

Kapitel 6

Zeitaufgelöste Kontrollexperimente

6.1 Kontrolle der isotropen Anregung

Für die zeitaufgelösten Messungen der orientierten Proben war eine isotrope Anregung erforderlich. Die Kontrolle, ob die Anregung auch tatsächlich isotrop war, erfolgte mittels einer isotropen Gelprobe. Zunächst wurde die indirekte Anregungskomponente ausgeblendet und nur von der Seite angeregt (siehe Kap. 3.3.2, Abb. 3.6), um den Depolarisator, bzw. alternativ das $\lambda/4$ -Plättchen, zu justieren. Da der Laserstrahl natürlicherweise in z -Richtung¹ polarisiert war, wurde das depolarisierende Element solange in der xz -Ebene schrittweise gedreht, bis die in x -Richtung gemessene Absorptionsänderung für linear polarisiertes Licht in z -Richtung ($\Delta A(\theta = 0^\circ)$), einen Minimalwert erreichte. Damit sind gleiche Anregungsintensitäten für die Polarisierungen in x - und in z -Richtung erreicht. Auf den Einfluß der in x -Richtung polarisierten Anregung („koaxiale Anregungskomponente“) wird in Kap. 6.3 noch näher eingegangen. Für den Abgleich mit der in y -Richtung polarisierten Anregung („indirekte Anregungskomponente“) werden die relativen Intensitäten beider Anregungsstrahlen durch geeignete Abschwächer variiert.

In Abb. 6.1 ist gezeigt, wie sich die Absorptionsänderung für die Polarisationswinkel $\theta = 0^\circ$ und $\theta = 90^\circ$ verhält², wenn die Intensität einer Anregungskomponente variiert wird. Die Zeitspuren wurden über 20 Einzelblitze gemittelt und zur besseren Darstellung auf 10 logarithmische Datenpunkte pro Dekade reduziert. Entsprechend der polarisationsabhängigen Absorptionsänderung ändert sich auch die transiente Anisotropie (Abb. 6.1d), so daß bei geeigneter Wahl der Abschwächer (Graufilter) ein Vorzeichenwechsel erreicht wird. Wegen der Immobilisierung der PM im Gel sind die Anisotropiezeitspuren über einen großen Zeitbereich ($10\mu s - 100ms$) annähernd konstant. Im vorderen Zeitbereich sind die Kurven stark verrauscht, was durch die logarithmische Darstellung bedingt ist. Die Divergenz der Anisotropie für $t > 100ms$ ergibt sich aus den auf null abklingenden Absorptionsänderungen bei Beendigung des Photozyklus.

Durch eine feinere Variation der Abschwächung könnte die Anisotropie für die isotrope Probe nahezu exakt auf null eingestellt werden. Wie schon in Kap. 3.3.2 erwähnt wurde, ist dieses Kriterium nicht streng zu berücksichtigen, sondern nur als grober Anhaltspunkt zu verstehen. Da die magnetisch orientierte Probe für Lichtausbreitung in Richtung der Orientierungsachse stärker absorbiert als eine isotrope Probe gleicher Konzentration, ist es tendenziell günstiger, die Abschwächung auf eine leicht negative Anisotropie –etwa in

¹Zur Definition der Laborachsen siehe ebenfalls Abb. 3.6 bzw. Abb. 3.4

²Die Polarisationswinkel beziehen sich auf die z -Achse im Laborsystem.

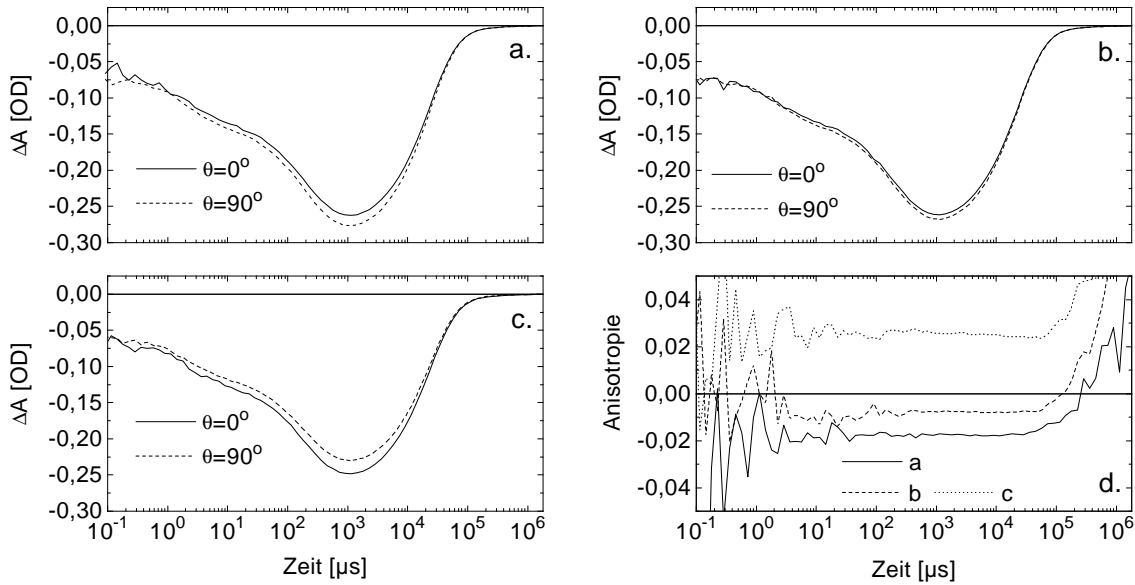


Abbildung 6.1: Polarisationsabhängige Absorptionsänderung eines isotropen PM-Gels (wt, pH7, $T = 10^\circ C$) für $\lambda = 570nm$ bei Variation der Intensität der indirekten Anregungskomponente. (a) 100%, (b) 80%, (c) 40%. (d) Aus den Zeitspuren von a,b,c berechnete Anisotropie.

einem Bereich von -0.005 bis -0.01 – für die isotrope Probe abzugleichen. Die für die Messung der Zeitspuren von Abb. 6.1b verwendete Abschwächung ergab eine Anisotropie von $R = -0.008 \pm 0.001$ (Abb. 6.1d, Kurve b) und würde also für die zeitaufgelösten Experimente mit magnetisch orientierten Proben eine hinreichend isotrope Anregung liefern. Bei solchen Messungen, d.h. bei Experimenten mit näherungsweise isotrop angeregten orientierten Proben, liefert die Datenanalyse (Gl.(4.44) bzw. Gl.(4.45)) die Grundzustandsanisotropie r_{bR} als Referenzwert für die transienten Zustände. Eine perfekte isotrope Anregung zu realisieren, ist also gar nicht erforderlich.

6.2 Korrektur bei nicht perfekter isotroper Anregung

Bei den meisten Meßreihen dieser Arbeit trat das Problem auf, daß die Anregungsintensität nicht stabil war. Da sich dann in der Regel auch das Verhältnis der Intensitäten der beiden Anregungskomponenten änderte, etwa durch Dejustierung optischer Elemente des Lasers, war die transiente Anisotropie durch die Instabilität ebenfalls stark beeinflusst. Dieser Effekt ist in der linken Spalte von Abb. 6.2 für eine typische Meßreihe dargestellt. Für beide Polarisationsrichtungen $\theta = 0^\circ$ (Abb. 6.2a) und $\theta = 90^\circ$ (Abb. 6.2c) zeigt sich mit zunehmender Meßdauer (von I nach III) eine Abnahme der Absorptionsänderung. Da die Abnahme aber für beide Polarisationsrichtungen nicht im gleichen Maße erfolgt, resultiert daraus eine Verschiebung der Anisotropiekurve (Abb. 6.2e). Die Instabilität der Anregungsintensität konnte experimentell, etwa durch Nachjustieren der Resonatorspiegel des Nd:YAG-Lasers oder des SHG-Kristalls, nicht behoben werden. Daher blieb nur die Möglichkeit, die gemessenen Absorptionsänderungen entsprechend zu korrigieren.

Es zeigte sich, daß die Kurven der Absorptionsänderungen bei leicht unterschiedlichen Anregungsintensitäten aufeinander skalierbar sind, d.h. $\Delta A^I(\theta, t) = k^{II}(\theta)\Delta A^{II}(\theta, t) = k^{III}(\theta)\Delta A^{III}(\theta, t)$. Diese Beziehung ist jedoch nur für $\theta = 0^\circ$ und $\theta = 90^\circ$ näherungsweise erfüllt, da für andere Polarisationswinkel die Phasendifferenz $\Delta\phi(t)$ stark nichtlinear in die

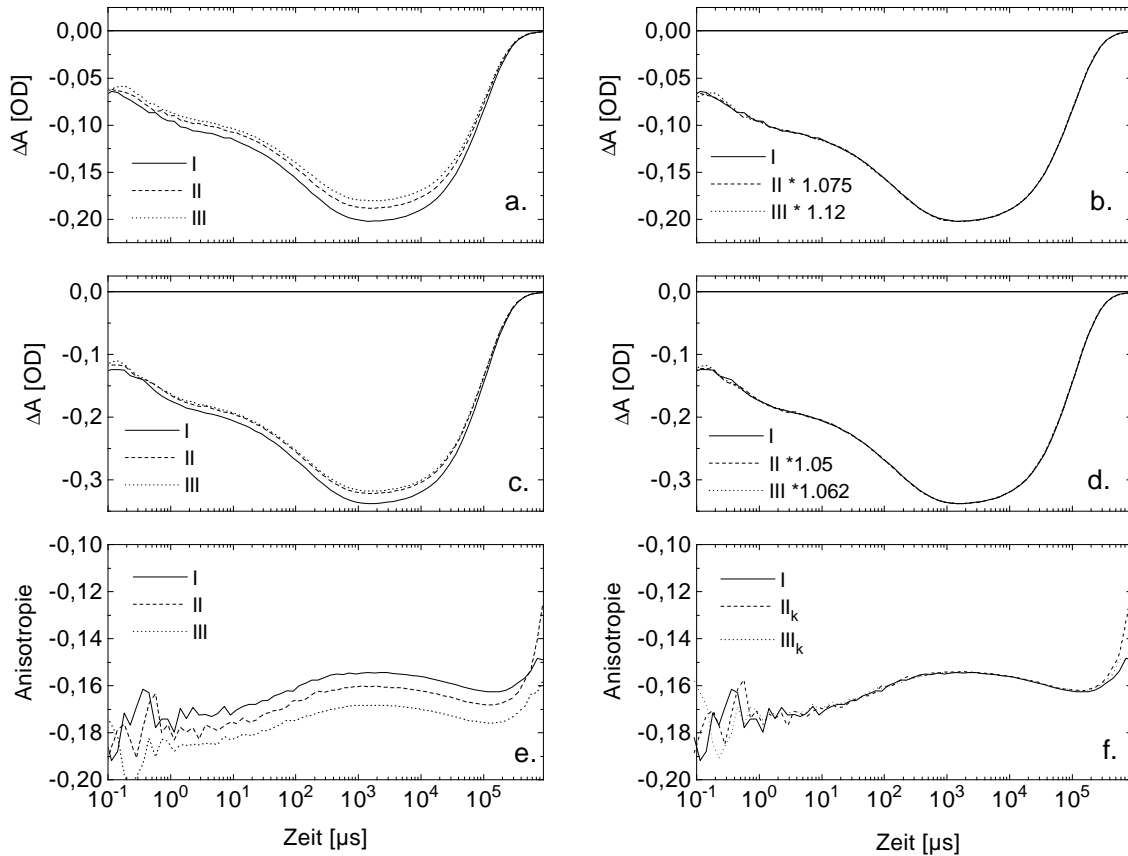


Abbildung 6.2: Zeitliche Entwicklung der Absorptionsänderung und Anisotropie eines magnetisch orientierten PM-Gels (D96A, pH4.7, $T = 20^\circ\text{C}$) für $\lambda = 570\text{nm}$ bei instabiler Anregungsintensität. I: Anfang, II: Mitte und III: Ende einer Meßreihe. Linke Spalte (a,c,e) Rohdaten; Rechte Spalte (b,d,f) Korrigierte Daten. (a,b) $\Delta A(0^\circ, t)$, (c,d) $\Delta A(90^\circ, t)$, (e,f) $R(t)$.

Absorptionsänderung $\Delta A(\theta, t)$ eingeht (siehe Gl.(4.10)). In der rechten Spalte von Abb. 6.2 sind die Ergebnisse der Skalierung gezeigt. Mit den Korrekturfaktoren $k^{\text{II}}(0^\circ) = 1.075$ und $k^{\text{III}}(0^\circ) = 1.12$ (Abb. 6.2b), sowie $k^{\text{II}}(90^\circ) = 1.05$ und $k^{\text{III}}(90^\circ) = 1.062$ (Abb. 6.2d) für die polarisationsabhängigen Absorptionsänderungen liegen die zugehörigen korrigierten Anisotropien R_k^{II} und R_k^{III} fast exakt auf der ursprünglichen Anisotropiekurve R^{I} (Abb. 6.2f).

Für die experimentelle Durchführung ergab sich die Konsequenz, daß die Kontrollmessung bei einer festen Wellenlänge für $\theta = 0^\circ$ und $\theta = 90^\circ$ (in der Regel bei $\lambda = 570\text{nm}$) mehrmals wiederholt werden mußte. Die Korrekturfaktoren für die jeweils zwischen den Kontrollmessungen durchgeführten Messungen wurden durch lineare Interpolation ermittelt. Bei den polarisationsabhängigen Absorptionsmessungen über typischerweise 12 – 14 Polarisationswinkel waren jedoch stabilere Anregungsintensitäten erforderlich, da die lineare Korrektur für $\theta \neq 0^\circ, 90^\circ$ nicht zulässig ist. Die Abweichungen der Absorptionsänderung von der ersten bis zur letzten Winkelmessung sollten kleiner als 2% sein.

Die Anpassung des Datenfelds $\Delta A(\lambda, \theta, t)$ mit Gl.(4.10) liefert die Zeitspuren $\Delta A(\lambda, t)$, $\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t)$ und $\Delta\Delta n(\lambda, t)$. Da die beiden Zeitspuren $\Delta A(\lambda, t)$ und $\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t)$ Linearkombinationen aus $\Delta A(\lambda, 0^\circ, t)$ und $\Delta A(\lambda, 90^\circ, t)$ sind, können diese Zeitspuren nun einer linearen Korrektur unterworfen werden, wobei die mittleren Korrekturfaktoren k_{\parallel} und k_{\perp} zu verwenden sind:

$$\Delta A_k(\lambda, t) = \frac{1}{3} \left((k_{\parallel} + 2k_{\perp}) \Delta A(\lambda, t) + 2(k_{\parallel} - k_{\perp}) \Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t) \right) \quad (6.1)$$

$$(\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t))_k = \frac{1}{3} \left((k_{\parallel} - k_{\perp}) \Delta A(\lambda, t) + (2k_{\parallel} + k_{\perp}) \Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t) \right) \quad (6.2)$$

Der Quotient aus $(\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t))_k$ und $\Delta A_k(\lambda, t)$ ergibt die korrigierte Anisotropiezeitspur $R_k(\lambda, t)$. Für die Zeitspur $\Delta\Delta n(\lambda, t)$ kann lediglich eine etwas ungenauere Korrektur durchgeführt werden, wenn nur die Daten einer Wellenlänge vorliegen. Einsetzen von $(\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t))_k$ in Gl.(4.14) ergibt nämlich:

$$(\Delta\Delta n(\lambda, t))_k = (k_{\parallel} - k_{\perp}) \frac{\ln 10}{2\pi^2 d} P \int_0^{\infty} \frac{\Delta A(\lambda', t)}{(1 - \frac{\lambda'}{\lambda})(1 + \frac{\lambda'}{\lambda})} d\lambda' + \frac{1}{3} (2k_{\parallel} + k_{\perp}) \Delta\Delta n(\lambda, t) \quad (6.3)$$

Der erste Summand liefert also für $k_{\parallel} = k_{\perp}$ keinen Beitrag und die Korrektur ließe sich mit dem zweiten Summanden korrekt beschreiben. Der erste Summand kann noch mit einer über Zeit und Wellenlänge gemittelten Anisotropie \bar{R} abgeschätzt werden, so daß $(\Delta\Delta n(\lambda, t))_k$ näherungsweise durch $\Delta\Delta n(\lambda, t)$ ausgedrückt werden kann:

$$(\Delta\Delta n(\lambda, t))_k \approx \left(\frac{1}{3\bar{R}} (k_{\parallel} - k_{\perp}) + \frac{1}{3} (2k_{\parallel} + k_{\perp}) \right) \Delta\Delta n(\lambda, t) \quad (6.4)$$

Diese Korrekturmethode ist sicher nicht für beliebig große Korrekturfaktoren gültig. Die Skalierbarkeit der Absorptionsänderung um etwa 10 – 20% war ein rein phänomenologischer Befund, der formal sogar auf einen Widerspruch führt, denn die korrigierte Absorptionsänderung $\Delta A_k(\lambda, t)$ hängt nach Gl.(6.1) vom transienten Lineardichroismus $\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t)$ ab. $\Delta A(\lambda, t)$ war aber als „isotrope“ Absorptionsänderung eingeführt worden und darf somit nicht von der Anisotropie abhängen. Der relative Fehler ist jedoch in der Größenordnung $(k_{\parallel} - k_{\perp}) R(\lambda, t)$ und daher i.allg. zu vernachlässigen. Für die praktische Anwendung des hier verwendeten Meßverfahrens war die Korrektur nach Gln.(6.1,6.2) zweckmäßig. Die beiden Extremfälle, isotrope (sättigende) Anregung einerseits und Photo Selektion [Ott91, Hey92] andererseits, formal korrekt ineinander zu überführen, dürfte auch kaum möglich sein.

Experimentell wurde durch gezieltes Abschwächen von jeweils nur einer Anregungskomponente festgestellt, daß es schon bei einer Skalierung um etwa 40% systematische Abweichungen gibt, wenn sich die transiente Anisotropie $R(\lambda, t)$ stark ändert. Als ein typisches Beispiel sind in Abb. 6.3 die Zeitspuren der Absorptionsänderung, der Anisotropie und der linearen Doppelbrechungsänderung eines magnetisch orientierten PM-Gels (wt, pH10.4, $T = 20^{\circ}C$) für $\lambda = 490nm$ gezeigt. Die Zeitspuren wurden aus der polarisationsabhängigen Absorptionsänderung $\Delta A(\lambda, \theta, t)$ bei lediglich drei Polarisationswinkeln ($\theta = 0^{\circ}, 40^{\circ}, 90^{\circ}$) bestimmt. Ohne Korrektur weichen die Zeitspuren erheblich voneinander ab (linke Spalte von Abb. 6.3). Die geringe Abweichung in der Doppelbrechungsänderung von I nach II ist ein zufälliges Ergebnis (Abb. 6.3e), da offenbar $(\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t))^I \approx (\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t))^{II}$.

Die Korrekturfaktoren wurden nach dem oben beschriebenen Verfahren ermittelt, wobei auf das Absorptionsmaximum optimiert wurde. Es ergaben sich für Abschwächung II die Korrekturfaktoren $k_{\parallel}^{II} = 1.37$ und $k_{\perp}^{II} = 1.2$ und für Abschwächung III $k_{\parallel}^{III} = 1.06$ und $k_{\perp}^{III} = 1.2$. Mit Gl.(6.1), Gl.(6.2) und Gl.(6.4) lassen sich die korrigierten Zeitspuren $\Delta A_k(\lambda, t)$, $R_k(\lambda, t)$ und $\Delta\Delta n(\lambda, t)$ berechnen (rechte Spalte von Abb. 6.3). Für die gemittelten Anisotropien in Gl.6.4 wurden die Anisotropiewerte zum Zeitpunkt maximaler Absorptionsänderung (etwa $200\mu s$) verwendet, $\bar{R}^{II} = -0.185$ und $\bar{R}^{III} = -0.115$ (siehe Abb. 6.3c). Dies ist insofern keine schlechte Abschätzung, da diese Werte für das Hauptwertintegral der Kramers–Kronig–Relation (Gl.(4.14)) den größten Beitrag liefern, und über der Wellenlänge wenig variieren. Die Korrektur liefert für alle Zeitspuren der abgeschwächten Messungen (II und III) recht gute Übereinstimmung mit den Kurven aus der isotropen Messung (I). Geringe systema-

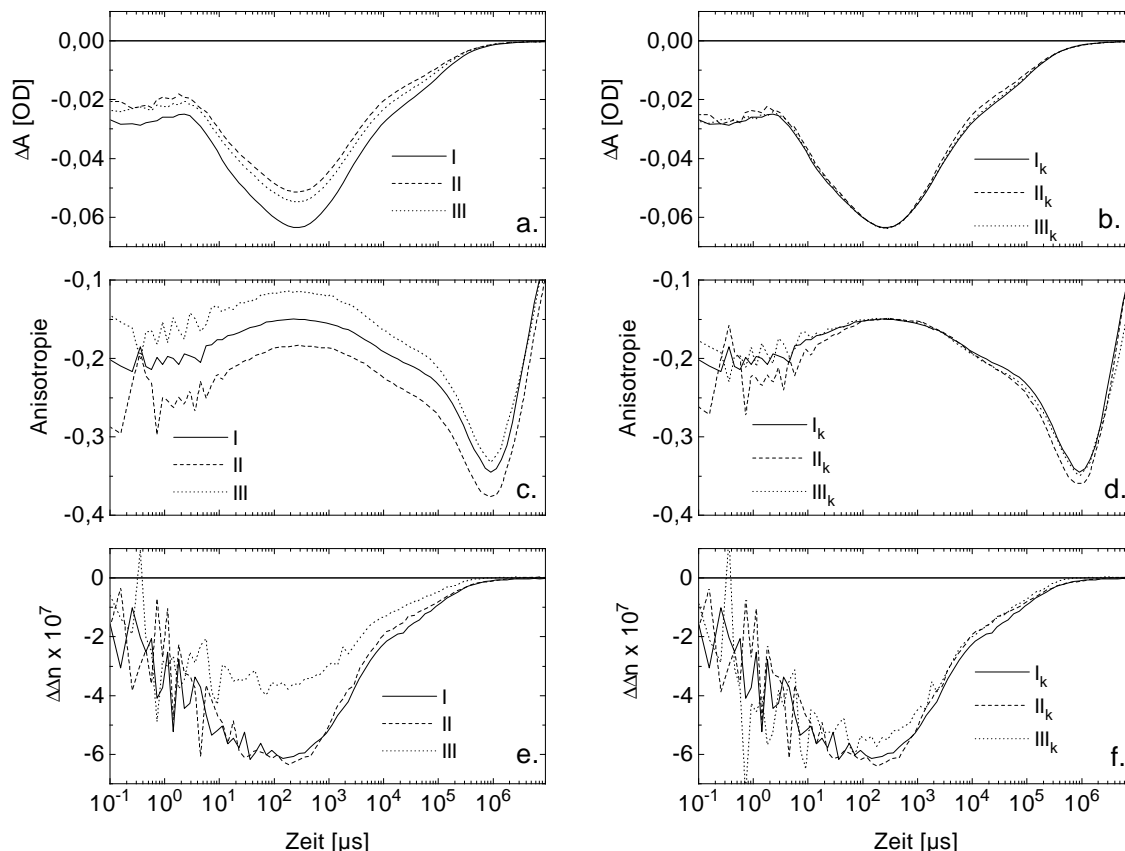


Abbildung 6.3: Absorptionsänderung, Anisotropie und lineare Doppelbrechung eines magnetisch orientierten PM-Gels (wt, pH10.4, $T = 20^\circ\text{C}$) für $\lambda = 490\text{nm}$ in Abhängigkeit der relativen Intensitäten beider Anregungskomponenten. I: isotrop, II: direkte Anregungskomponente abgeschwächt, III: indirekte Anregungskomponente abgeschwächt. Linke Spalte (a,c,e) Daten ohne Korrektur; Rechte Spalte (b,d,f) korrigierte Daten. (a,b) $\Delta A(t)$, (c,d) $R(t)$, (e,f) $\Delta\Delta n(t)$.

tische Abweichungen für $\Delta A(\lambda, t)$ und $R(\lambda, t)$) treten im Zeitbereich von etwa 10ms bis 1s auf (Abb. 6.3b,d), was offenbar durch verhältnismäßig große Änderungen der transienten Anisotropie bedingt ist. Da selbst bei diesen relativ großen Korrekturen nur geringe Abweichungen auftreten, erscheint es gerechtfertigt, diese Korrekturmethode auf Messreihen anzuwenden, bei denen langsame Änderungen der Anregungsintensität auftraten. Außerdem können so auch mehrere Messreihen aufeinander abgeglichen werden. Bei den ausgewerteten Messungen dieser Arbeit waren Korrekturen mit Skalierungsfaktoren von maximal 1.2 nötig.

6.3 Einfluß der koaxialen Anregungskomponente

Um den Einfluß der in x-Richtung polarisierten Anregungskomponente auf die polarisationsabhängige Absorptionsänderung $\Delta A(\lambda, \theta, t)$ und die daraus resultierenden Zeitspuren, insbesondere der Anisotropie, zu untersuchen, wurde das Experiment mit nur dieser Anregungskomponente durchgeführt. Die indirekte Anregungskomponente wurde also ausgeblendet, und die x-Komponente aus dem direkten Anregungsstrahl mit einem Glan-Laser-Polarisationsprisma herausselektiert. Mit dieser einen Komponente konnte noch gut ein Drittel der Anregungseffizienz des isotropen Experiments erreicht werden. Deswegen sind Betrachtungen wie beim PhotoSelektionsexperiment [Ott91, Hey92], die eine sehr umfangrei-

che formale Beschreibung erfordern³, hier noch nicht relevant. Als eine geeignete Wellenlänge, bei der deutliche Änderungen in der transienten Anisotropie auftreten, wurde $\lambda = 543\text{nm}$ gewählt⁴. Die Absorptionsänderung $\Delta A(\lambda, \theta, t)$ wurde für 18 Polarisationswinkel zwischen -20° und 110° gemessen, wobei über 50 Einzelblitze gemittelt wurde, und anschließend eine Reduktion auf 10 Punkte pro logarithmischer Dekade erfolgte. Die Vergleichsmessungen mit quasi-isotroper Anregung wurden analog durchgeführt. Abb. 6.4 zeigt die polarisationsabhängige Absorptionsänderung in beiden Meßreihen für einen Zeitpunkt von etwa 1ms nach der Anregung. In beiden Fällen liefert die Anpassung mit Gl.(4.10) sehr gute Übereinstimmung. Aus der Anpassung über den gesamten gemessenen Zeitbereich resultieren

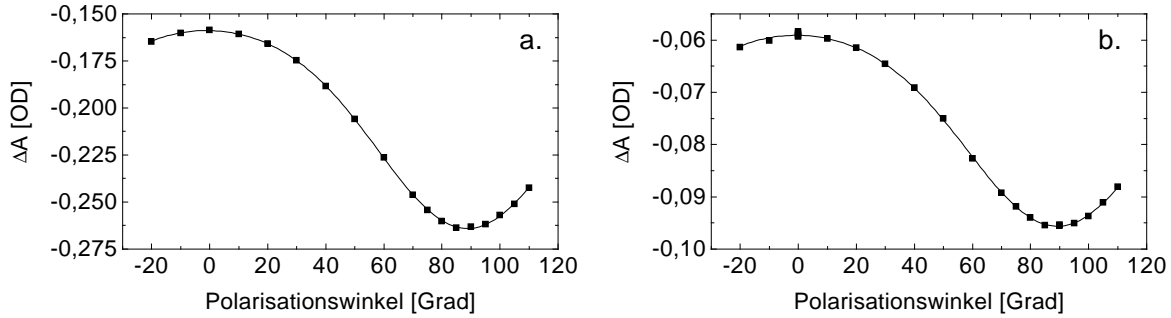


Abbildung 6.4: Polarisationsabhängige Absorptionsänderung $\Delta A(543\text{nm}, \theta, 1\text{ms})$ einer magnetisch orientierten Probe (wt, pH7, $T = 10^\circ\text{C}$). (a) quasi-isotrope Anregung, (b) Anregung nur mit koaxialer Komponente. ■ : Meßdaten gemittelt über 50 Einzelblitze und reduziert auf 10 Punkte pro Dekade, — : Anpassung mit Gl.(4.10).

dann jeweils die Zeitspuren $\Delta A(\lambda, t)$, $\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t)$, bzw. $R(\lambda, t)$, und $\Delta\Delta n(\lambda, t)$. Das Vorzeichen von $\Delta\Delta n(\lambda, t)$ ergibt sich aus den Überlegungen zum Chromophorbeitrag im Grundzustand $\Delta n_A^{bR}(\lambda)$ (siehe Kap. 5.1.1) und den Ergebnissen für den photostationären M-Zustand (siehe Kap. 5.5), extrapoliert nach $\lambda = 543\text{nm}$. Zum direkten Vergleich der Meßreihen mit unterschiedlicher Anregung wurden die Zeitspuren aus der Messung mit quasi-isotroper Anregung nach dem in Kap. 6.2 beschriebenen Verfahren entsprechend herunterskaliert. Es ergaben sich die Korrekturfaktoren $k_{\parallel} = 0.372$ und $k_{\perp} = 0.362$, was für die Anisotropie eine relativ geringe Korrektur bedeutet. Für die Korrektur von $\Delta\Delta n(\lambda, t)$ wurde eine mittlere Anisotropie von $\bar{R} = -0.153$ angenommen.

Die Ergebnisse sind in Abb. 6.5 dargestellt. Für die Absorptionsänderung (Abb. 6.5a), den transienten Lineardichroismus (Abb. 6.5b) und die Anisotropie (Abb. 6.5c) liefert die Skalierung sehr gute Übereinstimmung. Wegen des schlechteren Signal-Rausch-Verhältnisses weist die Anisotropiezeitspur der Messung, bei der nur koaxial angeregt wurde, im μs -Bereich größere Schwankungen auf. Die Abweichungen bei der Doppelbrechungsänderung (Abb. 6.5d) sind kaum durch die Unsicherheit der Größe \bar{R} bedingt, da der erste Summand in Gl.(6.4) bei fast gleichen Korrekturfaktoren k_{\parallel} und k_{\perp} nur sehr wenig beiträgt. Es ist eher zu vermuten, daß sich bei kleinen Phasendifferenzen $\Delta\phi_E$ – hier ist die Phasendifferenz etwa 20° – systematische Fehler, beispielsweise eine Dejustierung der Polarisatoren im Meßlicht, viel stärker bemerkbar machen. Daher sind die Abweichungen bei der Doppelbrechungsänderung weniger streng zu bewerten.

Als Ergebnis ist festzuhalten, daß die Anisotropiezeitspur im Experiment mit ausschließlich

³Es taucht dann auch eine Änderung im Azimutalwinkel des Übergangsdipolmoments auf

⁴Die Wahl dieser ausgefallenen Wellenlänge war durch die Experimente mit dem grünen He-Ne-Laser (siehe Kap. 6.4) motiviert.

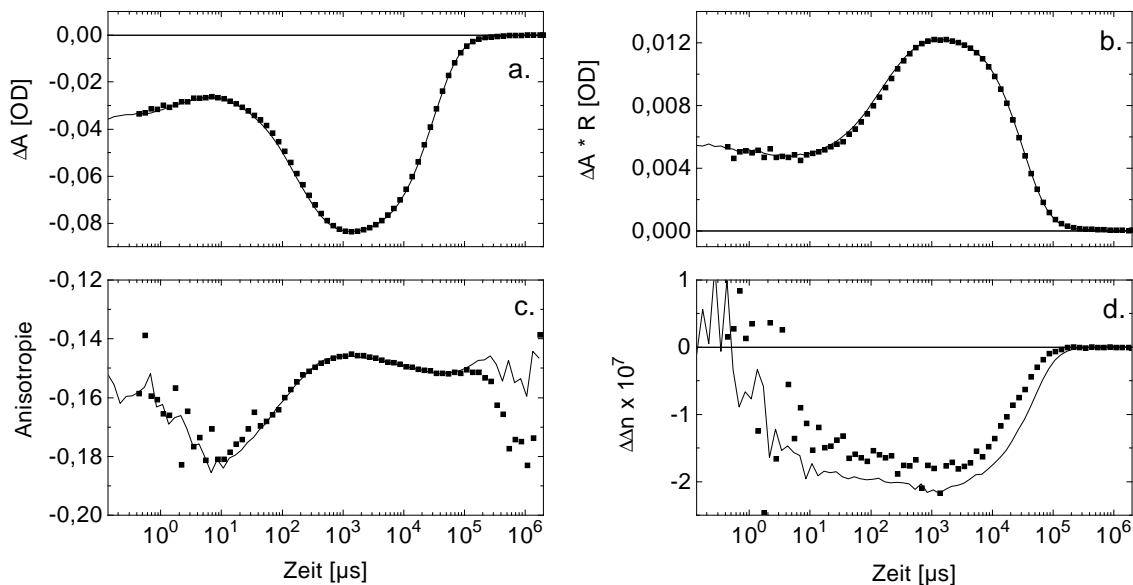


Abbildung 6.5: Ergebnis der Anpassung der polarisationsabhängigen Absorptionsänderung $\Delta A(543nm, \theta, t)$ einer magnetisch orientierten Probe (wt, pH7, $T = 10^\circ\text{C}$) mit Gl.(4.10). (a) Absorptionsänderung, (b) Transienter Lineardichroismus, (c) Transiente Anisotropie, (d) Lineare Doppelbrechungsänderung. ■ : Anregung nur mit koaxialer Komponente, — : quasi-isotrope Anregung, Zeitspuren herunterskaliert mit Gln.(6.1,6.2,6.4)

koaxialer Anregungskomponente dieselbe Charakteristik aufweist wie bei isotroper Anregung. Bei den Messungen mit isotroper Anregung ist der Einfluß der koaxialen Anregungskomponente also relativ schwach, so daß diese Komponente ebenso gut weggelassen werden könnte. Da aber eine möglichst hohe Anregung angestrebt wird, ist es sicher sinnvoll die Probe mit den Komponenten aller drei Raumrichtungen anzuregen. Ein exakter Abgleich der koaxialen Komponente auf die beiden anderen Komponenten ist nicht erforderlich.

6.4 Der grüne Helium–Neon–Laser als Meßlichtquelle

Den in Kap. 6.3 beschriebenen Experimenten waren Testmessungen mit dem grünen Helium–Neon–Laser als Meßlichtquelle (bei quasi-isotroper Anregung) vorausgegangen, die deutlich machten, daß die Wellenlänge $\lambda = 543nm$ zur Untersuchung der frühen Intermediate im Photozyklus, insbesondere des L–Intermediates, außerordentlich interessant ist. Um im μs –Zeitbereich ein möglichst glattes, d.h. rauscharmes, Signal zu erhalten, wurde der Helium–Neon–Laser nicht abgeschwächt. Dafür mußte aber in Kauf genommen werden, daß sich durch das Meßlicht ein photostationäres Gleichgewicht einstellt, das zudem noch vom Polarisationswinkel abhängig ist. Der Anteil der Moleküle, die im zeitlichen Mittel im M–Zustand waren, wurde jedoch auf kleiner als 3% abgeschätzt, so daß die polarisationsabhängige Absorptionsänderung mit Gl.(4.10) angepaßt werden konnte. Zur Minimierung dieses Artefaktes wurde bei 26 Polarisationswinkeln von -10° bis 200° gemessen, da die Symmetrie der Winkelabhängigkeit systematische Abweichungen ausgleicht. Eine Mittelung erfolgte über jeweils 25 Einzelblitze.

Aus dem Datenfeld $\Delta A(543nm, \theta, t)$, das in der zeitlichen Dimension auf 10 Punkte pro logarithmischer Dekade reduziert wurde, sind in Abb. 6.6 die Zeitpunkte $t = 11\mu s$ und $t = 1.1ms$ herausgegriffen und mit Gl.(4.10) angepaßt. Die Abweichungen der Meßdaten be-

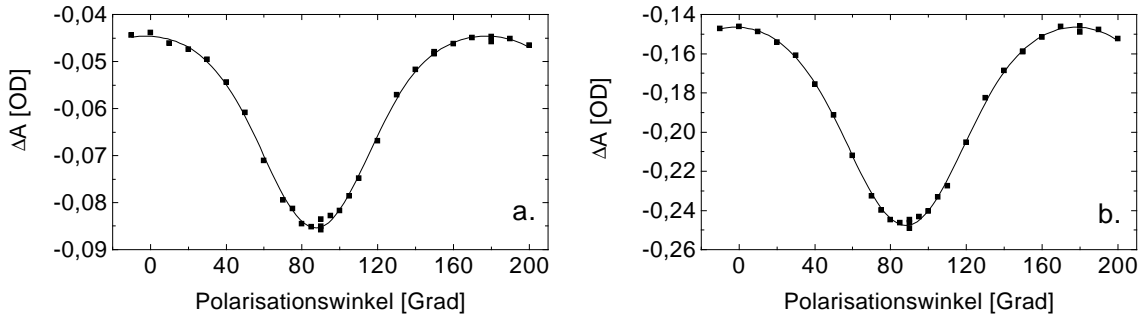


Abbildung 6.6: Polarisationsabhängige Absorptionsänderung $\Delta A(543nm, \theta, t)$ einer magnetisch orientierten Probe (wt, pH7, $T = 10^\circ\text{C}$) mit dem grünen He-Ne-Laser als Meßlichtquelle. (a) $t = 11\mu\text{s}$, (b) $t = 1.1\text{ms}$. ■ : Meßdaten gemittelt über 25 Einzelblitze und reduziert auf 10 Punkte pro Dekade, — : Anpassung mit Gl.(4.10).

zätzlich der Anpassungskurve sind für $t = 11\mu\text{s}$ kaum größer als für den späteren Zeitpunkt $t = 1.1\text{ms}$, so daß die Ergebnisse der Anpassungen, für beide Zeitpunkte vergleichbare Genauigkeiten liefern. Die Anisotropien sind deutlich verschieden ($R(11\mu\text{s}) = -0.189 \pm 0.002$ und $R(1.1\text{ms}) = -0.158 \pm 0.001$). Um diese mit dem Standardexperiment (Halogenlampe als Meßlichtquelle) vergleichen zu können, wurden die aus der Anpassung gewonnenen Zeitspuren nach dem Verfahren von Kap. 6.2 skaliert. Die Korrekturfaktoren ($k_{\parallel} = 1.05$ und $k_{\perp} = 1.05$) wurden so gewählt, daß sich im vorderen Zeitbereich (100ns bis etwa $100\mu\text{s}$) die bestmögliche Übereinstimmung mit den Vergleichskurven des Standardexperiments ergab. Die Abweichungen für $t > 100\mu\text{s}$ waren durch das oben erwähnte photostationäre Gleichgewicht bedingt.

Die korrigierten Zeitspuren sind zusammen mit den Zeitspuren des Standardexperiments in Abb. 6.7 gezeigt. Während in der Absorptionsänderung $\Delta A(\lambda, t)$ (Abb. 6.7a) und im transienten Lineardichroismus $\Delta A(\lambda, t)R(\lambda, t)$ (Abb. 6.7b) nur geringe Abweichungen im ms -Zeitbereich zu sehen sind, treten diese in der Anisotropiezeitspur $R(\lambda, t)$ (Abb. 6.7c) klarer hervor. Für $t < 100\mu\text{s}$ ist die Übereinstimmung in der Anisotropie aber außerordentlich gut. Es ist klar zu erkennen, daß die Messung mit dem Helium-Neon-Laser im vorderen Zeitbereich eine wesentlich glattere Kurve liefert als die Standardmessung. Die Zeitspuren der linearen Doppelbrechungsänderung (Abb. 6.7d) sind in etwa in der gleichen Größenordnung, doch treten über den gesamten Zeitbereich beträchtliche Abweichungen auf. Offenbar wirkt sich das vom Polarisationswinkel abhängige photostationäre Gleichgewicht viel stärker auf die Doppelbrechung aus, als auf die anderen Parameter. Quantitativ läßt sich dieser Effekt aber nicht erklären.

Die relativ große Änderung in der transienten Anisotropie gab erste klare Hinweise darauf, daß das L-Intermediat, das etwa $10\mu\text{s}$ nach der Anregung maximal akkumuliert wird, und dessen Absorptionsmaximum bei 540nm liegen soll, eine vom Grundzustand verschiedene Anisotropie aufweist. Aus dem Vorzeichen der Absorptionsänderung ($\Delta A(10\mu\text{s}) < 0$) und dem Minimum der Anisotropie ($R(10\mu\text{s}) < R(1\text{ms})$) folgt für das L-Intermediat eine vom Betrag kleinere Anisotropie als die des Grundzustandes. Um den Betrag der L-Anisotropie genau zu bestimmen, ist die Messung bei einer Wellenlänge natürlich nicht ausreichend, da die relative L-Konzentration, die Absorption von L bei dieser Wellenlänge und eventuell Beiträge anderer Intermediate a priori nicht bekannt sind. Das Ergebnis der Messung mit dem He-Ne-Laser war aber dennoch recht aufschlußreich, da zumindest ein Anhaltspunkt für die L-Anisotropie erhalten wurde.

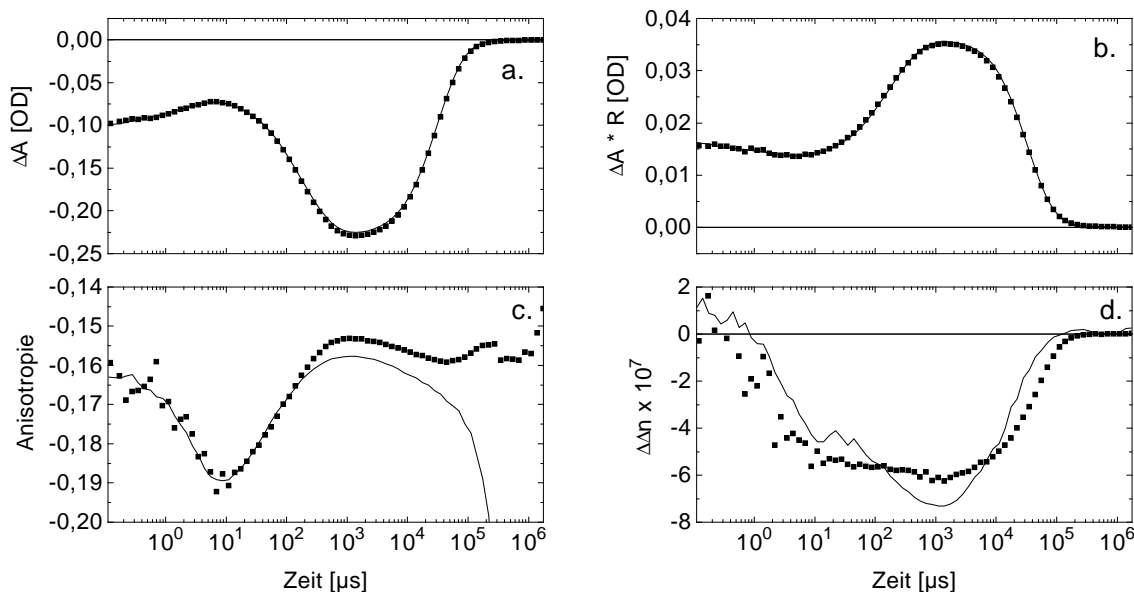


Abbildung 6.7: Ergebnis der Anpassung der polarisationsabhängigen Absorptionsänderung $\Delta A(543\text{nm}, \theta, t)$ einer magnetisch orientierten Probe (wt, pH7, $T = 10^\circ\text{C}$) mit Gl.(4.10). (a) Absorptionsänderung, (b) Transienter Lineardichroismus, (c) Transiente Anisotropie, (d) Lineare Doppelbrechungsänderung. ■ : 100W Halogenlampe als Meßlichtquelle, — : Grüner Helium-Neon-Laser als Meßlichtquelle, Zeitspuren skaliert mit Gln.(6.1,6.2,6.4)

6.5 Diodenlaser als Meßlichtquelle

6.5.1 Photostationäres Gleichgewicht und Überlagerung der L-Photorückreaktion

Zur Untersuchung von Intermediaten, deren Hauptabsorptionsbanden gegenüber dem bR-Grundzustand rot verschoben sind, sollten auch Diodenlaser ($\lambda = 635\text{nm}$ und $\lambda = 670\text{nm}$) als Meßlichtquelle eingesetzt werden. Bei den Messungen mit dem grünen He-Ne-Laser hatte sich gezeigt, daß die Anisotropiekurve bei hoher Meßlichtintensität im vorderen Zeitbereich zwar sehr rauscharm ist, aber im ms -Bereich wegen der Überlagerung des photostationären Gleichgewichtes erheblich gestört ist. Dadurch fehlt die Information für den Referenzwert des Grundzustandes r_{bR} . Da derartige Effekte auch für die Diodenlaser, insbesondere bei $\lambda = 635\text{nm}$, zu erwarten waren, wurde die Meßlichtintensität systematisch variiert.

Eine besonders deutliche Abhängigkeit der Absorptionsänderung von der Meßlichtintensität wurde für die Mutante D96A bei neutralem pH-Wert (pH7) und niedriger Temperatur ($T = 10^\circ\text{C}$) festgestellt. Erwartungsgemäß nimmt die Absorptionsänderung mit steigender Meßlichtintensität ab, da der bR-Grundzustand zunehmend entvölkert wird. Allerdings sind die Zeitspuren der Absorptionsänderung bei unterschiedlicher Meßlichtintensität nicht aufeinander skalierbar. Dieser Effekt ist in Abb. 6.8 für die Polarisationswinkel $\theta = 0^\circ$ und $\theta = 90^\circ$ dargestellt. Die beiden Messungen mit einer auf 1% reduzierten Meßlichtintensität (Kurve II) wurden mit den Korrekturfaktoren $k_{\parallel} = 0,86$ und $k_{\perp} = 0,82$ herunterskaliert. Die Korrekturfaktoren wurden so gewählt, daß die Differenzzeitspuren (Kurven III) – zur Verdeutlichung wurde mit einem Faktor 10 multipliziert – einen stufenartigen Verlauf erhielten. Dieser charakteristische Verlauf läßt sich durch das folgende Modell plausibel machen: Durch die hohe Meßlichtintensität wird ein photostationäres Gleichgewicht eingestellt, das

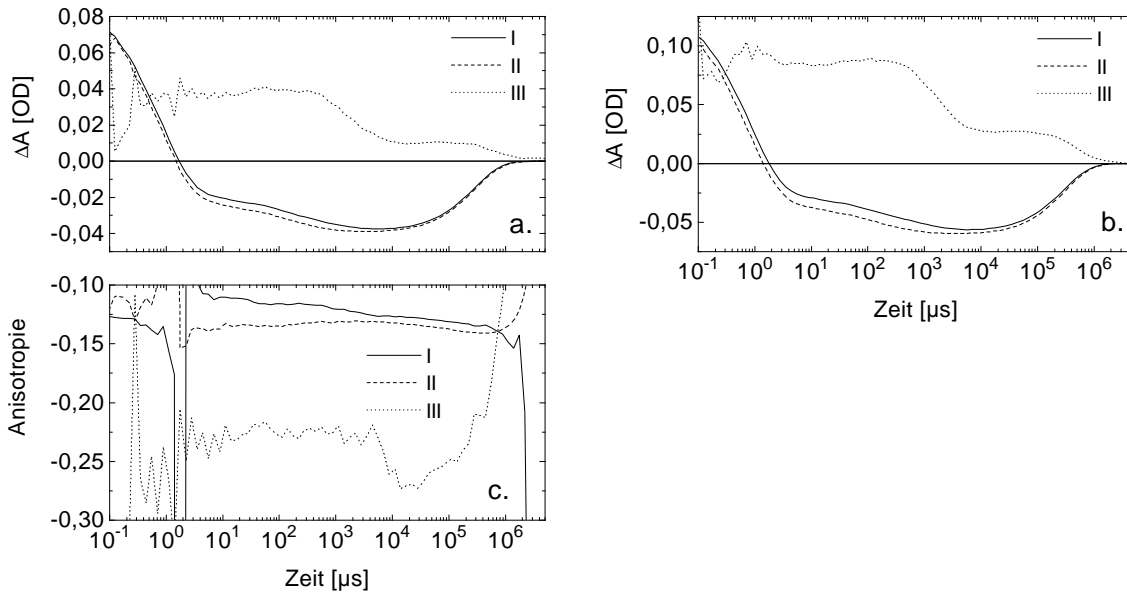


Abbildung 6.8: Absorptionsänderung und Anisotropie eines magnetisch orientierten PM-Gels (D96A, pH7, $T = 10^\circ\text{C}$) für $\lambda = 635\text{nm}$ (Diodenlaser) bei unterschiedlichen Meßlichtintensitäten. I: 100% Intensität, gemittelt über 20 Einzelblitze; II: 1% Intensität, gemittelt über 100 Einzelblitze, herunterskaliert; III: $(I - II) \times 10$. (a) $\Delta A(0^\circ, t)$, (b) $\Delta A(90^\circ, t)$, (c) $R(t)$.

neben dem Grundzustand und dem M-Intermediat auch das L-Intermediat enthält. Mit Licht der Wellenlänge $\lambda = 635\text{nm}$ kann das L-Intermediat nur mit geringer Effizienz angeregt werden. Der Laserblitz bei $\lambda = 532\text{nm}$ regt nun einerseits einen Teil der im Grundzustand verbliebenen Moleküle an, die dann den Photozyklus durchlaufen (Kurve II in Abb. 6.8), und andererseits findet mit hoher Effizienz ein Rückschießen vom L-Intermediat in den bR-Grundzustand statt [Dic98]. Die L-bR-Rückreaktion ist vermutlich nach weniger als 100ns abgeschlossen [Dic98] und daher zeitlich nicht aufzulösen. Die Differenzzeitspur bleibt bis etwa $500\mu\text{s}$ auf einem fast konstanten Wert, der der Absorptionsdifferenz ($A_{bR} - A_L$) proportional ist. Mit einer Zeitkonstanten im ms -Bereich stellt sich das transiente L-M-Gleichgewicht ein, verbunden mit einer Abnahme der Absorption. Die Relaxation in das photostationäre Gleichgewicht erfolgt mit etwa 300ms . Der Vergleich der Anisotropiezeitspuren I und II in Abb. 6.8c läßt erkennen, daß das photostationäre Gleichgewicht und die Überlagerung des L-Rückschießens eine erhebliche Störung verursacht. Wegen der stark anisotropen Korrektur ($k_{\parallel} \neq k_{\perp}$) verläuft die Anisotropie der Differenzzeitspur III in einem völlig anderen Bereich als I und II.

Dieses Modell liefert nur eine qualitative Erklärung des beobachteten Effektes. Eine Korrektur der bei hoher Meßlichtintensität aufgenommenen Absorptionsänderung ist aber nicht möglich, da die Parameter, die im Modell enthalten sind, nicht aus der Messung hervorgehen. Daher ist für die Messung mit dem roten Diodenlaser erforderlich, entweder die Meßlichtintensität zu reduzieren, oder Bedingungen bzw. Systeme zu wählen, bei denen keine photostationären Zustände akkumuliert werden.

6.5.2 Geeignete Meßbedingungen und Systeme

Bei wt-bR und niedriger Temperatur ($T = 10^\circ\text{C}$) wird der Grundzustand bei ungeschwächter Meßlichtintensität nur noch zu einem geringen Anteil ($\leq 3\%$) entvölkert, wie der Vergleich

mit Messungen bei reduzierter Intensität zeigt (Abb. 6.9). Eine Abschwächung auf 12.5% ist schon ausreichend, um den Meßlichtartefakt vollständig zu unterdrücken, da bei einer Abschwächung auf 1% keine weitere Zunahme der Absorptionsänderung zu beobachten ist. Die Anisotropiezeit Spuren stimmen für alle drei Meßlichtintensitäten weitgehend überein (Abb. 6.9c), wobei der ns -Bereich bei der Abschwächung auf 1% durch den Blitzdurchschlag gestört ist. Für Messungen bei Polarisationswinkeln $\theta \neq 0^\circ, 90^\circ$ empfiehlt sich die Abschwächung auf 12.5%, um sicherzustellen, daß die uniaxiale Symmetrie der Probe nicht durch das Meßlicht gestört wird.

Aus der transienten Anisotropie bei dieser Wellenlänge läßt sich bereits eine qualitative Aussage über die Anisotropie des K-Intermediates ableiten. Da hier die Absorption des K-Intermediates deutlich größer ist als die des Grundzustandes, ist auch der Beitrag des Grundzustandes zur Anisotropie entsprechend kleiner. Die K-Anisotropie wird deshalb relativ nahe beim Wert der transienten Anisotropie im Zeitfenster von $100ns$ bis $1\mu s$ liegen, also etwa bei -0.14 . Den Referenzwert für den Grundzustand aus der Anisotropiezeit Spur abzuschätzen ist mit größerer Unsicherheit verbunden, da wegen der Überlagerung mit anderen Intermediaten (L und O) im ms -Bereich kein konstanter Wert erreicht wird. Aus der Anisotropiezeit Spur bei $\lambda = 543nm$ (siehe Kap. 6.4) ging aber hervor, daß der Beitrag des L-Intermediates für $\Delta A(\lambda, t) < 0$ eine Anisotropieerniedrigung bewirkt. Mit diesem Argument läßt sich auch für $\lambda = 635nm$ schließen, daß $r_{bR} > R(\approx 1ms) = -0.155$. Da das L-Intermediat vermutlich aber nur wenig bei dieser Wellenlänge beiträgt, ist $r_{bR} < -0.14$ eher plausibel.

Ein quantitativ verwertbares Ergebnis für die Intermediatsanisotropien kann nur in Kombination mit Messungen über mehrere Wellenlängen, also mit der Halogenlampe als Meßlichtquelle, gewonnen werden. Für die Experimente mit wt-bR bei pH7 und $T = 10^\circ C$ stellt der Diodenlaser ($\lambda = 635nm$) aber eine sinnvolle Ergänzung dar. Die erforderliche Abschwächung auf etwa 10% entspricht immer noch einer höheren Intensität als bei der Ha-

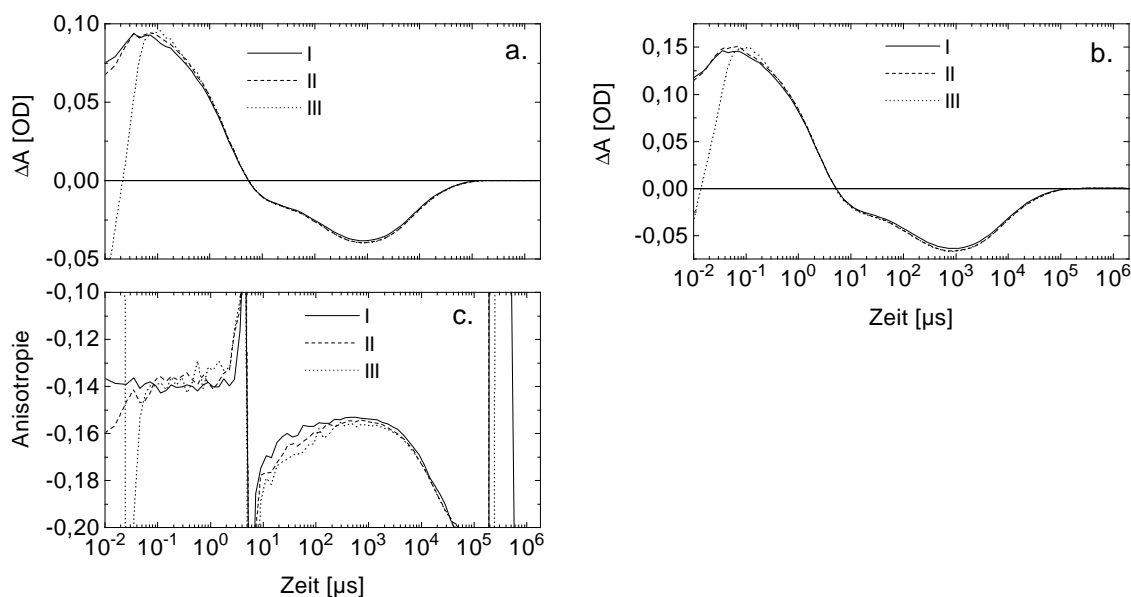


Abbildung 6.9: Absorptionsänderung und Anisotropie eines magnetisch orientierten PM-Gels (wt, pH7, $T = 10^\circ C$) für $\lambda = 635nm$ bei unterschiedlichen Meßlichtintensitäten. I: 100% Intensität, gemittelt über 20 Einzelblitze; II: 12.5% Intensität, gemittelt über 40 Einzelblitze; III: 1% Intensität, gemittelt über 100 Einzelblitze; (a) $\Delta A(0^\circ, t)$, (b) $\Delta A(90^\circ, t)$, (c) $R(t)$.

logenlampe mit den üblichen Monochromatorspalten, so daß im ns-Zeitbereich ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis erreicht wird. Bei Experimenten mit dem 670nm-Diodenlaser ist die Intensität noch weniger kritisch, da die Effizienz für Grundzustandsanregung geringer ist als bei 635nm, und deswegen photostationäre Zustände (L und M) schwächer besetzt werden.

6.5.3 Artefakte durch Licht-Dunkel-Adaptation

Die relativ geringe Akkumulation photostationärer Zustände von wt-bR bei ungeschwächter Meßlichtintensität und niedriger Temperatur ließe nun eigentlich erwarten, daß die Artefakte durch das Meßlicht bei Erhöhung der Temperatur völlig verschwinden. Die Zeitkonstanten für den Zerfall der späten Intermediate nehmen mit steigender Temperatur ab, während die Zeitkonstante für die Anregung durch das Meßlicht unverändert bleibt. Die Experimente bei höherer Temperatur ($T = 35^\circ\text{C}$) zeigten jedoch überraschenderweise eine starke Abhängigkeit der Absorptionsänderung von der Meßlichtintensität, die mit den bisher diskutierten Modellen nicht zu vereinbaren war. Um Polarisierungseinflüsse beiseite zu lassen, wurde dieser Effekt an einer isotropen Probe studiert.

Die Kurvenschar in Abb. 6.10 stellt die Absorptionsänderung bei Variation der Meßlichtintensität von 100% (hohe Intensität) nach 0.1% (niedrige Intensität) dar. Mit Abnahme der Meßlichtintensität nimmt die Absorptionsänderung bei etwa 100 μs (maximale transiente M-Akkumulation) ab, während bei etwa 3ms (maximale transiente O-Akkumulation) eine Zunahme zu verzeichnen ist. Eine durch das Meßlicht induzierte Photoreaktion des O-Intermediates, das bei hoher Temperatur viel stärker akkumuliert wird, kommt wegen der beschleunigten Zerfallskinetik ($\tau < 5\text{ms}$) nicht in Betracht. Da die Zeitkonstante für die Licht-Dunkel-Adaptation bei dieser Temperatur durch eine Messung im Spektrophotometer bei $\lambda = 580\text{nm}$ auf etwa 25min bestimmt wurde, die Anregung durch den Laserblitz

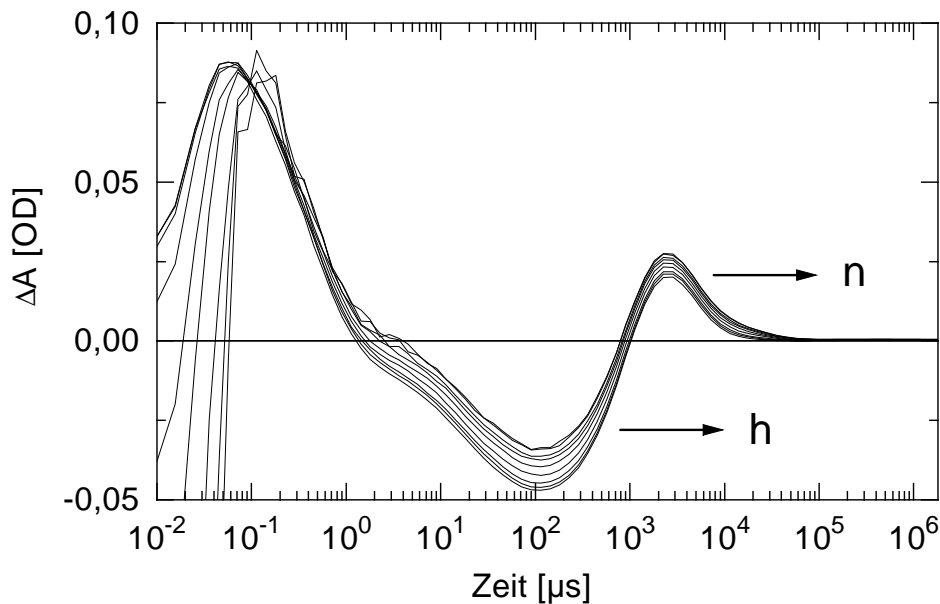


Abbildung 6.10: Absorptionsänderung eines isotropen PM-Gels (wt, pH7, $T = 35^\circ\text{C}$) für $\lambda = 635\text{nm}$, gemittelt über 50 Einzelblitze. bei Variation der Meßlichtintensität von 100% (h) nach 0.1% (n).

aber in Abständen von 25s erfolgte⁵, wurde eine Überlagerung des 13-*cis* Zyklus zunächst nicht als Erklärung herangezogen. Offenbar findet aber die Licht-Dunkel-Adaptation in zwei Phasen statt, wovon die Zeitkonstante der schnelleren Komponente vermutlich noch unter 10s liegt und deshalb von der Zeitmessung im Spektrophotometer nicht aufgelöst wird. Die Zeit zwischen den Anregungsblitzen ist dann lang genug, damit sich im Dunkeln ein Isomergemisch einstellen kann. Bei schwacher Meßlichtintensität wird dieses Gleichgewicht nicht gestört, so daß auch bR mit 13-*cis* Konformation angeregt werden kann und im Absorptionssignal dem all-*trans* Zyklus überlagert ist.

Bei hoher Meßlichtintensität dagegen wird das Gleichgewicht vollständig auf die Seite der all-*trans* Konformation verschoben, und im Absorptionssignal ist nur der all-*trans* Zyklus enthalten. Diese Annahme ist insofern plausibel, weil die Intensitätsabhängigkeit der Extremalwerte der Absorptionsänderung (Abb. 6.11) zeigt, daß für eine Meßlichtintensität von 100% der Sättigungswert schon fast erreicht wird. Eine Photoreaktion von all-*trans* nach

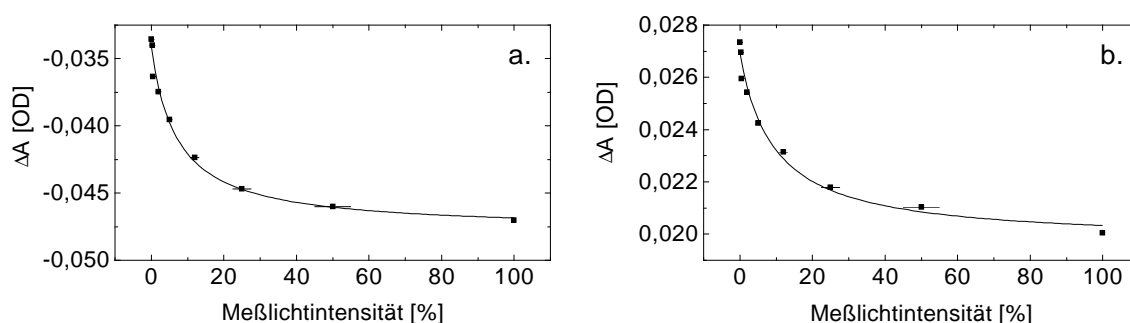


Abbildung 6.11: Extremalwerte der Absorptionsänderung eines isotropen PM-Gels (wt, pH7, $T = 35^\circ\text{C}$) für $\lambda = 635\text{nm}$ in Abhängigkeit von der Meßlichtintensität. (a) $t \approx 100\mu\text{s}$, (b) $t \approx 3\text{ms}$, — Anpassung unter Berücksichtigung von intensitätsabhängigen und -unabhängigen Raten

13-*cis*, die unter Beleuchtung mit „rotem“ Licht bei PM-Filmen geringen Wassergehaltes beobachtet wurde [Kou85], und somit einen Konkurrenzprozeß zur Lichtadaptation darstellt, ist im wässrigen Medium vermutlich nicht relevant. Die Anpassung der Intensitätsabhängigkeit mit einer Modellfunktion, die intensitätsabhängige und -unabhängige Raten für beide Richtungen des Übergangs berücksichtigt, kann keine eindeutige Aussage über die Richtigkeit dieser Annahme geben.

Auf der Grundlage des oben beschriebenen Modells eines Gleichgewichtes zwischen all-*trans* und 13-*cis* wurde versucht, die überlagerten Kurven aus Abb. 6.10 in die beiden Beiträge zu zerlegen. Dazu wurde das Datenfeld $\Delta A(I, t)$ (I sei die Meßlichtintensität) mit SVD bearbeitet, wobei nur die Meßpunkte für $t \geq 300\text{ns}$ berücksichtigt wurden, da die Kurven bei niedriger Intensität im vorderen Zeitbereich durch den Blitzdurchschlag gestört waren. Erwartungsgemäß waren nur zwei Basiszeitspuren relevant. Die beiden gesuchten Zeitspuren ergeben sich dann als Linearkombinationen dieser Basiszeitspuren. Gemäß der oben formulierten Annahme war die Zeitspur des all-*trans* Zyklus schon durch die Messung bei hoher Meßlichtintensität festgelegt. Die Zeitspur des 13-*cis* Zyklus ist allerdings nicht eindeutig bestimmt und kann nur empirisch, etwa durch Variation des all-*trans*-Anteils für die Messung bei der niedrigsten Intensität, ermittelt werden. Dieser Parameter wurde nun so gewählt (≈ 0.95), daß die 13-*cis* Zeitspur möglichst wenig kinetische Komponenten aufwies.

⁵Diese Messungen wurden noch mit einem 386er PC, mit 20MHz Taktfrequenz, durchgeführt, womit das Datenauslesen erheblich länger dauerte als mit dem 486er PC

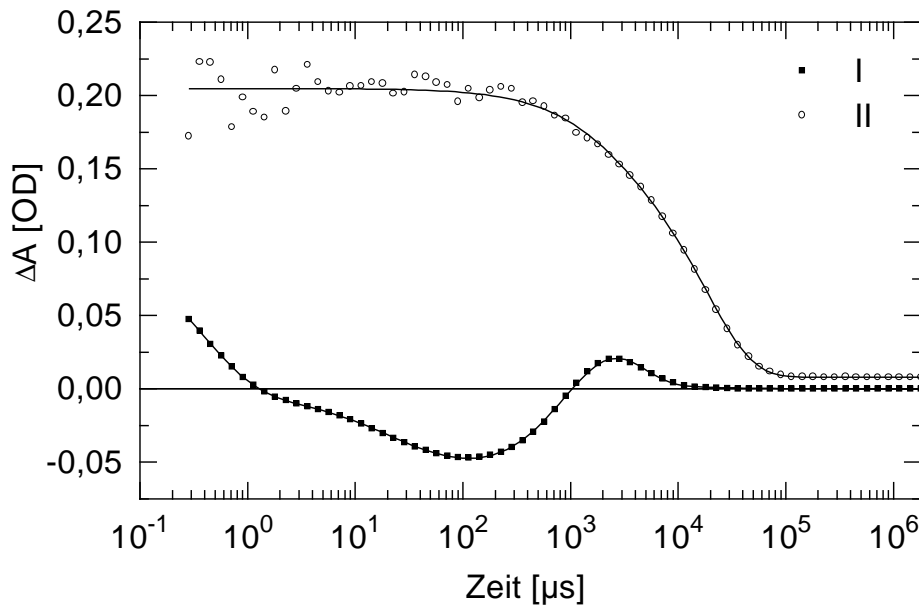


Abbildung 6.12: Zerlegung der Absorptionsänderung eines isotropen PM-Gels (wt, pH7, $T = 35^{\circ}\text{C}$) für $\lambda = 635\text{nm}$ in all-*trans* (I) und 13-*cis* Anteile (II), normiert auf 100% für jedes Isomer, — : Anpassung mit geeigneten Modellfunktionen.

Die so erhaltene Kurve (Zeitspur II in Abb. 6.12) – die Normierung bezieht sich auf die Gesamtkonzentration, also 100% der bR-Moleküle – verläuft bis etwa $500\mu\text{s}$ relativ konstant und fällt dann auf einen geringfügig von Null verschiedenen Absorptionswert ab. Ein solcher Verlauf des 13-*cis* Zyklus im langwelligen Spektralbereich wurde auch von anderen Arbeitsgruppen [Hof89, Ger94] beobachtet.

Daß die Amplitude des 13-*cis* Zyklus bei $\lambda = 635\text{nm}$ wesentlich größer ist als das Signal im all-*trans* Zyklus (Zeitspur I in Abb. 6.12), nämlich etwa doppelt so groß wie die K-Amplitude, hängt von zwei Parametern ab. Einerseits absorbiert das im 13-*cis* Zyklus auftretende langlebige Intermediat bei dieser Wellenlänge vermutlich relativ stark, andererseits könnte auch die Quanteneffizienz für die Anregung bei $\lambda = 532\text{nm}$ von 13-*cis* wesentlich höher sein als von all-*trans*.

Die Anpassung der 13-*cis* Zeitspur mit zwei Exponentialfunktionen ergibt die Zeitkonstanten $\tau_1 = 2.0\text{ms}$ (20% Amplitude) und $\tau_2 = 18\text{ms}$ (80% Amplitude), während im gleichen Zeitbereich des all-*trans* Zyklus die Zeitkonstanten $\tau = 1.1\text{ms}$ für den O-Anstieg und $\tau = 2.2\text{ms}$ für den O-Zerfall auftreten. Der Endwert in der 13-*cis* Zeitspur für $t \rightarrow \infty$ ($\approx 10\text{mOD}$) weist auf die Verzweigung der Reaktionskaskade hin, die die Lichtadaptation von bR überhaupt ermöglicht. Welcher relative Anteil der aus dem 13-*cis* Zustand angeregten Moleküle aber in den all-*trans* Zustand übergeht, kann aus diesem Experiment nicht quantifiziert werden, da die Anregungseffizienz von 13-*cis* als unbekannter Parameter in den Endwert eingeht.

Daß eine schnelle Licht-Dunkel-Adaptation bei höheren Temperaturen relevant ist, zeigte auch eine Messung bei 410nm (monochromatisiertes Licht der Halogenlampe) unter Beleuchtung mit „rotem“ Licht (Kaltlichtlampe mit Kantenfilter RG630). Hierzu wurde eine orientierte Probe bei einer Temperatur von 40°C untersucht. In Abb. 6.13a sind die Absorptionsänderungen bei den Polarisationswinkeln $\theta = 0^{\circ}$ (unteres Kurvenpaar) und $\theta = 90^{\circ}$ (oberes Kurvenpaar) mit und ohne Hintergrundlicht dargestellt. Für beide Polarisationswinkel ist die Absorptionsänderung ohne Hintergrundlicht um etwa 6% kleiner als mit Hinter-

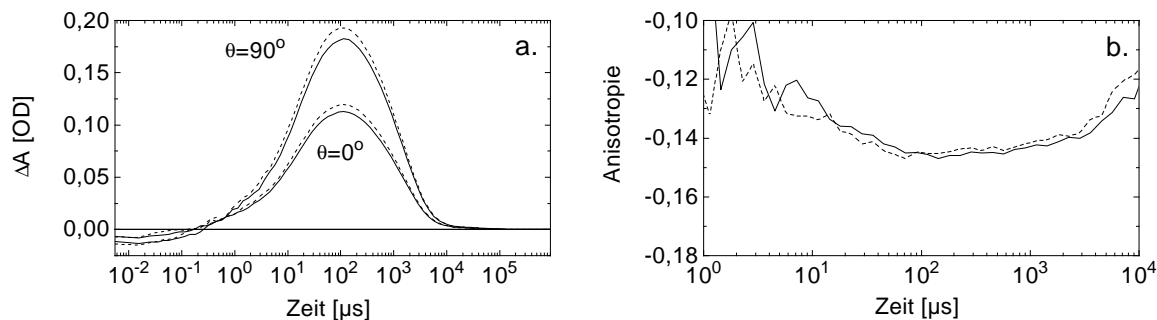


Abbildung 6.13: Absorptionsänderung und Anisotropie eines orientierten PM-Gels (wt, pH7, $T = 40^\circ\text{C}$), gemessen mit der Halogenlampe als Meßlichtquelle bei $\lambda = 410\text{nm}$, gemittelt über 60 Einzelblitze. — : ohne Hintergrundlicht, - - - : mit Hintergrundlicht (KL1500, RG630). (a) $\Delta A(\lambda, \theta, t)$, (b) $R(\lambda, t)$.

grundlicht. Da die zugehörigen Anisotropien (Abb. 6.13b) mit und ohne Hintergrundlicht nahezu gleich sind, kann geschlossen werden, daß das Hintergrundlicht sättigend war. Falls der 13-*cis* Zyklus bei 410nm , wie auch in [Hof89] angegeben, keinen Beitrag zur Absorptionsänderung liefert, wäre das Isomerenverhältnis all-*trans* zu 13-*cis* bei $T = 40^\circ\text{C}$ also 94 : 6. Aus dem Vergleich mit der oben diskutierten Messung bei $T = 35^\circ\text{C}$, ist eine Zunahme des 13-*cis* Anteils mit steigender Temperatur zu erwarten.

Für die polarisationsabhängigen Messungen orientierter Proben mit dem roten Diodenlaser sind aufgrund des Meßlichteffektes bei höherer Temperatur nur die beiden Extremfälle möglich: Entweder muß das Meßlicht in der Intensität so weit abgeschwächt werden, daß das Gleichgewicht zwischen all-*trans* und 13-*cis* nicht gestört wird, oder aber das Meßlicht hat ausreichende Intensität, um das Gleichgewicht vollständig auf die Seite der all-*trans* Konformation zu verschieben (Sättigungsgrenzwert). Im Falle von niedriger Meßlichtintensität ist stets die Überlagerung des 13-*cis* Zyklus zu berücksichtigen, die jedoch keine Störung der Orientierungsverteilung bewirkt. Sättigende Meßlichtintensität für alle Polarisationswinkel (z.B. $\theta = -20^\circ, 110^\circ$) zu realisieren, erwies sich bei den orientierten Proben als problematisch und wurde nicht weiter verfolgt.

