{pump}$ ) an, damit bei der anschließenden Fokussierung desselben durch paS-1 der Durchmesser seines Fokus in der Probenebene idealerweise kleiner wird als der Durchmesser des Fokus des Pumpstrahles<sup>1</sup>. Wäre der Pump-Fokus deutlich kleiner als der Probefokus, so würde sich bei den IR-Differenzsignalen das Signal-zu-Rausch-Verhältnis verschlechtern, denn in diesem Fall tastete man ungepumptes Probvolumen ab. Der durch L-7 ( $f=20\text{ cm}$ ) fokussierte Pumpstrahl geht durch ein Loch (3 mm) im Parabolspiegel paS-1.

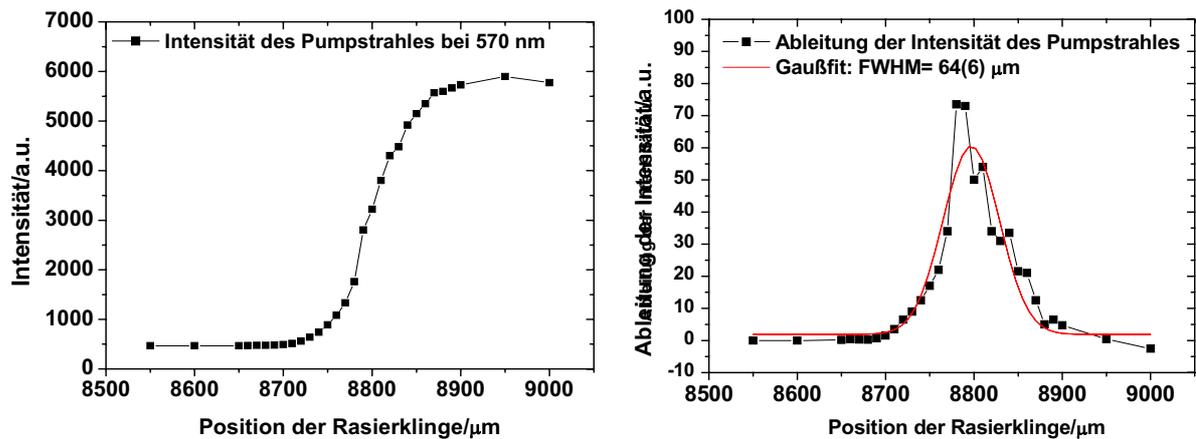
Zur Justierung des Infrarotstrahles werden F-1 und K-5 entfernt. Für K-5 wird ein Summenfrequenzkristall eingesetzt. Dieser erzeugt effektiv sowohl die Summenfrequenz von Signal und Idler als auch deren Verdoppelten und die Verdoppelte der Summenfrequenz. Mit Hilfe der Verdoppelten des Signalpulses wird der Strahl justiert. Da Signal und Idler vor K-5 koaxial verlaufen, sind die zweiten Harmonischen und der IR-Probstrahl hinter K-5 auch koaxial. Daher ist die Richtung der Verdoppelten gleich der Richtung des durch K-5 erzeugten IR-Probstrahls.

#### **Durchmesser von Pump- und Probefokus in der Probenebene**

Um eine Abschätzung für die Durchmesser der Foki von Pump- und Probstrahl in der Probenebene zu bekommen, wurde die so genannte „Rasierklingen-Methode“ angewendet [Arnaud1971]. Der Laserstrahl wird dabei im Fokus nach und nach mit einer Rasierklinge abgedeckt. Das Integral über die Lichtintensität im Fokus wird in Abhängigkeit von der Rasierklingenposition gemessen. In Abb. 3.7 ist das Ergebnis der Rasierklingen-Methode für den Pumpstrahl gezeigt. Abb. 3.7/links gibt die gemessene integrale Intensität über den Fokus des Pumpstrahles (bei 570 nm) in Abhängigkeit der Position der Rasierklinge wieder. Abb.3.7/rechts ist die Ableitung der Kurve in Abb. 3.7/links nach der Position der Rasierklinge. Die Ableitung wurde zur Abschätzung des Spotdurchmessers mit einer Gaußkurve angefitet, deren Halbwertsbreite  $64(6)\text{ }\mu\text{m}$  beträgt. Die gleiche Messung wurde auch für den Fokus des IR-Probstrahles durchgeführt. Die Frequenz des Problichtes lag bei

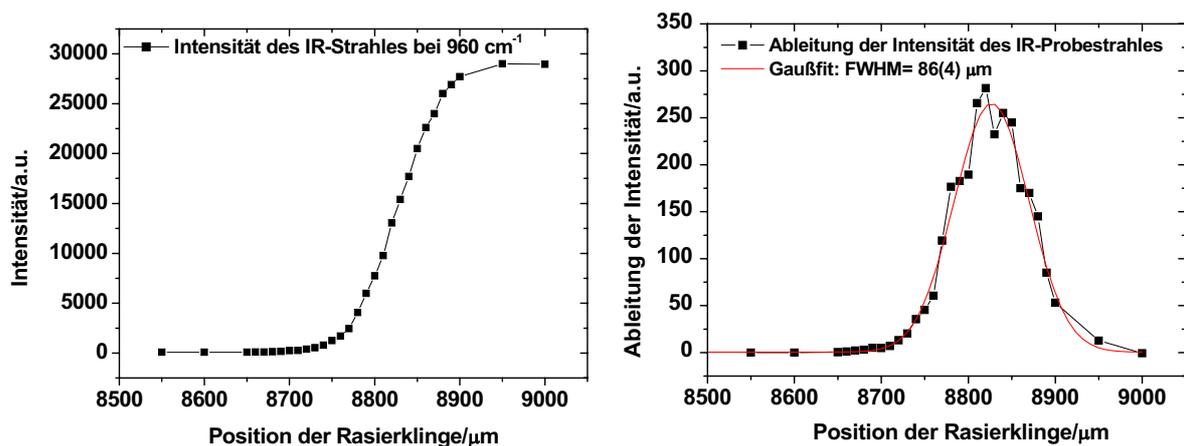
---

<sup>1</sup> Der Durchmesser des Fokus in der Probenebene ist proportional zu der Wellenlänge des Lichtes und umgekehrt proportional zum Durchmesser des Strahles vor der Fokussierung. Daher verspricht ein aufgeweiteter Strahl einen kleinen Fokusbereich. Der Infrarotstrahl muss aufgrund seiner großen Wellenlänge stark aufgeweitet werden.



**Abbildung 3.7:** Bestimmung des Spotdurchmessers des Pumpstrahles (570 nm) in der Probenebene mit der Rasierklingen-Methode. Links: gemessene Intensität in Abhängigkeit der Position der Rasierklinge. Rechts: Ableitung der linken Kurve nach der Position der Rasierklinge mit eingezeichnetem Gaußfit: FWHM= 64(6) μm.

$\sim 960 \text{ cm}^{-1}$ . Das Ergebnis der Messung ist in Abb. 3.8 dargestellt. Die Ableitung der Intensität nach der Position der Rasierklinge wurde wieder mit einer Gaußkurve angefitet. Die



**Abbildung 3.8:** Bestimmung des Spotdurchmessers des IR-Probestrabes ( $960 \text{ cm}^{-1}$ ) in der Probenebene mit der Rasierklingen-Methode. Links: gemessene Intensität in Abhängigkeit der Position der Rasierklinge. Rechts: Ableitung der linken Kurve nach der Position der Rasierklinge mit eingezeichnetem Gaußfit: FWHM= 86(4) μm.

Halbwertsbreite liegt bei  $86(4) \mu\text{m}$ . Der Durchmesser des Probestrahl-Fokus ist demnach etwas größer als der Durchmesser des Pumpstrahles in der Probenebene. Die Durchmesser sind aber dennoch von vergleichbarer Größe. Bedenkt man zusätzlich, dass das IR-Probeflicht in diesem Fall sehr niederenergetisch, also sehr langwellig war, so errechnet sich für höherenergetische, also kürzerwellige IR-Probestrahlung ein Durchmesser für den Fokus, der z. B. für  $1500 \text{ cm}^{-1}$  bei  $\sim 55 \mu\text{m}$  liegt. Dieser Wert ist etwas kleiner als der Fokusbereich des Pumpstrahles bei  $570 \text{ nm}$  ( $64(6) \mu\text{m}$ ).

Hinter der Probe wird der IR-Probestrahl durch den Parabolspiegel paS-2 wieder kollimiert. Der Brennpunkt des Parabolspiegels paS-3 liegt in der Ebene des Eintrittspaltes des Polychromators, so dass das Gitter (150 Striche/mm) des Polychromators (TRIAx 320, ISA) gut ausgeleuchtet ist und die Abbildung somit auf das Detektor-Array, das in der Austrittsebene des Polychromators steht, fokussiert wird. Das Gitter hat einen hohen Reflexionsgrad für eine Wellenlänge von  $6 \mu\text{m}$ . Die Dispersion ist konstant  $19.5 \text{ nm/mm}$  über den ganzen Wellenlängenbereich. Zwischen zwei benachbarten Detektorelementen, die einen Abstand von  $1 \text{ mm}$  haben, ist die Wellenlängendifferenz also stets  $19.5 \text{ nm}$ . Wenn man das Gitter in die „0 nm-Stellung“ bringt, so trifft die nullte Ordnung (alle Wellenlängen auf einmal) auf ein einzelnes Detektorelement. Dieses Detektorelement wird als das Zentralelement definiert. Wenn man nun den Polychromator auf eine bestimmte Wellenlänge einstellt, so liegt am Zentralelement genau diese Wellenlänge. Die Wellenlängen der anderen neun Detektorelemente ergeben sich relativ dazu über äquidistante Abstände von  $19.5 \text{ nm}$ .

Der Probenbereich ist mit Trockenluft zu spülen, um eine Verlängerung und Abschwächung der IR-Probepulse durch die Luftfeuchte der normalen Umgebungsluft zu verhindern.

#### **Zeitliche Überlagerung von Pump- und Probepuls in der Probenebene**

Wenn man den Pump- und Probepuls mit Hilfe eines *Pinholes*<sup>1</sup> räumlich in der Probenebene überlagert hat, müssen diese noch zeitlich überlagert werden. Über die Delayline D-4 (siehe Abb. 3.6) wird der Pumpimpuls gegenüber dem Probepuls verzögert. Die Delayline D-4 kann jede Position mit einer in eine Zeitdifferenz umgerechneten Genauigkeit von  $< 5 \text{ fs}$  wieder einnehmen. Ab dem 50%-Strahlteiler für die Fundamentale ST-1 (Abb. 3.2) sind die optischen Weglängen für den Probe- und Pumpzweig der Apparatur bis zur Probe ungefähr

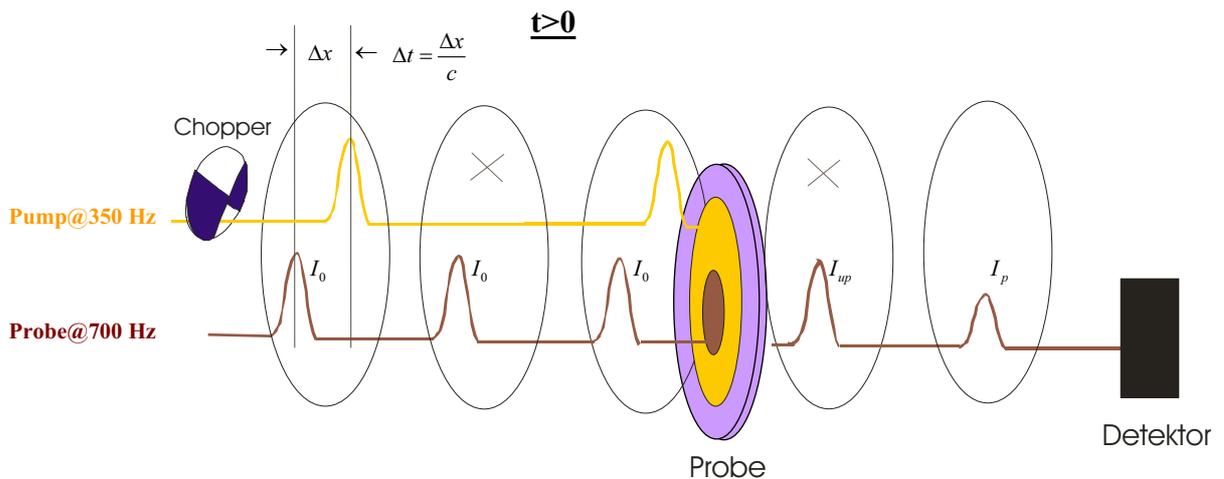
---

<sup>1</sup> Zuerst bringt man den IR-Probestrahl und dann den optischen Pumpstrahl durch das Pinhole ( $\sim 100 \mu\text{m}$ ).

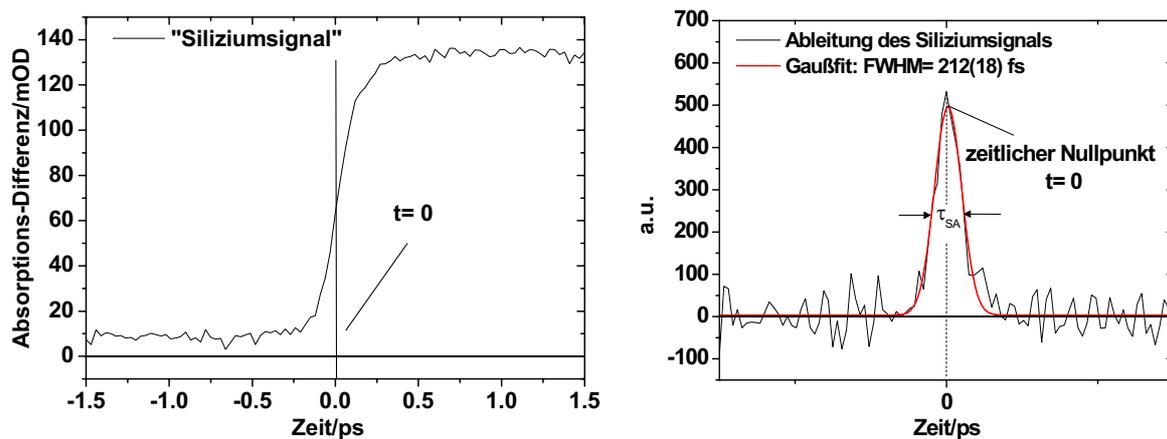
gleich lang. Treffen Pump- und Probepuls zum selben Zeitpunkt auf die Probe, wird dieser Stellung der Delayline D-4 der zeitliche Nullpunkt zugeordnet. Trifft der Pumpuls vor dem Probepuls auf die Probe, so ist die Verzögerungszeit als positiv definiert. Erreicht der Pumpuls erst nach dem Probepuls die Probe, so ist die Verzögerungszeit negativ. Zur Bestimmung des zeitlichen Nullpunktes verwenden wir ein Siliziumplättchen. Das Silizium hat eine breitbandige Absorption im sichtbaren Spektralbereich. Durch den Pumpuls werden an der Oberfläche des Siliziums instantan Elektronen gelöst und in das Leitungsband gehoben. Bis die Elektronen wieder ins Valenzband fallen, vergehen mehrere Nanosekunden, was verglichen mit der Länge der Pulse lang ist. Die Absorption des Siliziums ändert sich durch Photoanregung. Diese Änderung detektiert man mit dem Probepuls, der einmal die gepumpte und einmal die ungepumpte Probe transmittiert (siehe Kapitel 2.1.1). Erreicht der Probepuls deutlich vor dem Pumpuls die Probe (negative Verzögerungszeit), so ist das IR-Differenzsignal nahezu Null. Trifft der Probepuls nun später als der Pumpuls auf die Probe (positive Verzögerungszeit), so wirkt auf ihn die veränderte Absorption: Es wird ein IR-Differenzsignal gemessen. Zwischen positiven und negativen Verzögerungszeiten um den zeitlichen Nullpunkt herum gibt es einen Übergangsbereich für die IR-Differenzsignale. Das IR-Differenzsignal erscheint mit der Systemantwort, die sich aus der Pulslänge von Pump- und Probepuls gemäß Glg. (3.1) errechnet:

$$\tau_{SA} = \sqrt{\tau_{Pump}^2 + \tau_{Probe}^2} \quad (3.1)$$

Dabei ist  $\tau_{SA}$  die Systemantwort,  $\tau_{Pump}$  und  $\tau_{Probe}$  die Halbwertsbreiten des Pump- bzw. Probepulses, nimmt man einen zeitlich gaußförmigen Intensitätsverlauf der Pulse an. Abb. 3.9 zeigt das Prinzip der Pump(VIS)/Probe(IR)-Differenzspektroskopie, und Abb. 3.10 bildet das an einer Siliziumprobe gemessene IR-Differenzsignal ab. Man misst dabei in der nullten Ordnung des Polychromators. Nach Glg. (3.1) errechnet sich für die Systemantwort 212(18) fs bei einer Pulslänge des Pumpulses  $\tau_{Pump} = 70$  fs eine Pulslänge für den IR-Probepuls von  $\tau_{Probe} = 200(19)$  fs.



**Abbildung 3.9:** Prinzip der Pump(VIS)/Probe(IR)-Differenzspektroskopie (positive Verzögerungszeit:  $t > 0$ ). Der optische Pumpuls trifft mit der halben Repetitionsrate (350 Hz) zeitlich vor dem IR-Probepuls auf die Probe und verändert die IR-Absorption der Probe. Der Probestrahl hat eine Repetitionsrate von 700 Hz. Somit geht immer ein Probepuls durch die gepumpte („p“) und der folgende Probepuls durch eine ungepumpte („up“) Probe. Die Intensität des Probepulses, der die gepumpte Probe transmittiert, verändert sich wegen der durch den Pumpuls modifizierten IR-Absorption der Probe. Hier wird die Intensität des Probepulses ( $I_p$ ) gerade kleiner als bei einer ungepumpten Probe ( $I_{up}$ ) (zusätzlich in der Abbildung mit einem Kreuz markiert): Die gemessene IR-Absorptions-Differenz ist dann positiv. Die Detektion ist vereinfacht dargestellt.



**Abbildung 3.10:** Links: Transiente IR-Absorptions-Differenz eines Siliziumplättchens. Der Gaußfit der Ableitung des Siliziumsignals (rechts) liefert neben der Systemantwort (FWHM des Fits) auch den zeitlichen Nullpunkt (Position des Maximums des Gaußfits).

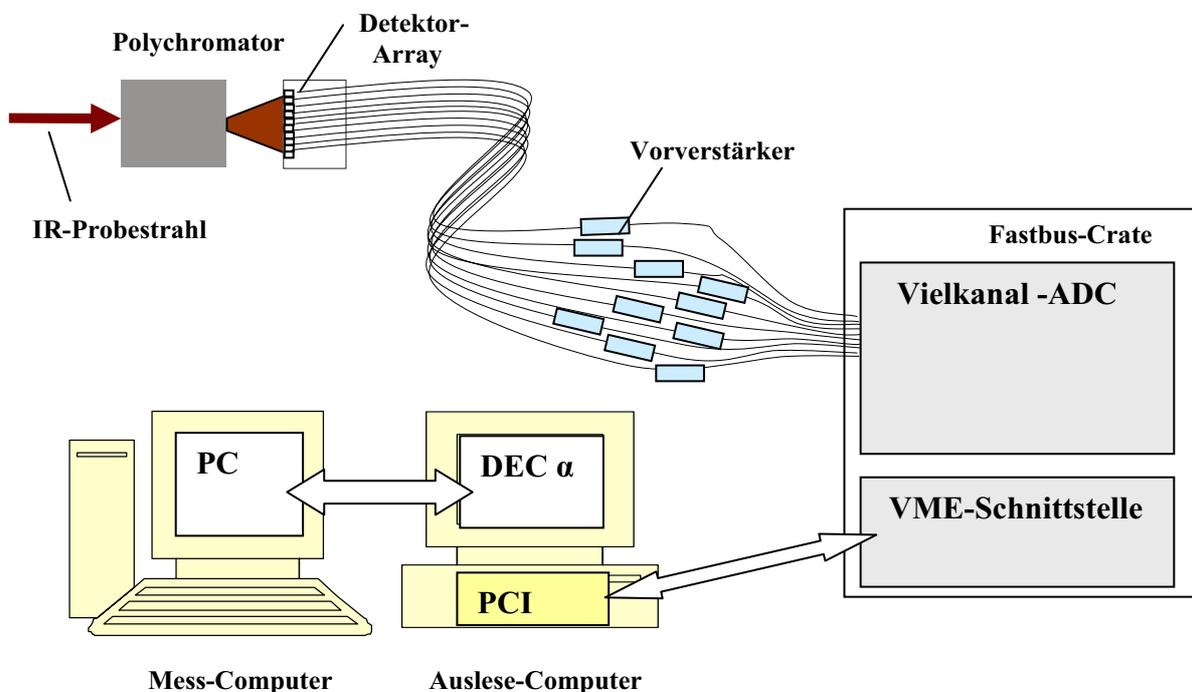
### **3.2 Aufnahme der Messdaten**

Im Polychromator wird der IR-Strahl spektral aufgeweitet und auf ein Detektor-Array, das aus zehn MCT-Detektorelementen (Mercury-Cadmium-Tellurid) besteht, abgebildet. Dadurch ist es möglich, die Infrarotsignale in zehn benachbarten Kanälen über einen breiten spektralen Bereich gleichzeitig zu messen, was eine enorme Zeitersparnis gegenüber der Messung mit nur einem Detektorelement darstellt. Durch den Chopper (siehe Abb. 3.2 und 3.6) wird die Repetitionsrate des Pumplichtes auf die Hälfte der Repetitionsrate des Probelichtes gebracht. Dadurch erhält man abwechselnd eine angeregte und nichtangeregte Probe, die der IR-Probepuls durchläuft. In [Heyne2000] und [Herbst2002/I] werden die Datenverarbeitung und die Software zur Vielkanaldetektion ausführlich beschrieben. Die Detektorelemente messen aufeinander folgend zu einer bestimmten Verzögerungszeit die Intensität des IR-Probepulses, der eine gepumpte Probe transmittiert hat,  $I_p$ , und die Intensität des IR-Probepulses, der eine ungepumpte Probe durchlief,  $I_{up}$ . Über eine Software auf Windows-Ebene (Harald Knipp) wird aus diesen Signalen nach Glg. (2.6) die Differenz der optischen Dichten zwischen gepumpter und ungepumpter Probe errechnet.

#### **Umwandlung von IR-Intensitäten in Differenzsignale**

Die MCT-Detektorelemente sind Photowiderstände. Die Detektorelemente sind an eine 5 V Gleichstromquelle angeschlossen. Trifft Licht auf ein Detektorelement, so sinkt dessen elektrischer Widerstand. Die Detektorelemente werden mit flüssigem Stickstoff gekühlt, um das Rauschen des MCT-Halbleiterelementes zu reduzieren und Wärmestrahlung aus der Umgebung zu verkleinern. Durch die Absorption von Photonen entsteht ein Detektorstrom, der proportional zur eingestrahlten Intensität ist. In Reihe zum Detektorwiderstand ist ein definierter, konstanter Widerstand geschaltet. An ihm wird die durch das Licht induzierte Spannungsänderung gemessen. Diese Spannung wird durch einen Vorverstärker 100-fach verstärkt. Mit der Verstärkung lässt sich der Dynamikbereich des Analog-Digital-Wandlers (ADC) voll ausnutzen. Ein Vielkanal-ADC (96 Kanäle,  $6 \cdot 12$  bit, Wandelzeit 265  $\mu$ s, LeCroy) nimmt die verstärkten analogen Signale aller Detektorelemente auf und wandelt sie in digitale Signale. Der LeRoy Vielkanal-ADC sitzt als Messkarte in einem Fastbus-Crate und

wird über ein Fastbus Interface (STR340, Struck) gesteuert. Der Vielkanal-ADC ist über eine VME-PCI-BUS-Schnittstelle mit dem Auslese-Computer (DEC alpha) verbunden. Ein Windows-PC dient als Mess-Computer. Von hier aus wird über eine Software das Messprogramm gestartet. Der PC steuert die Delayline an und fordert Daten vom Auslese-Computer an, die dann weiter zu Differenzsignalen verarbeitet werden<sup>1</sup>. Es können auch die absoluten Intensitäten der einzelnen Detektorelemente gemessen werden. Erreicht die Delayline eine bestimmte, durch das Messprogramm definierte Position, so wird der ADC ausgelesen. Die transienten Differenzsignale können online in mehreren Fenstern verfolgt werden. In Abb. 3.11 sind alle Komponenten zur Datenaufnahme dargestellt.



**Abbildung 3.11:** Simultane Aufnahme und Verarbeitung der Signale des Detektor-Arrays. Die von den Photowiderständen des Detektor-Arrays detektierten IR-Intensitäten werden, nachdem sie 100-fach durch die Vorverstärker verstärkt wurden, in einem Vielkanal-ADC in digitale Signale umgewandelt. Im Auslese-Computer (DEC alpha) werden diese Daten komplett gespeichert. Der Mess-Computer (handelsüblicher PC), der die Delayline zur Verzögerung des Pumpulses gegenüber dem Probestrahl ansteuert, fordert die Daten vom Auslese-Computer an und verarbeitet diese weiter zu IR-Differenzsignalen oder Absolutintensitäten.

<sup>1</sup> Die IR-Differenzsignale werden von der Software, z. B. alle 1000 Messungen, gemittelt.

### ***3.3 Präparation, Charakterisierung und Verwendung der Proben***

Um mit den Proben transiente IR-Schwingungsspektroskopie durchzuführen, müssen diese vor dem Experiment auf eine bestimmte Weise präpariert und charakterisiert werden.

#### **3.3.1 HR-Filme und bR-Filme**

Die bR-Stammlösung stammt aus dem MIB München (aus *Halobacterium Salinarum*, bR-Stamm: S9), die sHR-Stammlösung aus dem MPI für Biochemie in Martinsried (*Halobacterium Salinarum*-Stamm: D2). Die Herstellung der sHR-Stammlösung erfolgt nach dem durch Heymann et al. entwickelten Verfahren [Heymann1993]. Die Stammlösungen werden eine halbe Stunde bei 30000 Umdrehungen/min und 4 °C zentrifugiert. Die abzentrifugierten HR- bzw. bR-pallets werden dann, um natürliche Bedingungen für die Transmembranproteine herzustellen, in 15mM-KCl-Lösung gelöst. Der pH-Wert wird auf pH= 7 eingestellt und durch Zugabe von 1mM Puffer (Trispuffer) konstant gehalten. Die späteren Proben dürfen nur sehr wenig Wasser enthalten, da sonst durch die starke Wasserabsorption im infraroten Spektralbereich eine Messung unmöglich wäre. Andererseits darf der Wassergehalt auch nicht zu gering sein, denn die Funktion und Stabilität des Proteins benötigt einen gewissen Wasseranteil. Die Präparation der HR- bzw. bR-Filme muss diesbezüglich einen Kompromiss darstellen.

#### **Präparation der HR- und bR-Proben**

Für HR- und bR-Proben wurde die gleiche Präparationsmethode verwendet. Man trägt auf ein CaF<sub>2</sub>-Fenster, das eine sehr hohe optische Qualität aufweist, die hochkonzentrierte Probensuspension gleichmäßig über die ringförmige Substratfläche mit einem Durchmesser von 3.8 cm auf. CaF<sub>2</sub> oder auch BaF<sub>2</sub> (nur für Messungen bei  $\nu < 1000 \text{ cm}^{-1}$ ) sind optimale Fenstermaterialien. Diese noch sehr feuchte Probe lässt man ca. 12 Stunden in einer Atmosphäre mit einer Luftfeuchte von ~ 98 %. Nach der „Trocknungs“-zeit liegt ein nur ~ 8 µm dicker, hydratisierter Probenfilm auf CaF<sub>2</sub> vor, der in den zu untersuchenden Spektralbereichen (900 cm<sup>-1</sup> - 1700 cm<sup>-1</sup>) eine Transmission von > 10 % aufweist. Die optische Dichte der Probe sollte ca. 1 OD betragen. Das CaF<sub>2</sub>-Fenster hat die Form eines

Trog: Auf der ringförmigen Trogsenke befindet sich der Probenfilm, im Zentrum des Troges ist ein rundes Plateau, auf dem das Siliziumplättchen und das Pinhole befestigt werden. Der  $\text{CaF}_2$ -Trog wird mit einem 2 mm  $\text{CaF}_2$ -Deckfenster über einen eingefetteten Kunststoffspacer luftdicht verschlossen. Mit Hilfe des Pinholes wird der räumliche Überlapp von Pump- und Probestrahl in der Probenebene justiert. Das Siliziumplättchen wird in den Überlappbereich der Strahlen gebracht. Es wird dann das Siliziumsignal, wie in Kapitel 3.1.3 beschrieben, gemessen. Dadurch erhält man den zeitlichen Nullpunkt und die Systemantwort. Mit Hilfe des Siliziums kann auch der räumliche Überlapp von Pump- und Probestrahl weiter optimiert werden. In Abb. 3.12 ist eine präparierte HR-Probe gezeigt. Die zusammengesetzten  $\text{CaF}_2$ -Fenster werden in einem Metall-Probenhalter befestigt.



**Abbildung 3.12:** Zusammengebaute  $\text{CaF}_2$ -Fenster im Metall-Probenhalter. Auf den  $\text{CaF}_2$ -Trog wurde HR aufgetragen. Im Zentrum der Probe erkennt man das rechteckige Pinhole (rechts) und das Siliziumplättchen (links).

### Charakterisierung der HR- und bR-Proben

Zur Charakterisierung der Proben werden deren optische Absorptionsspektren und statische IR-Transmissionsspektren aufgenommen. Mit dem optischen Absorptionsspektrum lässt sich überprüfen, ob das Absorptionsmaximum der Proben den Vorgaben entspricht. HR sollte bei  $\sim 578$  nm und bR bei  $\sim 570$  nm absorbieren. Wird die Probe im Experiment für längere Zeit verwendet, muss die Position des Absorptionsmaximums immer wieder überprüft werden.

Die Probe „altert“ im Laufe ihrer experimentellen Lebenszeit (Kapitel 4.2.3). Dabei ändert sich auch die Position ihres Absorptionsmaximums. Ist die Verschiebung im Vergleich zum zuerst gemessenen Maximum größer als 3 nm, so wird die Probe nicht weiter verwendet. In Abb. 3.13 ist das optische Absorptionsspektrum einer neu präparierten HR-Probe (links) und bR-Probe (rechts) abgebildet. Das gemessene Absorptionsmaximum liegt für HR bei  $\sim 577$  nm und für bR bei  $\sim 570$  nm.

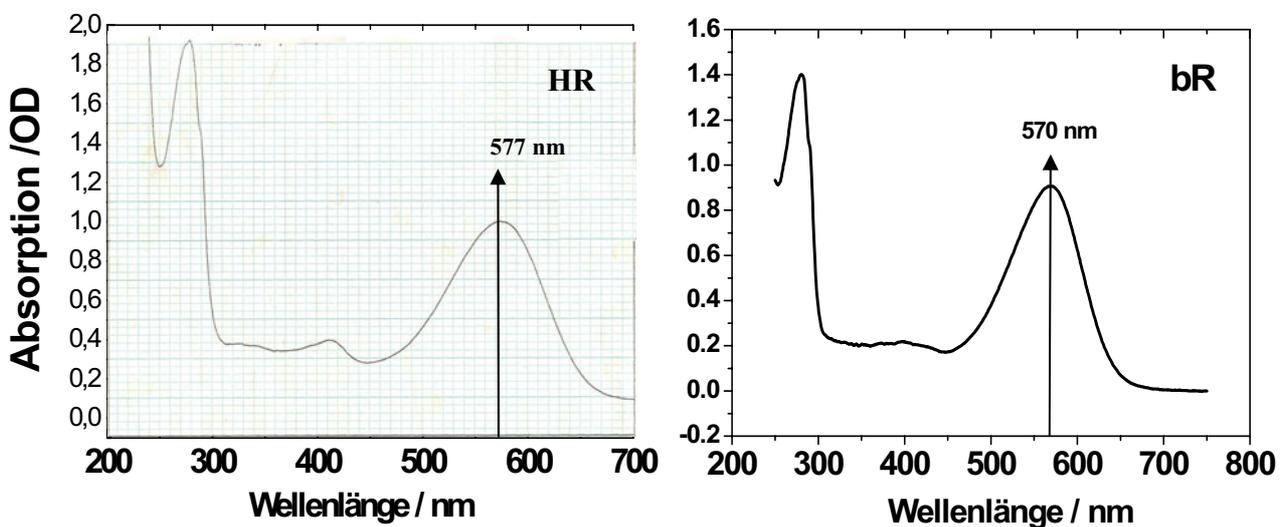
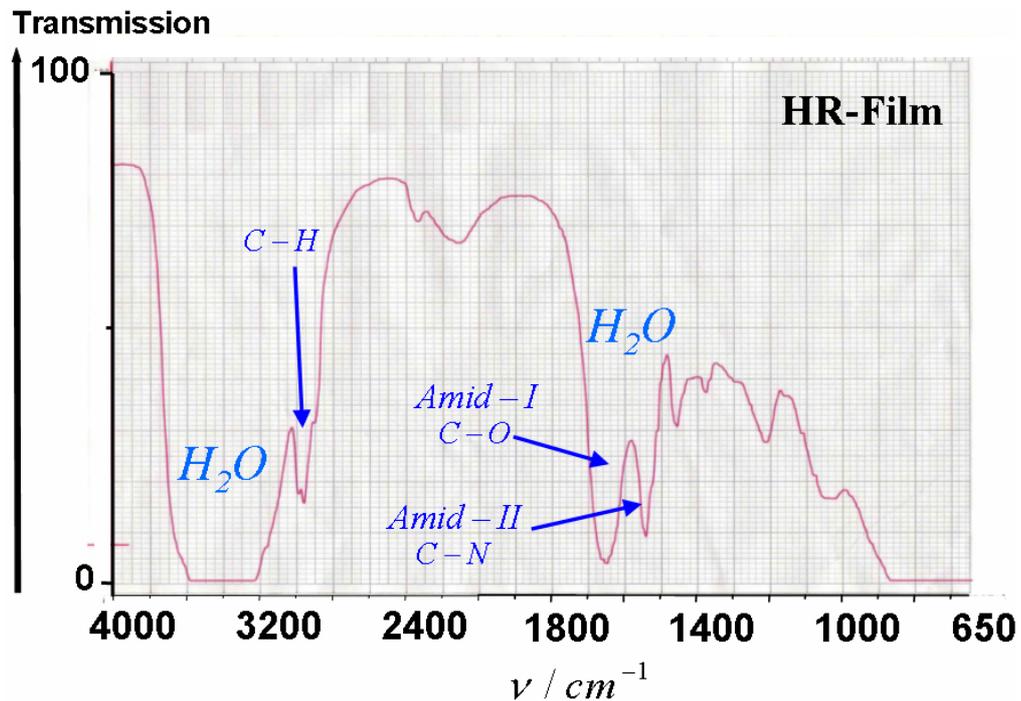


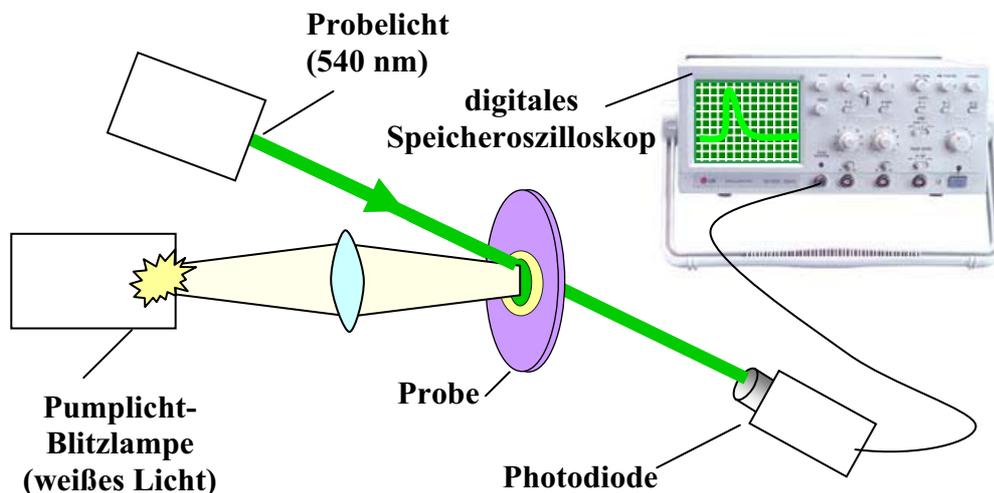
Abbildung 3.13: Optische Absorptionsspektren von HR (links) und bR (rechts).

Das statische IR-Transmissionsspektrum gibt u. a. Auskunft über den Wassergehalt der Proben. In Abb. 3.14 ist das statische IR-Transmissionsspektrum von HR gezeigt. Die  $\text{H}_2\text{O}$ -Bande um  $3400\text{ cm}^{-1}$  sollte gegenüber der C-H-Bande bei  $\sim 2950\text{ cm}^{-1}$  deutlich ausgeprägt sein. Der Wassergehalt lässt sich hier am besten abschätzen. Die Absorption um  $1660\text{ cm}^{-1}$  setzt sich aus der C=O-Streckschwingung (Amid-I) des Peptidgerüsts und der symmetrischen Biegeschwingung des  $\text{H}_2\text{O}$  zusammen. Im Amid-I- und Amid-II-Bereich sollte eine Resttransmission von  $\sim 10\%$  vorliegen.

Es besteht die Möglichkeit, dass sich der Photozyklus und die Primärreaktion eines bR- bzw. HR-Filmes von dem einer Suspension unterscheidet. Um zu überprüfen, ob die Dauer des

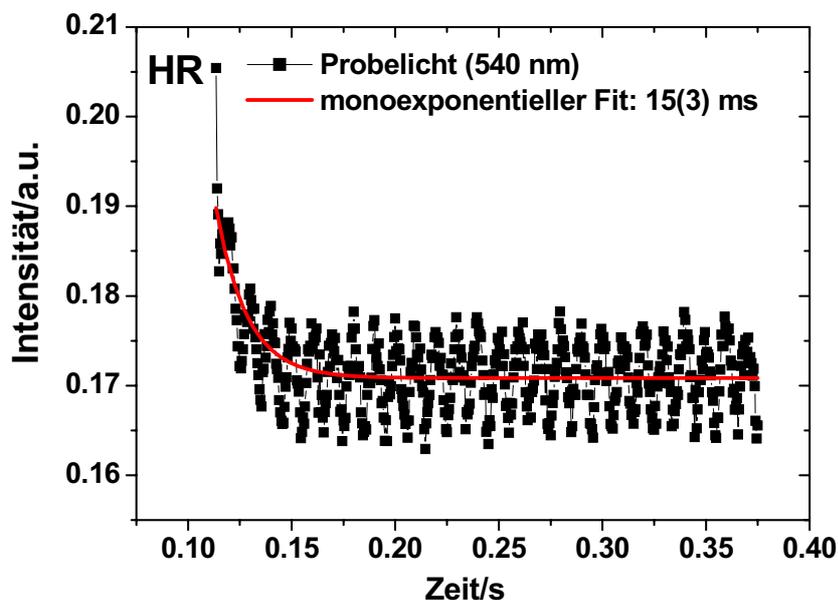


**Abbildung 3.14:** Statisches IR-Transmissionsspektrum eines HR-Probenfilms. Das Spektrum wird durch die starke Absorption von H<sub>2</sub>O und von der Amid-I- und Amid-II-Bande dominiert. Der Wassergehalt der Probe sollte so hoch sein, dass im Amid-I- und Amid-II-Bereich noch eine Resttransmission von ~ 10 % vorliegt.



**Abbildung 3.15:** Apparatur zur Messung der Dauer des Photozyklus der Probe. Eine Photodiode misst den Intensitätsverlauf des Probelichtes bei 540 nm. Mit einem Blitz (125 ms) wird der Photozyklus in der Probe gestartet. Dadurch ändert sich die optische Dichte der Probe. Die induzierte Intensitätsänderung des Probelichtes wird über eine Photodiode mit einem digitalen Speicheroszilloskop gemessen. Die Intensitätsänderung klingt mit der Zyklusdauer ab.

Photozyklus für Filme und Suspensionen gleich ist, wird die Zyklusdauer der Proben in einem einfachen Versuchsaufbau, der in Abb. 3.15 dargestellt ist, gemessen. Eine Blitzlampe startet dabei den Photozyklus. Die transmittierte Intensität des Probestrahles wird dadurch verändert. Mit einer Photodiode und einem digitalen Speicheroszilloskop werden die Intensitätsveränderungen aufgenommen. Die Abklingkonstante der Intensitätsveränderung sollte in etwa der Zyklusdauer der Probe entsprechen. In Abb. 3.16 ist die Transiente für eine HR-Probe bei einer Probewellenlänge von 540 nm gezeigt. Das Signal zerfällt mit



**Abbildung 3.16:** Intensitätsverlauf des Probelichtes (540 nm) nach Photoanregung der HR-Film-Probe. Das Signal zerfällt mit 15(3) ms. Diese Zeit ist zu der Dauer des Photozyklus 14 ms [Tittor1987] gleich.

15(3) ms. Für den HR-Film wird daher eine Zyklusdauer von 15(3) ms angenommen, was mit der von Tittor et al. für HR-Suspensionen gefundenen Zyklusdauer von 14 ms als gleich anzusehen ist [Tittor1987]. Für bR-Filme wurde mit dieser Methode ebenfalls eine zu den bR-Suspensionen vergleichbare Zyklusdauer gemessen.

Ergänzend wurde für HR-Filme mit optischer fs-Spektroskopie überprüft, ob der Zerfall des elektronisch angeregten Zustandes wie an HR-Suspensionen mit den beiden Zeitkonstanten 1.5(7) ps und 8.5(1.5) ps abläuft [Arlt1995]. Bei einer Probewellenlänge von 490 nm (hier absorbiert der  $S_1$ -Zustand) zerfällt das Differenzsignal unserer HR-Filme mit 1.4(2) ps und 6.8(7) ps (siehe Kapitel 4.1.1), was mit den von Arlt et al. für HR-Suspensionen gefundenen Zeitkonstanten identisch ist. Für bR wurden vergleichbare

Messungen von Herbst et al. durchgeführt. Auch hier wurde die Übereinstimmung bei der Dynamik des Zerfalls des S<sub>1</sub> zwischen bR-Filmen und Suspensionen gefunden [Herbst2002/I].

### **3.3.2 HR- und bR-D<sub>2</sub>O-Filme**

In dieser Arbeit werden auch D<sub>2</sub>O-bR- bzw. D<sub>2</sub>O-HR-Proben verwendet. Dadurch verschafft man sich einen Zugang zu der Beantwortung einiger interessanter Fragen zur Primärreaktion der Retinalproteine (siehe z. B. Kapitel 4.2.2). Um H<sub>2</sub>O mit D<sub>2</sub>O zu substituieren, werden die Proben zuerst, wie im letzten Kapitel 3.3.1 beschrieben, präpariert. Die Probe ist allerdings auf ein planes CaF<sub>2</sub>-Fenster und nicht auf einen Trog aufgetragen. Nach etwa 12 h Trocknungszeit in einer Atmosphäre mit ~ 98 % Luftfeuchte wird der Probenfilm mit einer dicken D<sub>2</sub>O-Schicht bedeckt. In diesem Zustand tauscht die vergleichbar kleine Wassermenge im Film mit dem darüber liegenden D<sub>2</sub>O aus. Nach ein paar Stunden ist der Probenfilm mit D<sub>2</sub>O hochkonzentriert. Der über dem Film liegende Überschuss D<sub>2</sub>O wird unter beständigem Stickstoffstrom getrocknet. Nach der Trocknung wird weiter unter einem Stickstoffstrom in das Zentrum des Filmes ein Tropfen D<sub>2</sub>O von ~ 40 µl gesetzt. Dieser Tropfen wird durch das Zusammenpressen mit einem zweiten CaF<sub>2</sub>-Fenster gleichmäßig über den Probenfilm verteilt. Die Probe ist durch Silikonfett luftdicht verschlossen.

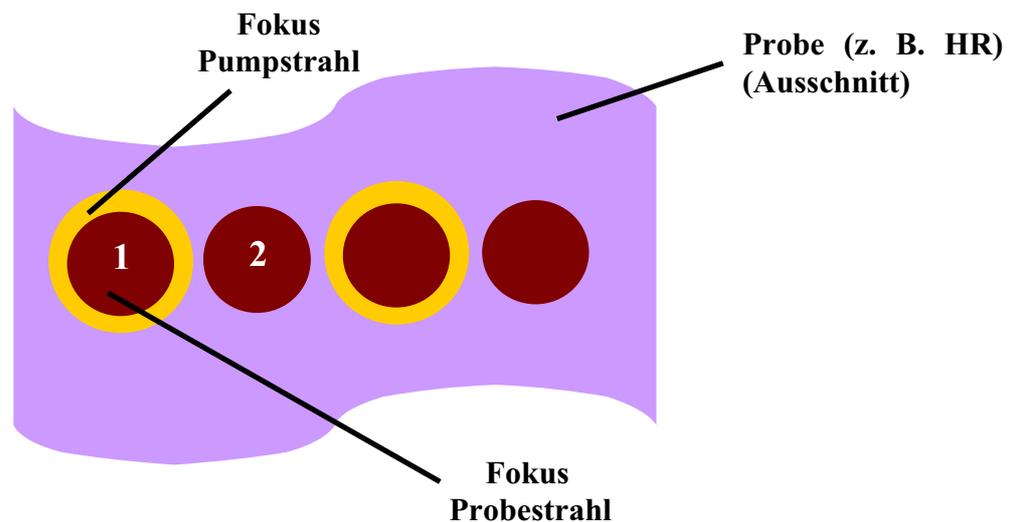
### **3.3.3 Farbstoffe DASPI und p-DPD-b13**

Die Farbstoffe werden in Trideutero-Acetonitril gelöst. Trideutero-Acetonitril hat in den zu untersuchenden infraroten Spektralbereichen eine hohe Transmission. Die Farbstofflösungen werden auf ein CaF<sub>2</sub>-Fenster aufgetragen, auf dessen Rand ein 1 mm dicker Neoprenring befestigt wurde. Anschließend wird die Probe mit einem zweiten CaF<sub>2</sub>-Fenster fest verschlossen, so dass keine Flüssigkeit austreten kann.

Charakterisiert werden die Filme über ihr optisches Absorptionsspektrum und über das statische IR-Transmissionsspektrum. Das optische Spektrum dient der Kontrolle der Position des optischen Absorptionsmaximums. Bei einer Verschiebung von mehr als 3 nm wird die Farbstoff-Probe ausgetauscht. Die statischen IR-Transmissionsspektren zeigen, ob die Transmission in den zu untersuchenden Spektralbereichen groß genug ist.

### 3.3.4 Probenverwendung im Experiment

Die Zyklusdauer unserer HR- bzw. bR-Filme ist länger als die Zeit zwischen zwei Probe- bzw. Pumppulsen ( $\sim 1.4$  ms bzw.  $\sim 2.8$  ms). Die Probe muss sich daher schnell bewegen, um angeregte und nicht-angeregte Probenbereiche räumlich voneinander zu trennen und Mehrfachanregungen eines bestimmten Probenvolumens zu verhindern. Der Probepuls, der die nicht-angeregte Probe messen soll, darf nicht mit einem zuvor angeregten Probenvolumen überschneiden. Die geometrischen Bedingungen der Pump- und Probefoki auf der Probenoberfläche sind in Abb. 3.17 dargestellt. Sind die Bedingungen gemäß Abb. 3.17 erfüllt, so kann es auch nicht zu Mehrfachanregungen eines bestimmten Probenvolumens kommen. Dazu rotiert die Probe und vollführt gleichzeitig eine transversale



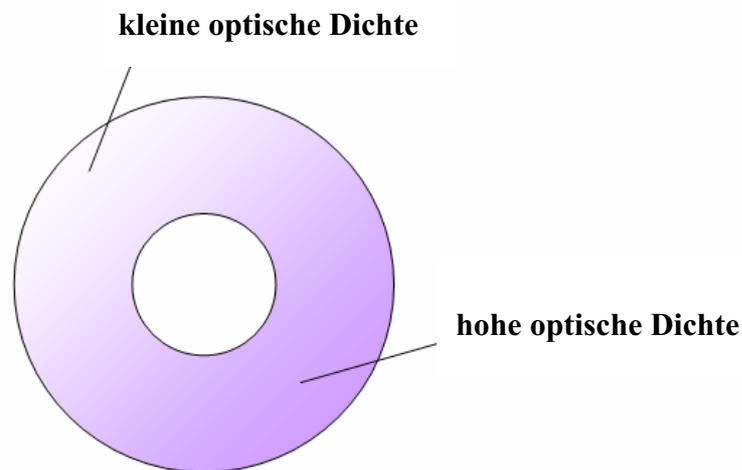
**Abbildung 3.17:** Geometrie der Pump- und Probefoki auf der Probenoberfläche. Zuerst treffen der Pump- und der Probepuls an derselben Stelle an Position 1 auf die Probe. Der nachfolgende Probepuls an Position 2 darf nicht mit dem Pumpfokus an Position 1 überlappen, da er sonst teilweise einen angeregten Probenbereich messen würde.

Bewegung. Für die Umdrehungsfrequenz wird unter Berücksichtigung der Durchmesser der Pump- und Probefoki und der Repetitionsrate des Lasers eine Frequenz von  $\sim 10$  Hz gewählt. Die transversale Frequenz ( $\sim 1$  Hz) wird so eingestellt, dass sich nach einer Umdrehung der Probe die abgetasteten Spuren nicht überlappen.

Inhomogenitäten auf der Probe wirken sich schlecht auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis der IR-Differenzsignale aus. Befindet sich beispielsweise im Probenfilm ein Riss, so werden

teilweise sehr große IR-Absorptionsdifferenzen gemessen, nämlich z. B. dann, wenn der Probepuls an Position 1 (Abb. 3.17) noch auf den Probenfilm trifft, jedoch der nächste Probepuls an Position 2 auf den Riss kommt und die Probe praktisch unabgeschwächt durchdringt.

Neben diesen singulären Inhomogenitäten wirken sich auch globale Inhomogenitäten negativ auf die Signalstatistik aus: Ist die Probe zwar auf kleinen, lateralen Bereichen homogen, weist aber einen schwachen axialen Gradienten in der optischen Dichte auf, so werden ständig je nach Position der Pulse auf der Probe größere oder kleinere IR-Absorptionsdifferenzen gemessen. Abb. 3.18 verdeutlicht diesen Zusammenhang.



**Abbildung 3.18:** Ein lokal homogener Probenfilm kann einen kleinen axialen Gradienten in der optischen Dichte aufweisen, was zu einer Verschlechterung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses führt.

Ein guter Probenfilm weist also sowohl eine hohe lokale als auch eine gute globale Homogenität auf. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wird maßgeblich durch die Probe determiniert. Das Rauschen des Lasers allein bewirkt nach 14 Sekunden nur  $\sim 0.1$  mOD.