

Kurzzeitspektroskopische Untersuchungen photoinduzierter Ladungstransferreaktionen

DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich
Biochemie, Chemie und Pharmazie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Martin Oliver Lenz
aus Lübeck

Frankfurt am Main
2005
(DF1)

vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der
Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan:	Prof. Dr. Harald Schwalbe
1. Gutachter:	Prof. Dr. Josef Wachtveitl
2. Gutachter:	Prof. Dr. Bernd Brutschy
Datum der Disputation:	17. März 2006

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Experimentelle Techniken	7
2.1	Prinzip der optischen Femtosekundspektroskopie	8
2.2	Femtosekundenlaser als Lichtquelle	9
2.3	Erzeugung der verstärkten Impulse	10
2.4	Weißlicht, Erzeugung der Abtastimpulse	10
2.5	Parametrische Konversion, Erzeugung der Anregungsimpulse	13
2.5.1	Impulserzeugung	13
2.5.2	Impulskompression	17
2.6	Probenbereich	18
2.7	Detektion und Datenverarbeitung	19
2.8	Datenauswertung	21
2.9	Femtosekundenfluoreszenzspektrometer	23
3	Primärreaktion von Proteorhodopsin	25
3.1	Einleitung	26
3.2	Untersuchte Proteorhodopsinproben	28
3.3	Stationäre Charakterisierung	29
3.4	Fluoreszenzquantenausbeuten	31
3.5	Transiente Kurzzeitcharakterisierung	34
3.5.1	Transiente Absorptionsspektroskopie	34
3.5.2	Transiente Fluoreszenzspektroskopie	47
3.6	Entwickeltes Modell der Primärreaktion von Proteorhodopsin	49
3.7	Resümee	53
4	Elektronentransfer an Farbstoff-Halbleiter-Systemen	55
4.1	Einleitung	56
4.2	Grundlagen und Theorie	57

4.2.1	Theorie des Elektronentransfers	57
4.2.2	Untersuchte Farbstoffe	64
4.2.3	Titandioxidkolloide	71
4.2.4	Kopplung der Farbstoffe	72
4.2.5	Elektronentransfer	75
4.3	Experimentelles	76
4.3.1	Statische Charakterisierung	76
4.3.2	Aggregation	78
4.4	Merocyanin in Lösung, Isomerisierung und Triplettbildung	81
4.4.1	Transiente Charakterisierung	81
4.4.2	Diskussion Merocyanin in Lösung	86
4.5	Schneller Elektronentransfer an Merocyanin/ TiO ₂	93
4.5.1	Transiente Charakterisierung	93
4.5.2	Diskussion gekoppelter Systeme, Elektronentransfer	97
4.6	Resümee	106
5	Zusammenfassung und Ausblick	109
	Literaturverzeichnis	115
	Danksagung	133
	Publikationen	137
	Lebenslauf	139

Abbildungsverzeichnis

2.1	Prinzipieller Aufbau des Femtosekundenspektrometers ausgehend von Impulsen aus einem Kurzpulslasersystem.	9
2.2	Vergleich typischer Weißlichtintensitäten bei Erzeugung in Kalziumfluorid (CaF_2) und Saphir. Deutlich zu erkennen sind die intensiveren Anteile im UV-Bereich bei CaF_2	11
2.3	Prinzipieller Aufbau des NOPA inklusive Weißlichterzeugung in Saphir (Draufsicht).	12
2.4	Darstellung des Probenbereichs mit Küvette und Spritzenpumpe. . .	18
2.5	Ansteuerungsschema für zwei Chopper.	20
2.6	Prinzip des Kerr-Shutters.	23
3.1	Proteorhodopsinstrukturmodell.	26
3.2	Photozyklus von Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten. . . .	27
3.3	Retinal in der all- <i>trans</i> - und in der 13- <i>cis</i> -Konformation.	28
3.4	Absorptionsspektren von rekonstituiertem Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten, aufgenommen in einer 1 mm Küvette.	29
3.5	Titration von Proteorhodopsin zur Bestimmung des pK_a -Wertes des primären Protonenakzeptors Asp97.	30
3.6	Absorptionsspektren von solubilisiertem Proteorhodopsin bei zwei pH-Werten. Eine gute Übereinstimmung mit den rekonstituierten Proben (Abbildung 3.4) ist zu erkennen. Gezeigt sind außerdem Fluoreszenzspektren nach Photoanregung bei 525 nm, bei denen die spektrale Empfindlichkeit des Detektors korrigiert wurde.	31
3.7	Statisches Fluoreszenzspektrum von solubilisiertem Proteorhodopsin bei pH 8. Die Wellen in der Form des Spektrums stammen von einem Interferenzfilter im Strahlengang und nicht von der Probe selbst. . .	33
3.8	Absorptionsspektren von Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten zusammen mit einem Spektrum des Anregungsimpulses am Probenort.	35

3.9	Überblick über die zeitliche Entwicklung von rekonstituiertem Proteorhodopsin nach Photoanregung bei verschiedenen pH-Werten. Die Amplituden sind farbcodiert. Blaue Bereiche bedeuten negative Signalbeiträge und rote Bereiche entsprechen positiven Absorptionsänderungen. Die farblich weniger intensiven Bereiche kennzeichnen den Bereich um die Anregungswellenlänge, in dem das Signal-zu-Rausch-Verhältnis erniedrigt ist. Die Linien zeigen die Wellenlängen an, die für die Transienten in Abbildung 3.10 gewählt wurden.	36
3.10	Vergleich der transienten Absorptionsänderung von rekonstituiertem Proteorhodopsin in saurer und alkalischer Umgebung. Die Linien zeigen die Ergebnisse des globalen Fits für Verzögerungszeiten $\tau > 200$ fs.	37
3.11	Amplitudenspektren des globalen Fits von Proteorhodopsin bei pH 6 und pH 9. Die Daten zwischen 500 und 550 nm wurden wegen des niedrigen Signal-zu-Rausch-Verhältnisses nicht berücksichtigt.	38
3.12	Überblick der zeitlichen Entwicklung von solubilisiertem Proteorhodopsin bei pH 6,4 nach Photoanregung. Auf der rechten Seite sind zur Verdeutlichung noch die zugehörigen statischen Spektren gezeigt.	43
3.13	Überblick über die zeitliche Entwicklung von solubilisiertem Proteorhodopsin bei pH 9 nach Photoanregung. Wie auch in Abbildung 3.12 sind rechts zur Verdeutlichung noch die zugehörigen statischen Spektren gezeigt.	43
3.14	Vergleich der transienten Absorptionsänderung von solubilisiertem Proteorhodopsin in saurer und alkalischer Umgebung. Die Linien zeigen die Ergebnisse des globalen Fits.	44
3.15	Transiente Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten von solubilisiertem Proteorhodopsin bei pH 6,4 und pH 9.	45
3.16	Amplituden der globalen Fitprozedur von Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten.	46
3.17	Zeitaufgelöste Fluoreszenz von Proteorhodopsin nach Photoanregung bei 525 nm.	48
3.18	Höhenlinienbild der Fluoreszenzspektren von Proteorhodopsin.	49
3.19	Vergleich zwischen statischer und integrierter zeitaufgelöster Fluoreszenz von Proteorhodopsin. Es ist gute Übereinstimmung zwischen beiden Messungen zu erkennen. Oszillationen auf den Kurven stammen von einem Interferenzfilter im Strahlengang.	50
3.20	Entwickeltes Energie- und Reaktionsschema der Primärreaktion von Proteorhodopsin.	52

3.21	Modell zur Verdeutlichung der pH-Abhängigkeit der Primärreaktion von Proteorhodopsin. Die pH-Abhängigkeit kann durch eine Verkipfung der Potentialfläche des ersten angeregten Zustandes und einer Erniedrigung der Barriere verstanden werden.	53
4.1	Struktur von Merocyanin 2 OG.	56
4.2	Darstellung der Parameter der Marcus-Theorie.	58
4.3	Darstellung der Potentialflächen des adiabatischen ET für Donor und Akzeptor.	61
4.4	Darstellung der Potentialflächen eines heterogenen nichtadiabatischen ET ausgehend von einem Donor zu einem Kontinuum von Akzeptorzuständen.	62
4.5	Chemische Struktur der untersuchten Merocyanine. Links: speziell synthetisiertes Merocyanin 2 (auch MC2OG). Rechts: kommerziell erhältliches Merocyanin 2, je nach Hersteller im Folgenden MC2HW (Firma Honeywell) und MC2FE (Firma FEW Chemicals) genannt.	65
4.6	Die vier energetisch niedrigsten Isomere des MC2HW benannt nach der Konformation der Polymethinkette. Die Strukturen wurden von I. Kondov zur Verfügung gestellt.	66
4.7	HOMO und LUMO des stabilsten Isomers (ctc) von MC2HW.	67
4.8	Mögliche Reaktionen nach Anregung von Merocyanin.	69
4.9	Reaktionsmodell nach Photoanregung von Merocyanin.	70
4.10	Mögliche Bindungen zwischen einer Carboxylgruppe und der Oberfläche von Halbleiteroxiden. Von links nach rechts: Esterbildung, Chelatbildung, Brückenbindung und unterschiedliche Wasserstoffbrückenbindungen.	72
4.11	Prinzipskizze und energetisches Modell der Elektroneninjektion für MC2OG gekoppelt an TiO ₂ . Der erste angeregte Zustand des Farbstoffes liegt energetisch oberhalb der Bandkante des Halbleiters, sodass ein Elektronentransfer möglich ist.	74
4.12	Farbänderungen bei Kopplung von Merocyaninen.	74
4.13	Normierte Absorptions- und Fluoreszenzspektren von MC2HW und MC2OG in Methanol. Anregungswellenlängen: 480 nm (MC2HW), 550 nm (MC2OG).	76

4.14	Absorptions- und Fluoreszenzspektren von MC2OG pur (rot) und gekoppelt an TiO ₂ (schwarz) in MeOH. Die Verschiebung des Absorptionsmaximums sowie die unterdrückte Fluoreszenz bei Kopplung aufgrund der schnellen Elektronentransferreaktion sind klar zu erkennen. Die Anregung zur Messung der Fluoreszenz erfolgte bei 550 nm. . . .	77
4.15	Konzentrationsabhängigkeit der Absorption für MC2HW in EtOH (links) sowie für MC2HW gekoppelt an TiO ₂ in einem 4:1 H ₂ O/EtOH-Gemisch (rechts). Deutlich zu erkennen ist die Bildung von blauverschobenen H- und rotverschobenen J-Aggregaten für das gekoppelte System.	79
4.16	Darstellung verschiedener Aggregattypen bei Kopplung von Merocyaninen an Titandioxid. Der Punkt repräsentiert die Carboxylgruppe. Links: Verschiedene H-Aggregate Rechts: J-Aggregat	79
4.17	Konzentrationsabhängigkeit der Absorption für pures MC2OG (links) sowie für an TiO ₂ gekoppeltes MC2OG in MeOH (rechts). Im Gegensatz zu wässriger Umgebung (Abbildung 4.15) kommt es nicht zur Bildung von Aggregaten.	80
4.18	Transiente Absorptionsänderungen von MC2HW nach Photoanregung bei 555 nm. Rot entspricht positiver Absorptionsänderung und blau negativer.	81
4.19	Transiente Absorptionsänderung für ausgewählte Wellenlängen von ungekoppeltem MC2HW in MeOH.	83
4.20	Transiente Spektren von ungebundenem MC2HW in MeOH.	83
4.21	Transiente Absorptionsänderungen von MC2OG nach Photoanregung bei 600 nm.	84
4.22	Transienten von freiem MC2OG in MeOH.	85
4.23	Transiente Spektren von freiem MC2OG in MeOH im Zeitbereich von 1 ps bis zu 1 ns. Deutlich zu erkennen ist die Absorption des angeregten Zustandes sowie das Ausbleichen des Grundzustands. . .	85
4.24	Zeitkonstanten des globalen Fits für die freien Farbstoffe in Lösung sowie Fitamplituden von MC2OG.	87
4.25	Transiente Spektren im Nano- bis Mikrosekundenbereich nach Anregung bei 532 nm.	88
4.26	Transiente Spektren von MC2HW oberhalb von 550 nm.	89
4.27	Transiente von MC2HW in Lösung bei 675 nm. Die Entstehung der Absorption des Triplettzustands ist zu erkennen. Die Linie zeigt einen Fit mit einer Triplettbildungszeit von $\tau = 2,6$ ps.	91
4.28	Erweitertes Reaktionsmodell für Merocyanine mit zugehörigen Zeiten.	92

4.29	Transiente Absorptionsänderungen von MC2OG/TiO ₂ nach Photoanregung bei 600 nm.	93
4.30	Transiente Spektren für gebundenes MC2OG in MeOH.	94
4.31	Transienten für MC2OG/TiO ₂ in MeOH.	94
4.32	Transiente Absorptionsänderungen von MC2HW/TiO ₂ bei 555 nm . .	96
4.33	Transiente Spektren für gebundenes MC2HW in MeOH nach Photoanregung.	96
4.34	Transienten für MC2HW/TiO ₂ in MeOH.	97
4.35	Amplituden der globalen Fits mit fünf Zeitkonstanten für gekoppeltes MC2OG bei zwei verschiedenen Anregungswellenlängen. Zum Vergleich sind auch die Fitamplituden für den Fit des ungekoppelten MC2OG mit drei Zeitkonstanten gezeigt.	99
4.36	Transienten von gekoppeltem MC2OG in einem Spektralbereich, in dem die Bildung des Kations beobachtet werden kann. Die Linien entsprechen dem globalen Fit. Die Oszillationen sind auf eine zeitliche Entwicklung eines präparierten Wellenpaketes zurückzuführen.	100
4.37	Schwingungsresiduen von MC2HW gekoppelt an TiO ₂ . Die Phasenverschiebung zwischen den Modulationen bei verschiedenen Wellenlängen von annähernd 180° ist deutlich erkennbar.	101
4.38	Darstellung der Ergebnisse der globalen Fouriertransformation der Schwingungsresiduen von MC2HW gekoppelt an TiO ₂	102
4.39	Amplituden des globalen Fits für MC2HW/TiO ₂	103
4.40	Entwickeltes Reaktionsmodell für an TiO ₂ gekoppeltes Merocyanin. .	106

*„Alles, was uns begegnet, lässt Spuren zurück.
Alles trägt unmerklich zu unserer Bildung bei.“
J.W.G.*

1 Einleitung

Photoinduzierte Ladungstransferreaktionen spielen eine zentrale Rolle in zahlreichen natürlichen wie künstlichen Systemen, mit sehr unterschiedlichen Auswirkungen und Konsequenzen. Der bedeutendste lichtgetriebene Prozess ist die Photosynthese mit einem geschätzten Energieumsatz von etwa $3 \cdot 10^{18}$ kJ/Jahr [1]. Ein detailliertes Verständnis der dabei auftretenden Abläufe ist aus naturwissenschaftlicher Sicht daher wünschenswert und wichtig.

Natürliche Photosynthese

Bei der Photosynthese wird Lichtenergie in chemisch gebundene Energie umgewandelt. In der Natur existieren dabei unterschiedliche Wege wie dieses geschehen kann. In der chlorophyllabhängigen Photosynthese, wie sie in höheren Pflanzen und photosynthetischen Bakterien vorkommt, wird das Licht von chlorophyllhaltigen Antennenpigmenten absorbiert. Da bakterielle Photosynthesysteme i.a. deutlich einfacher aufgebaut sind als die pflanzlichen, und außerdem seit Mitte der achtziger Jahre die Strukturen von photosynthetischen Reaktionszentren aus Purpurbakterien bekannt sind [2–5], stehen besonders diese Systeme über die letzten Jahre im Zentrum zahlreicher Untersuchungen und viele Reaktionsschritte konnten beobachtet und verstanden werden. Nach der Absorption eines Photons durch den Lichtsammelkomplex wird die aufgenommene Energie vornehmlich mittels Förster-Energietransfer auf das Reaktionszentrum übertragen („excitation energy transfer“) [6]. Dort findet eine Ladungstrennung mittels einer Serie von Elektronentransferschritten statt. Ein Chinonmolekül im Reaktionszentrum kombiniert Elektronen- und Protonentransfer und diffundiert anschließend zum bc_1 -Komplex. In diesem Transmembrankomplex werden Protonen über die Zellmembran transportiert. Die aus dem erzeugten Protonengradienten resultierende protonenmotorische Kraft („proton motive force“) ermöglicht die ATP-Bildung durch die ATP-Synthase.

Im Gegensatz dazu werden bei der retinalabhängigen Photosynthese die Eigenschaften von Reaktionszentrum und bc_1 -Komplex in einem retinalhaltigen Protein vereinigt. Bei dieser bis vor kurzem nur in halophilen Archaea auftretenden zweiten Art der Photosynthese wird die absorbierte Lichtenergie mittels Bakteriorhodopsin direkt in protonenmotorische Kraft zum Antrieb der ATP-Synthase umgewandelt. Neben der lichtgetriebenen Protonenpumpe Bakteriorhodopsin kennt man in halophilen Archaea noch drei weitere Rhodopsine. Halorhodopsine dienen zum photoin-

duzierten Transport von Anionen über die Zellmembran, während Sensorrhodopsin I und Sensorrhodopsin II als Photorezeptoren am Prozess der Phototaxis beteiligt sind.

Die Charakterisierung verschiedener Rhodopsine begann vor über 30 Jahren [7,8] und ist noch immer Gegenstand aktueller Forschung [9–11]. Bis vor wenigen Jahren konnten diese Proteine aber außer in der Domäne der Archaea nur bei den Eukaryoten nachgewiesen werden [12]. Seit 2001 ist jedoch bekannt, dass Rhodopsine in allen drei Domänen des Lebens auftreten. Durch „environmental genomics“ von Meerwasser wurde ein Protein mit einer rhodopsinähnlichen Aminosäuresequenz gefunden [13, 14].

Seitdem wird dieses Proteorhodopsin trotz der Tatsache, dass es bis vor wenigen Wochen nicht gelungen war einen Proteorhodopsin-kodierenden Bakterienstamm zu kultivieren [15] vielfach untersucht. Die Hauptinteressen zahlreicher Studien sind der Photozyklus sowie die Funktion als Protonenpumpe. Daneben wird die Bedeutung von Proteorhodopsin für die Energiebilanz der euphotischen Zone der Meere ausgiebig diskutiert [16].

Der primäre Schritt des Photozyklus von Proteorhodopsin, in dessen Verlauf ein Proton über die Zellmembran transportiert wird, ist die Isomerisierung des kovalent gebundenen Farbstoffs Retinal. Aus Untersuchungen an archaealen Rhodopsinen ist bekannt, dass dabei die Proteinumgebung einen entscheidenden Einfluss auf die Effektivität, Selektivität und Geschwindigkeit der photoinduzierten Isomerisierung hat. Veröffentlichungen über eine pH-abhängige Umkehr der Protonenpumprichtung bei Proteorhodopsin [17] legten die Vermutung nahe, dass die Änderung des pH-Wertes auch Einfluss auf die Primärdynamik hat.

Mittels Femtosekundenspektroskopie konnte für verschiedene Rhodopsine nicht nur gezeigt werden, dass die ersten Schritte innerhalb weniger 10 fs stattfinden, sondern es konnten auch wichtige Beiträge zum Verständnis der gesamten Reaktion geliefert werden [18, 19]. Aus diesem Grund bietet sich diese Methode auch zur Untersuchung der Primärdynamik des neuentdeckten Proteorhodopsins an.

Artifizielle Photosynthese

Um die Energieversorgung auch über die Verfügbarkeit von fossilen Brennstoffen hinaus sicherzustellen, werden eine Vielzahl alternativer Energiekonzepte untersucht. Am vielversprechendsten scheinen dabei die Ansätze zu sein, bei denen die

primäre Energiequelle Sonnenlicht benutzt wird und nicht die, bei denen auf Sekundärquellen wie z.B. Wind oder Wasser gesetzt wird. Dabei ist es sinnvoll sich an der seit fast 4 Milliarden Jahren bewährten Energiegewinnung der Natur zu orientieren und die Photosynthese als Vorbild zu nehmen, wie es in der Grätzelzelle geschieht [20]. Hierbei handelt es sich um farbstoffsensibilisierte Halbleiter, wobei der Farbstoff als „Lichtsammelkomplex“ und „Reaktionszentrum“ in einem dient. Die Ladungstrennung erfolgt durch einen Elektronentransfer aus dem Farbstoff in den Halbleiter. Diese Solarzelle wurde Anfang der Neunziger Jahre entwickelt und erreicht mittlerweile Wirkungsgrade von über 10 %. Zum Verständnis des primären Elektronentransfers wurden seit dem ersten funktionsfähigen System verschiedene Farbstoff-Halbleiter-Systeme untersucht und es konnten Elektronentransferzeiten im Bereich von 6 fs bis hin zu mehreren 100 fs beobachtet werden [21–24].

Obwohl Merocyanine schon seit langem als photosensibilisierende Farbstoffe bekannt sind, existieren noch keine Untersuchungen der Primärdynamik von Merocyanin-Halbleiter-Systemen. Neben des Elektronentransfers in den Halbleiter ermöglicht es ihr Aufbau mit einer konjugierten Polymethinkette auch die Isomerisierungskinetik zu betrachten. Der Einfluss der Isomerisierung auf Elektronentransferraten bei Kopplung kann untersucht und mit dem ungekoppelten Farbstoff verglichen werden.

Zur Charakterisierung des Elektronentransfers bietet sich auch hier die Femtosekundenspektroskopie im sichtbaren Spektralbereich an. Mit dieser Methode können die strukturellen Änderungen der Chromophore sowie Auswirkungen auf die Umgebung direkt beobachtet werden. Da es sich insbesondere bei Proteorhodopsin um ein empfindliches System handelt, muss das zu benutzende Femtosekundenspektrometer für kleine Probenmengen sowie auf kurze Messzeiten optimiert werden. Der prinzipielle Aufbau des verwendeten Femtosekundenspektrometers mit den notwendigen Modifikationen findet sich im zweiten Kapitel.

Durch die entsprechenden Optimierungen war es möglich, die Primärdynamik von Proteorhodopsin sowohl in Membranen rekonstituiert als auch in Detergens solubilisiert erstmalig zu untersuchen. Es konnte gezeigt werden, dass sich solubilisierte und rekonstituierte Proteorhodopsine in ihrer Primärdynamik sehr ähnlich verhalten. Weiterhin konnte ein Reaktionsmodell der Primärreaktion entwickelt werden, mit dem sich auch die pH-Abhängigkeit verstehen lässt. Die entsprechenden Untersuchungen sowie die Diskussion der Ergebnisse werden im dritten Kapitel präsentiert.

Für freie Merocyaninfarbstoffe in Lösung zeigte sich nach Photoanregung eine schnelle Triplettbildung, sowie die Bildung eines verdrehten Moleküls. Die kurzspektroskopischen Daten erlaubten eine Erweiterung des existierenden Reaktionsmodells der Deaktivierung. Für das gekoppelte System war eine Triplettbildung dagegen nicht zu beobachten und die Isomerisierung beschleunigte sich um den Faktor 20. Außerdem war eine schnelle Elektroneninjektion mit einer Zeitkonstanten von 80 fs zu erkennen. Sämtliche Ergebnisse für Merocyanin-TiO₂-Systeme konnten in einem Reaktionsmodell der Deaktivierung nach Photoanregung zusammengefasst werden und werden im vierten Kapitel vorgestellt.

*„Alles auf der Welt kommt auf einen gescheiten Einfall
und auf einen festen Entschluß an ...“
J.W.G.*

2 Experimentelle Techniken

Zur Untersuchung aller Systeme wurden transiente Absorptionsexperimente durchgeführt. Dabei wurden die Proben bei verschiedenen Zentralwellenlängen angeregt und mit spektral breitbandigem Licht abgetastet. In diesem Kapitel wird zunächst der experimentelle Aufbau zur Messung der transienten Absorption vorgestellt. Im Anschluss erfolgt eine kurze Beschreibung des Aufbaus zur Messung der zeitaufgelösten Fluoreszenz.

2.1 Prinzip der optischen Femtosekundenspektroskopie

Zur Messung ultraschneller Prozesse unterhalb einer Nanosekunde reicht die mit herkömmlichen Detektoren erreichbare Zeitauflösung von wenigen Nanosekunden nicht aus. Daher muss ein anderes Prinzip zur Untersuchung dieser schnellen Prozesse Anwendung finden. Eine Möglichkeit hierfür bietet die optische Anregungs-Abtast-Spektroskopie (auch Pump-Probe-Spektroskopie). Ein intensiver Laserimpuls (Anregungsimpuls) startet die zu untersuchende Reaktion, während mit einem zweiten gegenüber dem ersten zeitlich verzögerten Impuls die Probe abgetastet wird (Abtastimpuls). Mit diesem deutlich schwächeren Impuls wird die Veränderung der Absorption gemessen. Die zeitliche Verzögerung wird dadurch erreicht, dass der Abtastimpuls eine längere Strecke oder der Anregungsimpuls eine kürzere Strecke zurücklegt. Wird diese Messung für verschiedene Verzögerungszeiten zwischen den beiden Impulsen wiederholt, erhält man die Transmission der Probe als Funktion der Zeit und kann somit die Dynamik der Probe zu kurzen Zeiten untersuchen (siehe Abbildung 2.1). Die Zeitauflösung wird zu kurzen Zeiten durch verschiedene Parameter bestimmt, wie durch die Präzision der Einstellung der unterschiedlichen Weglängen, geometrische Anordnungen der Strahlen oder durch die zeitliche Dauer der verwendeten Impulse. Zu langen Zeiten wird der Messbereich durch den maximalen Verfahrweg der variablen Verzögerungsstrecke sowie durch die Divergenz des Anregungsstrahls bestimmt. Die Verfügbarkeit von Lichtquellen mit Pulslängen von unter 10 fs ermöglicht es, Reaktionsdynamiken zu beobachten die sich in diesem Zeitbereich abspielen.

In diesem Kapitel soll ein kurzer Überblick über die Impulserzeugung, die notwendige Konversion auf geeignete Wellenlängen, den Probenbereich, die Datenerfassung sowie die notwendige Datenaufbereitung gegeben werden.

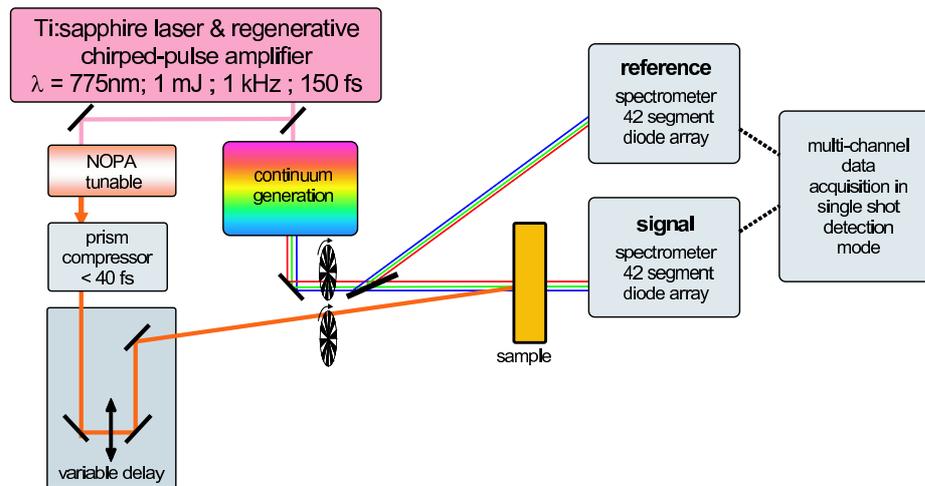


Abbildung 2.1: Prinzipieller Aufbau des Femtosekundenspektrometers ausgehend von Impulsen aus einem Kurzpulslasersystem.

2.2 Femtosekundenlaser als Lichtquelle

Das Prinzip, auf dem die Erzeugung kurzer Impulse im Femtosekundenbereich mit genügend Energie für die Anregungs-Abtast-Spektroskopie basiert, ist die „chirped pulse amplification“ (CPA). Dieses Prinzip hat sich als zuverlässig und daher routinemäßig einsetzbar erwiesen. Dabei werden zunächst breitbandige Impulse mit relativ niedriger Energie in einem Oszillator erzeugt. Im Anschluss werden diese in einen Verstärker eingekoppelt und um etwa sechs Größenordnungen in ihrer Intensität verstärkt. Der hier verwendete Oszillator als Quelle für die Femtosekundenlichtimpulse ist überwiegend in Faseroptik aufgebaut. Dieses bietet den Vorteil erhöhter Stabilität im Vergleich zu einem Freistrahl Aufbau. Der Nachteil besteht jedoch darin, dass sich die Wellenlänge der erzeugten Impulse in einem Faseroptikaufbau aufgrund des verwendeten aktiven Mediums nicht verändern lässt. Zur Erzeugung kurzer Impulse müssen zwei Hauptanforderungen erfüllt sein. Zum einen muss das aktive Medium des Lasers eine genügend hohe Verstärkungsbandbreite besitzen. Zum anderen muss im Laserresonator ein geeigneter Modenkopplungsmechanismus stattfinden. In dem hier verwendeten Laser wird eine erbiumdotierte Glasfaser als aktives Medium eingesetzt. Als Modenkopplungsmechanismus wird die nichtlineare Polarisationsdrehung verwendet [25, 26]. Hierbei ändert sich durch nichtlineare Effekte die Polarisation über den Impulsverlauf. Anschließend wird das Licht des Impul-

ses derartig selektiert, dass die Impulsmitte ungehindert passieren kann, während die Impulsflanken einen Verlust erfahren. Mit dieser Methode ist es routinemäßig möglich Impulslängen in der Größenordnung von 100 fs zu erzeugen. Da die mit einem Erbiumfaserlaser erzeugten Impulse eine Zentralwellenlänge von 1550 nm besitzen, müssen diese noch auf eine für den anschließenden Verstärkungsprozess geeignete Wellenlänge umgesetzt werden. Dies geschieht indem die Frequenz verdoppelt bzw. die Wellenlänge halbiert (auf 775 nm) wird (siehe auch Abschnitt 2.5).

2.3 Erzeugung der verstärkten Impulse

Da die Energie der durch den Oszillator erzeugten Impulse für die notwendigen nichtlinearen Prozesse nicht ausreicht, müssen die erzeugten Impulse nachverstärkt werden. Hierzu wird das o.g. Prinzip der „chirped pulse amplification“ verwendet. Ein Nanosekundenlaserimpuls regt einen Ti:Saphir-Kristall, der als aktives Medium in einem Resonator platziert ist, an. Ein im Anschluss daran aus dem Oszillator eingekoppelter Femtosekundenlaserimpuls nimmt die im Kristall deponierte Energie bei mehreren Umläufen (hier: 7) auf und wird anschließend wieder aus dem Resonator ausgekoppelt. Die Ein- und Auskopplung in bzw. aus dem Resonator erfolgt über eine Kombination aus einer Pockelszelle und einem polarisationsabhängigen Strahlteiler. Um eine Zerstörung der Optiken und insbesondere des Kristalls bei diesem Verstärkungsvorgang zu vermeiden, werden die Impulse aus dem Oszillator durch Einführung von zusätzlicher Dispersion mittels einer Gitteranordnung [27] zunächst zeitlich gedehnt („gechirpt“) und nach der Verstärkung wieder komprimiert. Mit auf diesem Prinzip basierenden Lasersystemen können Pulsdauern von 150 fs mit Pulsenergien von 800 μ J bei Zentralwellenlängen von 775 nm erreicht werden.

2.4 Weißlicht, Erzeugung der Abtastimpulse

Für einen routinemäßigen Einsatz des hier aufgebauten Kurzzeitspektrometers ist es notwendig, die Anregungswellenlänge ohne große Änderungen am Aufbau an die spektralen Charakteristika der Probe anzupassen. Dies geschieht mittels des weiter unten beschriebenen NOPA, in dem Weißlicht ($\hat{=}$ spektral breites Licht, Superkontinuum) als Seedquelle eingesetzt wird. Weiterhin ist es wünschenswert, die Dynamik

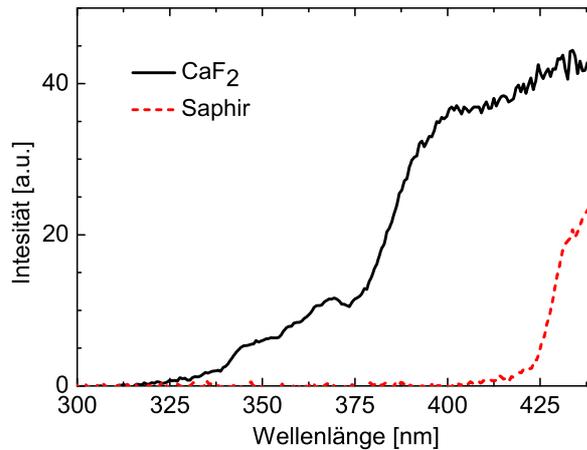


Abbildung 2.2: Vergleich typischer Weißlichtintensitäten bei Erzeugung in Kalziumfluorid (CaF_2) und Saphir. Deutlich zu erkennen sind die intensiveren Anteile im UV-Bereich bei CaF_2 .

der Probe über einen großen spektralen Bereich zu untersuchen. Auch hierbei bietet sich die Verwendung von Weißlicht an.

Zur Erzeugung solcher Impulse gibt es verschiedene Möglichkeiten. Große Bandbreiten lassen sich z.B. mit edelgasgefüllten Hohlfasern [28,29] oder mit sehr dünnen Quarzfasern [30] erzeugen. Auch mikrostrukturierte Glasfasern mit einer wabenförmigen Struktur werden zur Weißlichterzeugung eingesetzt [31,32]. Die von vielen Hohlräumen durchsetzten Fasern führen zu einer negativen Gruppengeschwindigkeitsdispersion, was die Erzeugung extrem breiter Spektren möglich macht (550 THz). Eine andere sehr verbreitete Methode zur Weißlichterzeugung ist die Erzeugung in transparenten Festkörpern [33]. Hierbei lassen sich sehr stabile und spektral breite Impulse erzeugen. Die Effekte die dabei hauptsächlich zur Erzeugung der zusätzlichen spektralen Komponenten beitragen sind nichtlineare Effekte höherer Ordnung wie z.B. Selbstfokussierung und Selbstphasenmodulation [34]. Effekte wie das Vier-Photonen-Mischen, die stimulierte Raman- und Brillouinstreuung oder die Bandlücke des verwendeten Materials bestimmen dabei die spektralen Eigenschaften des Weißlichtkontinuums [35,36]. Obwohl der genaue Mechanismus noch immer diskutiert wird [37–40], wird dieser Prozess im Bereich der Kurzzeitspektroskopie häufig eingesetzt. Geeignete Medien zur Weißlichterzeugung sind beispielsweise Saphir, Kalziumfluorid (CaF_2) oder auch Wasser. In den hier vorgestellten Experi-

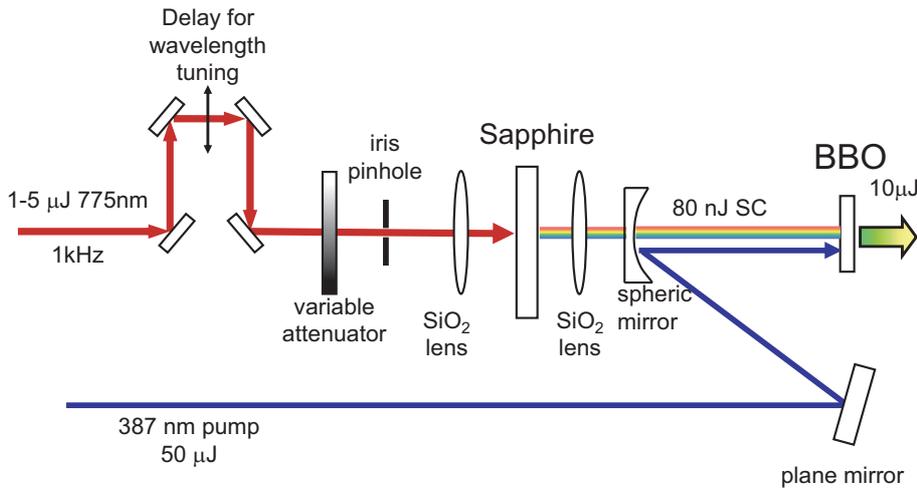


Abbildung 2.3: Prinzipieller Aufbau des NOPA inklusive Weißlichterzeugung in Saphir (Draufsicht).

menten wird abhängig von den speziellen Anforderungen der untersuchten Probe entweder Saphir oder Kalziumfluorid verwendet.

Für die Weißlichterzeugung im NOPA kam aus Stabilitätsgründen nur Saphir zum Einsatz, während zur Erzeugung der Abtastimpulse je nach Anforderung Saphir- oder CaF₂-Substrate verwendet wurden. CaF₂ bietet den Vorteil Licht mit höher-energetischen Anteilen zu generieren als Saphir. Das mit Saphir generierte Weißlicht deckt einen spektralen Bereich von 450 nm bis 1600 nm ab, während CaF₂-Weißlicht signifikante Beiträge bereits ab 340 nm liefert (siehe Abbildung 2.2). Damit ist es möglich mit dem hier benutzten Aufbau Absorptionsänderungen über den sichtbaren Bereich bis hinunter zu 340 nm zu detektieren.

Für beide Weißlichterzeugungen wurde jeweils ein kleiner Teil der Lichtimpulse aus dem Kurzpulslasersystem abgespalten und in das entsprechende Medium fokussiert. Für Saphir reichte eine Energie von minimal etwa 1 μJ aus, während für die Erzeugung in CaF₂ eine höhere Energie nötig war. Die Konversionseffizienzen liegen dabei unter 1% für Saphir und bei etwa 2% für CaF₂. Die Stabilität des erzeugten Weißlichts wird maßgeblich durch das Strahlprofil und die Pulsenergie bestimmt. Deswegen befindet sich vor der Linse ($f=50$ mm), mit der in das Medium fokussiert wird, sowohl eine Irisblende zur Einstellung der Mode als auch ein variabler Abschwächer (Graukeil), mit dem die Energie fein eingestellt werden kann (siehe Abbildung 2.3). Weiterhin ist noch zu beachten, dass beim CaF₂ an der Oberfläche

Degradationserscheinungen auftreten. Wie bereits in Ref. [41] und [42] erwähnt, können diese minimiert werden, indem das CaF_2 -Substrat bewegt wird. Dabei reicht es im Gegensatz zu Angaben in Ref. [43] nicht aus, das Substrat nur in eine Richtung zu verschieben. Die Degradationserscheinungen traten bei dieser eindimensionalen Bewegung weiterhin innerhalb weniger Minuten auf. Erst eine Verschiebung in zwei Richtungen (X und Y) verlängerte die Einsetzbarkeit des Substrates auf einige Tage bei kontinuierlichem Messbetrieb. Damit waren verlässliche Femtosekundenmessungen möglich. Nach dieser Zeit war das CaF_2 -Substrat nicht mehr verwendbar und musste ersetzt werden. Die Degradation des CaF_2 scheint mit der Länge der verwendeten Pulse zu korrelieren. Die hier verwendeten Pulse von 150 fs sind deutlich länger als die in Ref. [43] benutzen (90 fs), wo eine Verschiebung in eine Richtung für stabiles Weißlicht über mehrere Tage ausreichte.

Im Gegensatz zu CaF_2 liefert ein Saphirsubstrat stabile Pulse über Monate hinweg und musste während der gesamten Messzeit niemals ersetzt werden. Zum Einsatz kamen 2 mm dicke Saphirplättchen, deren optische Achse senkrecht zur Oberfläche orientiert war. Kalziumfluoridplättchen besaßen ebenfalls eine Dicke von 2 mm und wurden mit einer Abweichung der Planparallelität von weniger als 2'' verwendet.

2.5 Parametrische Konversion, Erzeugung der Anregungsimpulse

2.5.1 Impulserzeugung

Um eine flexible Nutzung des aufgebauten Femtosekundenspektrometers für verschiedene Proben zu gewährleisten, ist es notwendig, die Wellenlänge des Anregungslichtes an die entsprechenden Proben anzupassen. Das oben vorgestellte Kurzpulslasersystem besitzt aufgrund des Faserresonators eine nicht veränderliche Wellenlänge von 775 nm. Daher muss die Wellenlängenkonversion extern erfolgen. Dies geschieht unter Ausnutzung verschiedener nichtlinearer Effekte.

Die Polarisierung eines Mediums kann als Funktion des Feldes beschrieben werden:

$$\mathbf{P}(\mathbf{E}) = \epsilon_0 \cdot (\chi^1 \mathbf{E} + \chi^2 \mathbf{E}\mathbf{E} + \chi^3 \mathbf{E}\mathbf{E}\mathbf{E} + \dots).$$

Hierin entspricht χ^n dem Tensor der elektrischen Suszeptibilität n-ter Ordnung und

$\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ As/Vm der elektrischen Feldkonstanten. In Festkörpern beträgt die Größenordnung für χ^1 etwa 1, für χ^2 etwa 10^{-12} m/V und χ^3 etwa 10^{-21} m²/V² im Bereich des sichtbaren Lichts [44].

Der erste Term beschreibt den linearen Teil der Polarisierung (\mathbf{P}_L) und die weiteren Terme können zur nichtlinearen Polarisierung (\mathbf{P}_{NL}) zusammengefasst werden. Dann lässt sich

$$\mathbf{P}(\mathbf{E}) = \epsilon_0 \cdot (\epsilon - 1)\mathbf{E} + \mathbf{P}_{NL} = \mathbf{P}_L + \mathbf{P}_{NL}$$

schreiben, wobei $\epsilon = \chi^1 + 1$ der linearen Dielektrizitätskonstante entspricht.

Als Maß für die Unterscheidung, ob eine Beschreibung im Rahmen der linearen Optik erfolgen kann ($\mathbf{P}(\mathbf{E}) \approx \mathbf{P}_L$), kann die Feldstärke der betrachteten Felder im Vergleich zu in Atomen herrschenden Feldstärken herangezogen werden. Ist dieses Verhältnis deutlich kleiner als eins ($\mathbf{E}_{\text{Licht}}/\mathbf{E}_{\text{Atom}} \ll 1$), so ist eine lineare Beschreibung gerechtfertigt. Für alle klassischen Lichtfelder wie Lampen o.ä. ist diese Bedingung erfüllt. Für (gepulste) Laser mit deutlich höheren Feldstärken, ist eine lineare Beschreibung allerdings nicht mehr ausreichend und höhere Ordnungen der Polarisierung müssen berücksichtigt werden ($\mathbf{P}(\mathbf{E}) = \mathbf{P}_L + \mathbf{P}_{NL}$).

Die Frequenzverdopplung und die optische parametrische Verstärkung sind Beispiele für Effekte zweiter Ordnung und können nur für $\chi^2 \neq 0$ auftreten. Aus Symmetriegründen werden sie nur in Kristallen ohne Inversionszentrum wie z.B. β -Bariumborat (BBO) beobachtet.

Effekte dritter Ordnung ($\chi^2 = 0, \chi^3 \neq 0$) sind z.B. Frequenzverdreifung, Zweiphotonenabsorption, Selbstphasenmodulation oder Selbstfokussierung. Die beiden letztgenannten Prozesse spielen im Rahmen dieser Arbeit sowohl im Oszillator (Abschnitt 2.3) als auch bei der Weißlichterzeugung (Abschnitt 2.4) eine Rolle.

Bei der optisch parametrischen Verstärkung wie sie auch im NOPA (= **N**oncol-linear **O**ptical **P**arametric **A**mplifier) vorkommt (Abbildung 2.3), wird anschaulich ein höherenergetisches Photon (Pumpphoton P) in zwei niederenergetische Photonen (Signalphoton S und Idlerphoton I) unter Berücksichtigung von Energie- und Impulserhaltung aufgespalten. Die beiden dabei entstehenden Photonen müssen nicht dieselbe Energie besitzen. Durch das einstellbare Aufteilungsverhältnis und den damit verbundenen abstimmbaren Spektralbereich wird die optisch parametrische Verstärkung vielfältig eingesetzt. Für den in dieser Arbeit verwendeten Aufbau lag die Zentralwellenlänge der Pumpphotonen immer bei 387,5 nm. Diese wurde

durch Frequenzverdopplung der 775-nm-Impulse des Kurzpulslasersystems erhalten. Die Signalphotonen haben Wellenlängen im sichtbaren Bereich (460-700 nm). Die zugehörigen Idlerphotonen liegen im Infrarotbereich. Die Umsetzung der eingestrahelten Wellenlänge kann in geeigneten Kristallen spontan, d.h induziert durch Vakuumfluktuationen, erfolgen. Strahlt man aber neben dem Pumpimpuls auch noch Photonen mit einer geeigneten Zentralwellenlänge ein, so konzentriert sich die Konversion auf den Wellenlängenbereich des einfallenden Strahls. Nach dem Durchgang durch das nichtlineare Medium stehen mehr Photonen der eingestrahelten Wellenlänge zur Verfügung. Das entspricht einer Signalverstärkung.

Außer der Energieerhaltung muss bei allen nichtlinearen Prozessen auch noch die Impulserhaltung gewährleistet sein. Die beteiligten Wellenvektoren müssen sich zu Null addieren lassen (Phasenanpassung):

$$\vec{k}_{\text{pump}} = \vec{k}_{\text{signal}} + \vec{k}_{\text{idler}}$$

Für die Phasenanpassung lassen sich zwei Fälle unterscheiden. Sind die beiden Wellenvektoren \vec{k}_{signal} und \vec{k}_{idler} parallel zueinander, kann die Gleichung in skalarer Form geschrieben werden. Es liegt kollineare Phasenanpassung vor. Sind beide Wellenvektoren linear unabhängig, kann die Phasenanpassung nur nichtkollinear erfolgen. Möglichkeiten zur Phasenanpassung bieten sich durch Verwendung von Materialien mit anomaler Dispersion, periodischen Strukturen, künstlichen Übergittern oder speziellen Wellenleiterstrukturen. Am häufigsten werden jedoch doppelbrechende Kristalle verwendet, in denen der unterschiedliche Brechungsindex für verschiedene Polarisierungen ausgenutzt wird. Orientiert man das eingestrahelte Lichtfeld geeignet zur Kristallachse, so ist ein Angleichen der Brechungsindizes von Signal- und Idlerstrahl und damit Phasenanpassung möglich. Üblicherweise ist die Polarisation des eingestrahelten Seedfeldes und auch die Polarisation des Signalfeldes „ordentlich“ orientiert. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit im Kristall ist damit im Gegensatz zur Ausbreitungsgeschwindigkeit der Idlerwelle unabhängig vom Winkel zur optischen Achse. Von Phasenanpassung erster Art spricht man, wenn die beiden eingestrahelten Felder ordentlich polarisiert sind. Bei verschieden polarisierten Feldern spricht man von Phasenanpassung zweiter Art [44]. Auch andere Definitionen für Typ I und Typ II Phasenanpassung sind gebräuchlich [45].

Anschaulich kann Phasenanpassung als gleichschnelle Ausbreitung der Wellenfronten von Signal- und Idlerwelle verstanden werden. Da sich Signal- und Idlerphotonen gleichzeitig entstehen, ist auf diese Weise sichergestellt, dass es über die gesamte Länge des nichtlinearen Mediums zu phasenrichtiger Verstärkung kommt. Stimmen die Phasengeschwindigkeiten nicht überein, besitzt das erzeugte Licht je nach Position im Kristall verschiedene Phasen. Dadurch kann es zu destruktiver Interferenz und zu einer Abnahme der Konversionseffizienz kommen. Der in dieser Arbeit verwendete optisch parametrische Verstärker ist in nichtkollinearer Anordnung aufgebaut. Dadurch steht ein weiterer Freiheitsgrad zur Verfügung. Durch einen definierten Nichtkollinearitätswinkel Ω zwischen Pump- und Signalwelle kann eine Erhöhung der Verstärkungsbandbreite, sowie eine Minimierung pulsverlängernder Effekte erreicht werden. Das ist eine wichtige Voraussetzung für ultrakurze Lichtimpulse. Ziel ist es dabei, die Gruppengeschwindigkeiten für Signal- (v_S^g) und Idlerwelle (v_I^g) so anzupassen, dass die Projektion der Gruppengeschwindigkeit des Idlers auf die Richtung der Signalwelle gleich der Gruppengeschwindigkeit der Signalwelle ist ($v_S^g = \cos(\Omega) \cdot v_I^g$). Die Wellenlängenabstimmung der optisch parametrischen Verstärkung kann dann einfach durch Veränderung der Wellenlänge der Seedphotonen eingestellt werden, da die Phasenanpassung für einen großen Wellenlängenbereich erfüllt ist.

Die Erzeugung der Seedphotonen erfolgt in einem Weißlichtkontinuum. Der bei der Erzeugung entstehende lineare Chirp sowie der Durchgang durch Material führen zu einer Verlängerung des Impulses. Dadurch erreichen nicht alle erzeugten Weißlichtphotonen gleichzeitig den Kristall. Nur ein bestimmter Wellenlängenbereich besitzt zeitlichen Überlapp mit dem Pumpimpuls und „seedet“ den nichtlinearen Prozess. Variiert man die zeitliche Differenz zwischen Seed- und Pumpimpuls durch Änderung der zurückgelegten Wege, so lässt sich die verstärkte Wellenlänge des NOPA selektieren. Theoretische Abhandlungen über nichtkollineare optisch parametrische Verstärker lassen sich in [46–59] finden. Mit dieser Technik ist es möglich, routinemäßig im Labor abstimbare Impulse mit Pulsdauern von wenigen 10 fs und Impulsenergien von wenigen μJ zu erzeugen. In den transienten Absorptionsmessungen in dieser Arbeit wurden alle Anregungsimpulse mit dem Prinzip des NOPA erzeugt. Typische Bandbreiten der benutzten Anregungsimpulse lagen zwischen 30 und 50 nm. Genauere Angaben zu den jeweiligen Anregungsimpulsen finden sich in den entsprechenden Abschnitten.

2.5.2 Impulskompression

Die Verstärkungsbandbreiten des hier verwendeten NOPA ermöglichen aufgrund des Pulsdauer-Bandbreite-Produkts Impulslängen von 10-15 fs. Nach dem Verstärkungsprozess erhält man jedoch zunächst linear gechirpte Impulse mit einer Länge von über 100 fs. Diese Impulsdauer kommt zustande, da der Seedimpuls aufgrund des Erzeugungsprozesses linearen Chirp besitzt, welcher den Verstärkungsprozess überdauert. Die Impulse des NOPA können aber sehr effizient mit einem Prismenkompressor komprimiert werden. Die prinzipielle Funktionsweise ähnelt dabei der eines in Ref. [27] vorgestellten Gitterkompressors. Durch ein Quarz-Brewster-Prisma (allgemein: dispersives Element) werden die verschiedenen spektralen Komponenten des einfallenden Lichtes aufgespalten und durchlaufen verschiedene Wegstrecken. Die beim Durchgang durch das erste Prisma verkippte Pulsfront wird durch den Durchgang durch ein zweites Prisma wieder senkrecht zur Ausbreitungsrichtung eingestellt. Ein Prismenpaar in inverser Anordnung, oder wie hier, der Durchgang durch dasselbe Prismenpaar in umgekehrter Reihenfolge, vereinigt die spektralen Komponenten wieder in einer Strahlmode. In dem für die Untersuchungen dieser Arbeit aufgebauten Prismenkompressor kann der Abstand zwischen den beiden Prismen zur Anpassung der negativen Dispersion an verschiedene Chirpbeiträge der NOPA-Impulse verändert werden. Hierzu befindet sich zwischen den Prismen ein auf einen Verschiebeschlitten montierter Retroreflektor. Damit ist es schnell und problemlos möglich, den Prismenkompressor an die eingestellte Wellenlänge des NOPA anzupassen. Typische Kreuzkorrelationsbreiten nach Einstellung des Prismenkompressors am Probenort liegen bei $\tau_{cc} = 30$ fs. Abweichungen vom theoretisch erreichbaren Wert ergeben sich dadurch, dass der Impuls nicht nur Chirp erster Ordnung besitzt, sondern auch Anteile höherer Ordnungen, die sich mit einem Kompressor alleine nur ungenügend kompensieren lassen. Hierzu wären speziell anzufertigende Elemente zur Kompensation notwendig, wie z.B. spezielle Spiegel („chirped mirrors“), deren dielektrische Schichten derart konstruiert sind, dass sie den Chirp höherer Ordnungen kompensieren [60, 61]. Mit derartigen Spiegeln ist es möglich, fourierbegrenzte Impulse aus einem NOPA zu erhalten. Hierbei gibt man jedoch die spektrale Abstimmbarkeit auf, da sich entsprechende Spiegel nur für bestimmte Zentralwellenlängen optimiert herstellen lassen.

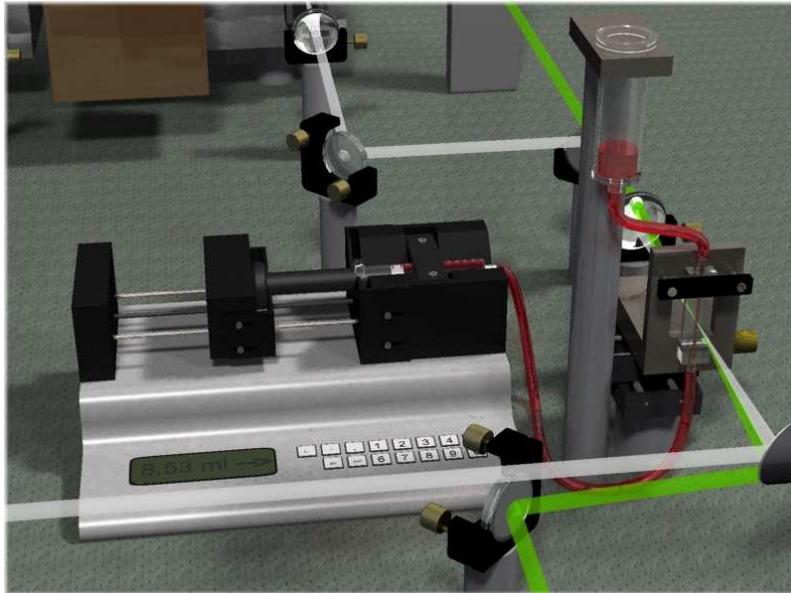


Abbildung 2.4: Darstellung des Probenbereichs mit Küvette und Spritzenpumpe.

2.6 Probenbereich

Anregungs- und Abtastimpuls müssen sich in der Küvette überlappen, damit dasselbe Probenvolumen angeregt und abgetastet werden kann. Ein langer Überlappungsbereich führt zu großen Absorptionsänderungen aber es kommt gleichzeitig aufgrund der unterschiedlichen Gruppengeschwindigkeiten von Anregungs- und Abtastimpuls auch zu einer Verschlechterung der Zeitauflösung. Daher muss ein Kompromiss zwischen beiden Anforderungen gefunden werden. Für die hier vorgestellten Messungen wurde eine Durchflussküvette mit einer Schichtdicke von $500\ \mu\text{m}$ benutzt [62]. Der Winkel zwischen den beiden Strahlen betrug ca. 5° . Der Anregungsbereich war mit einem Durchmesser von $100\ \mu\text{m}$ immer deutlich größer als der Abtastbereich mit einem Durchmesser von ca. $50\ \mu\text{m}$. Dadurch kommt es zu keinen scheinbaren Effekten aufgrund von eventuellen Strahlrichtungsschwankungen durch das Lasersystem selbst oder die variable Verschiebestrecke.

Die Probe wurde mit einer Geschwindigkeit von $10\ \text{ml}/\text{min}$ durch die Küvette bewegt. Dieses reicht bei Annahme einer laminaren Strömung aus, um bei jedem Laserimpuls unangeregte Probe in den Messbereich zu transportieren. Dazu wurde eine Spritzenpumpe verwendet (siehe Abbildung 2.4). An den Umkehrpunkten wurde eine Unterbrechung der Messung sichergestellt. Das kleinste verwendbare Probenvolumen für eine Messung mit diesem Probenkreislauf beträgt $1,5\ \text{ml}$.

2.7 Detektion und Datenverarbeitung

Nach der Erzeugung des Abtastweißlichtes wird dieses in Signal- und Referenzteil aufgespalten, um Schwankungen aufgrund variierender Laserintensität korrigieren zu können. Dabei durchläuft der Referenzteil des Weißlichtes nicht die Probe, sondern wird direkt spektral divergiert um zusätzliche Rauschquellen wie beispielsweise Streulicht im Referenzteil zu minimieren. Der andere Teil passiert die Probe und wird anschließend ebenfalls spektral divergiert. Die spektrale Auflösung beträgt 8 nm. Beim Aufbau wurde sichergestellt, dass sich in beiden Armen jeweils entweder eine gerade oder eine ungerade Anzahl an optisch abbildenden Elementen oder Spiegeln befand, sodass sich evtl. Strahlrichtungsschwankungen gleichmäßig auswirken. Die Detektion erfolgt in beiden Spektrometern mit jeweils einem 42-kanaligen Photodiodenzeilenarray. Die gemessenen Spannungen werden im Einzelschussbetrieb mit einem 96-kanaligen A/D-Wandler (LeCroy 1885) ausgelesen und direkt an den Messcomputer transferiert. Eine genaue Beschreibung der Elektronik, der Signalerfassung und der Analog-Digitalwandlung findet sich in Ref. [63] und [64]. Als Messgröße erhält man eine Ladung, die der auf den Detektor getroffenen Photonenzahl und damit der Intensität proportional ist ($N(\lambda)_{\text{sig}}$ und $N(\lambda)_{\text{ref}}$). Diese wird im ersten Schritt um den Dunkelstrom korrigiert.

$$\begin{aligned} N(\lambda)_{\text{sig}} &= N(\lambda)_{\text{sig,uncorr}} - N(\lambda)_{\text{sig,dark}} \\ N(\lambda)_{\text{ref}} &= N(\lambda)_{\text{ref,uncorr}} - N(\lambda)_{\text{ref,dark}} \end{aligned} \quad (2.1)$$

Nimmt man an, dass die Aufteilung von Signal- und Referenzarm durch den Strahlteiler klar definiert und konstant erfolgt, so würde sich aus dem Verhältnis $\frac{N(\lambda)_{\text{sig}}}{N(\lambda)_{\text{ref}}}$ die Absorption A der untersuchten Probe ermitteln lassen. Experimentell lässt sich das konstante Aufteilungsverhältnis aber nicht für alle spektralen Komponenten gleichzeitig realisieren. Außerdem sind die zu erwartenden Effekte bis zu fünf Größenordnungen kleiner als die Extinktion der entsprechenden Proben. Als Größe zur transienten Charakterisierung wird deshalb die Absorptionsänderung $\Delta A(\lambda)$ benutzt. Diese ergibt sich, wenn man den negativen Logarithmus des Quotienten aus Lichtintensität für den Signal- und Referenzweg bei angeregter Probe mit dem Kehrwert für die unangeregte Probe multipliziert.

$$\Delta A(\lambda) = -\log_{10} \left(\frac{I_{\text{sig,ang}}}{I_{\text{ref,ang}}} \cdot \frac{I_{\text{ref,unang}}}{I_{\text{sig,unang}}} \right) \quad (2.2)$$

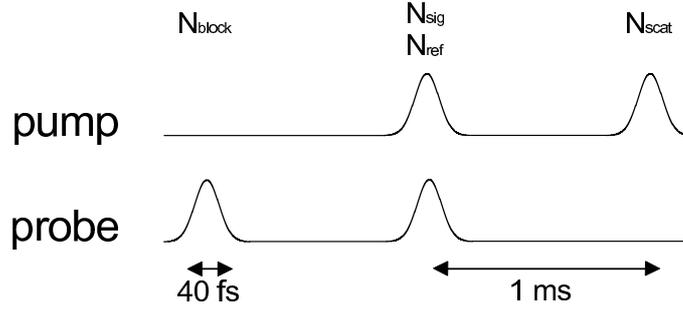


Abbildung 2.5: Ansteuerungsschema für zwei Chopper.

Das Femtosekundenspektrometer wurde während des Aufbaus im Gegensatz zu anderen Aufbauten zur Erhöhung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses modifiziert. Diese Modifikationen sind speziell auf das benutzte Lasersystem CPA 2001 der Firma Clark MXR zugeschnitten. Sie sollten aber auch bei ähnlichen Systemen zur deutlichen Verbesserung der auflösbaren Effekte beitragen.

Es zeigte sich bei Voruntersuchungen, dass eine sehr gute Puls-zu-Puls-Stabilität in Bezug auf die Ausgangsleistung vorlag (RMS < 1%). Allerdings traten Leistungsschwankungen im Bereich mehrerer zehn Millisekunden auf, die sich selbst durch komplette Neujustage und Austauschen von Teilen des Kurzpulslasersystems nicht vermeiden ließen.

Um dennoch Effekte mit $\Delta A < 1 \cdot 10^{-4}$ beobachten und analysieren zu können, wurden zwei Chopper in den Aufbau integriert. Mit einer geschickten Ansteuerung dieser ist es möglich, das Verhältnis $\frac{N(\lambda)_{\text{ref}}}{N(\lambda)_{\text{sig}}}$ für die unangeregte Probe mit jedem dritten Laserimpuls neu zu bestimmen. Das Ansteuerungsschema der Chopper ist in Abbildung 2.5 gezeigt. Es können mit drei Laserimpulsen drei verschiedene Zustände der Probe gemessen und ausgewertet werden.

Zunächst ist der Anregungsstrahl blockiert und es wird die unangeregte Probe abgetastet. Eventuelle Schwankungen im Aufteilungsverhältnis zwischen Signal- und Referenzarm können beobachtet und bei der Auswertung berücksichtigt werden. In anderen Aufbauten wurde dieses Verhältnis vor der eigentlichen Messung bestimmt und für die gesamte Messung als konstant angesehen [65]. Die gemessene Photonenzahl wird genau wie in Gleichung 2.1 um den Dunkelstrom korrigiert:

$$\begin{aligned} N(\lambda)_{\text{sig,block}} &= N(\lambda)_{\text{sig,block,uncorr}} - N(\lambda)_{\text{sig,dark}} \\ N(\lambda)_{\text{ref,block}} &= N(\lambda)_{\text{ref,block,uncorr}} - N(\lambda)_{\text{ref,dark}} \end{aligned} \quad (2.3)$$

Mit dem darauf folgenden Laserimpuls wird die eigentlich Messung durchgeführt. Die Transmission der angeregten Probe kann gemessen werden, da sowohl Anregungs- als auch Abtaststrahl die Probe durchleuchten ($N(\lambda)_{\text{sig}}$ und $N(\lambda)_{\text{ref}}$).

Bei dem dritten Laserimpuls ist der Abtaststrahl blockiert, sodass damit der Streulichtanteil der Messungen korrigiert werden kann ($N(\lambda)_{\text{sig,scat}}$ und $N(\lambda)_{\text{ref,scat}}$). Besonders bei Abtastwellenlängen in der Nähe der Anregungswellenlänge verbessert diese Korrektur das Signal-zu-Rausch-Verhältnis deutlich. Ohne Korrektur des Streulichtanteils können diese Wellenlängen bei der anschließenden Auswertung nicht berücksichtigt werden, was eine Aussage über den entsprechenden spektralen Bereich verhindert. Durch Benutzung der Chopper und Korrektur der Daten konnte dieses Problem jedoch weitgehend vermieden und Messdaten um die Anregungswellenlänge in der Auswertung verwendet werden [66].

Alle Messwerte werden vor einer weiteren Verarbeitung auf „Plausibilität“ geprüft, d.h. es wird getestet, ob ein Messwert physikalisch sinnvoll ist. So werden Messwerte sofort verworfen, die aufgrund von zu großen Schwankungen eines nicht-linearen Prozesses zustande kommen. Auch Messwerte, bei denen sich z.B. Schwefeteilchen im Strahlengang befinden, können diskriminiert werden.

Die transiente Absorptionsänderung einer Probe ergibt sich unter Berücksichtigung aller Korrekturen als:

$$\Delta A(\lambda) = -\log_{10} \left[\left(\frac{N(\lambda)_{\text{sig}} - N(\lambda)_{\text{sig,scat}}}{N(\lambda)_{\text{ref}} - N(\lambda)_{\text{ref,scat}}} \right) \cdot \frac{N(\lambda)_{\text{ref,block}}}{N(\lambda)_{\text{sig,block}}} \right] \quad (2.4)$$

Misst man diese Absorptionsänderungen für verschiedene Verzögerungszeiten t , so erhält man die Absorptionsänderung als Funktion der Verzögerungszeit $\Delta A(\lambda) \rightarrow \Delta A(\lambda, t)$ und damit die Dynamik des zu untersuchenden Systems.

2.8 Datenauswertung

Nach der Aufnahme der Daten und einer ersten Verarbeitung müssen verschiedene Effekte, die sich durch die Art der Messung nicht vermeiden lassen, korrigiert werden.

Um ein genügend hohes Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erhalten wird über eine Anzahl von Laserschüssen gemittelt. Die typische Zahl von Mittelungen pro Messpunkt liegt bei 1000 Laserimpulsen. Die Gesamtmesszeit für eine Probe ist damit im Bereich von wenigen Minuten bis wenigen Stunden.

Ein wesentlicher Bearbeitungsschritt der Daten ist eine Korrektur der zeitlichen Nullpunkte. Dieser ist notwendig, da der Chirp im Abtastweißlicht dazu führt, dass verschiedene Abtastwellenlängen verschiedene Zeitnullpunkte besitzen. Der Chirp entsteht sowohl beim Erzeugungsprozess als auch beim Durchgang durch Luft auf den Weg zum Probenort.

Der nächste Korrekturschritt ist die Korrektur von Artefakten, die sich durch nichtresonante Wechselwirkungen zwischen Anregungs- und Abtaststrahl am Probenort während des zeitlichen Überlapps zwischen den beiden Pulsen ergeben (kohärentes Artefakt, Lösungsmittelkorrektur) [67–69]. Wie Lorenc *et al.* [70] gezeigt haben, ist dieser Effekt additiv zum Probeneffekt. Die Behebung kann erfolgen, indem die sich daraus ergebenden Absorptionsänderungen separat aufgenommen (z.B. Lösungsmittel allein) und vom Messsignal subtrahiert werden.

Nachdem diese Korrekturen durchgeführt wurden, können die Daten quantitativ analysiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit kam dabei hauptsächlich ein globaler Anpassungsalgorithmus zur Anwendung. Dabei werden die zeitabhängigen Absorptionsänderungen $\Delta A(\lambda, t)$ für ein Wellenlängenintervall von 8 nm ($\hat{=}$ 1 Detektor kanal) mit einer Modellfunktion angepasst. Diese Modellfunktion beruht auf der Annahme einer bestimmten Reaktionsdynamik. Sie besitzt eine Reihe von freien Parametern, die mittels eines numerischen Optimierungsprozesses nach der Methode der kleinsten Quadrate mit einem Marquart-Algorithmus angepasst werden. Würde man keine weiteren Annahmen machen, würde sich für jedes Wellenlängenintervall ein vollständiger Satz von Fitparametern ergeben. Es existieren jedoch globale Fitparameter die für alle Wellenlängen gleich sind, wie z.B. Zeitkonstanten oder Oszillationsfrequenzen. Die Abweichung der Modellfunktion wird daher nicht nur hinsichtlich eines einzelnen Wellenlängenkanals optimiert, sondern hinsichtlich aller Kanäle gleichzeitig unter Berücksichtigung der gemeinsamen Parameter (globaler Fit).

Zur Anpassung der Daten dienen in dieser Arbeit multiexponentielle Zerfallsfunktionen auf der Grundlage von Ratengleichungsmodellen unter Berücksichtigung der Apparatefunktion.

$$\Delta A(\lambda, t) = \sum_{i=1}^n a_{i,\lambda}(\tau_i) \cdot \exp\left(\frac{t_{cc,\lambda}^2}{4\tau_i^2} - \frac{t - t_{0,\lambda}}{\tau_i}\right) \cdot \frac{1 + \operatorname{erf}\left(\frac{t - t_{0,\lambda}}{t_{cc,\lambda}} - \frac{t_{cc,\lambda}}{2\tau_i}\right)}{2} \quad (2.5)$$

Dabei entspricht n der Anzahl an globalen Zerfallszeiten τ_i , $t_{0,\lambda}$ den wellenlängenab-

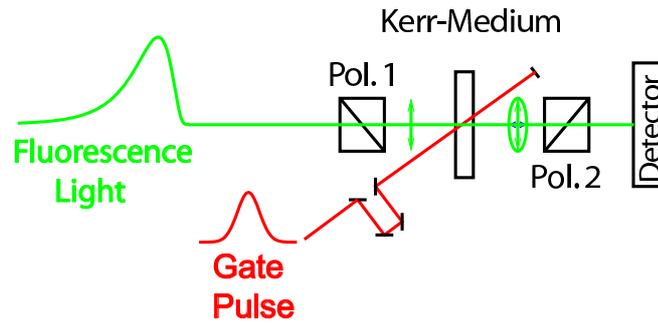


Abbildung 2.6: Prinzip des Kerr-Shutter nach [72].

hängigen Nullpunkten, $t_{cc,\lambda}$ den wellenlängenabhängigen Kreuzkorrelationsbreiten und $a_{i,\lambda}(\tau_i)$ entspricht den lokalen linearen Parametern. Betrachtet man die linearen Vorfaktoren der exponentiellen Zerfälle als Funktion der Wellenlänge, so erhält man die Amplitudenspektren oder „decay associated spectra“ (DAS). Diese geben Auskunft über die spektralen Eigenschaften der mit der entsprechenden Zeitkonstanten zerfallenden oder entstehenden Spezies. Diese Amplitudenspektren dienen zusammen mit den ermittelten Zeitkonstanten als zentrale Hilfsmittel zur Analyse und Interpretation der gemessenen Daten. Zur besseren Beurteilung wieviele Ratenkonstanten/ Zeitkonstanten für einen angemessenen Fit herangezogen werden müssen, wurde auch eine Singularwertzerlegung (SVD = **s**ingular **v**alue **d**ecomposition) benutzt [42, 67, 71]. Für eine mathematisch exakte SVD müssen die zu untersuchenden Daten auf einem Gitter liegen. Diese Voraussetzung ist für die anzupassenden Daten nicht erfüllt, da zur Kompensation der durch den Chirp verursachten unterschiedlichen Zeitnullpunkte für jedes Wellenlängenintervall eine individuelle Verschiebung der Zeitachse erfolgte. Da die Verschiebung in Bereich weniger Femtosekunden liegt wirkt sich diese insbesondere bei kurzen Zeiten aus und die längeren bleiben davon unbeeinflusst. Um Anhaltspunkte für die Anzahl der beteiligten Prozesse zu erhalten wurden die ursprünglichen, nicht verschobenen Daten mittels SVD untersucht. Die Ergebnisse dienen der Unterstützung des globalen Fits.

2.9 Femtosekundenfluoreszenzspektrometer

Zur zeitaufgelösten Messung der Fluoreszenz im Bereich von Femtosekunden bedient man sich des Prinzips des optischen Schalters. Der verwendete Kerr-Schalter basiert auf einem nichtlinearen Prozess dritter Ordnung. Das Kerr-Medium befindet

sich zwischen zwei gekreuzten Polarisatoren. Fluoreszenzlicht kann diese Anordnung nicht direkt passieren. Wird ein linear polarisierter Lichtimpuls (Schaltimpuls, „Gate Pulse“) in das Kerr-Medium fokussiert, induziert er eine Anisotropie des Brechungsindex. Dadurch wird das Kerr-Medium doppelbrechend und verändert die Polarisation des Fluoreszenzlichtes. Bei geeigneter Wahl der Polarisations Ebenen aller beteiligten Lichtfelder kann ein Teil des Fluoreszenzlichtes den zweiten Polarisator passieren und detektiert werden (siehe Abbildung 2.6). Durch Verzögerung des Schaltimpulses gegenüber dem Anregungsimpuls lässt sich die Dynamik der Probe über einen weiten Zeitbereich untersuchen.

Auch zur Anregung der Probe im Fluoreszenzspektrometer wurden in einem NOPA generierte Impulse (s.o.) verwendet. Die Erzeugung der Schaltimpulse bei 1110 nm erfolgte mittels eines zweistufigen OPAs (= **O**ptical **P**arametric **A**mplifier). Experimentelle Details zum Aufbau des Spektrometers sowie zur Verarbeitung der Daten lassen sich in [72–74] finden.

*„Das schönste Glück des denkenden Menschen ist,
das Erforschliche erforscht zu haben
und das Unerforschliche zu verehren.“
J.W.G.*

3 Primärreaktion von Proteorhodopsin

3.1 Einleitung

Vor wenigen Jahren wurde das Membranprotein Proteorhodopsin in γ -Proteobakterien als bakterielles Analogon zu bereits bekannten archaealen und eukaryotischen Rhodopsinen entdeckt [13, 14]. Aus der Häufigkeit der entsprechenden DNA-Sequenzen innerhalb einer Meerwasserprobe konnte geschlossen werden, dass bis zu 13% aller Bakterien innerhalb der euphotischen Zone des Mittelmeeres Proteorhodopsin kodieren [16]. Zusätzlich konnte seit der Entdeckung u.a. durch „shotgun sequencing“ eine Vielzahl homologer Sequenzen (≈ 800) in marinem Plankton aus sehr unterschiedlichen Regionen der Erde identifiziert werden [75–77].

Trotz der Tatsache, dass es bis vor wenigen Wochen nicht gelang, einen Bakterienstamm zu kultivieren, der Proteorhodopsin kodiert [15], existieren zahlreiche Studien sowohl über die Funktion, als auch über einen Photozyklus. Es wurde berichtet, dass Proteorhodopsin genau wie Bakteriorhodopsin als eine nach außen gerichtete Protonenpumpe fungieren kann [13]. Den dadurch entstehenden pH-Gradienten über die Zellmembran könnten γ -Proteobakterien mittels ATP-Synthase zur Energiegewinnung nutzen. Auch eine pH-abhängige Umkehr der Protonenpumprichtung wurde berichtet [17].

Nach Photoanregung durchläuft Proteorhodopsin einen Photozyklus, dessen Intermediate bei basischem pH-Wert denen des Bakteriorhodopsins ähnlich sind (Abbildung 3.2). Sie wurden daher auch in Analogie dazu mit K,M,N,O benannt [17, 78–82]. Die Gesamtdurchlaufzeit für den Photozyklus beträgt 40 ms und ist damit länger als bei Bakteriorhodopsin (≈ 15 ms), aber deutlich kürzer als für Photorezeptoren wie Sensorrhodopsin I oder Sensorrhodopsin II (≈ 1 s) [83]. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass es sich bei Proteorhodopsin vermutlich um eine Protonenpumpe und nicht um einen Sensor handelt. Daher kann Bakteriorhodopsin als Modellsystem für Proteorhodopsin betrachtet werden. Dieses wird durch die Tatsache unterstützt, dass eine große Sequenzhomologie der am Protonentransport beteiligten Aminosäuren zwischen Bakteriorhodopsin und Proteorhodopsin besteht.

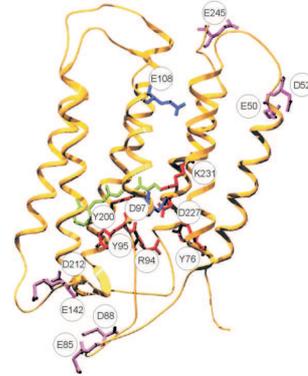


Abbildung 3.1: *Proteorhodopsinstrukturmodell nach [17]*

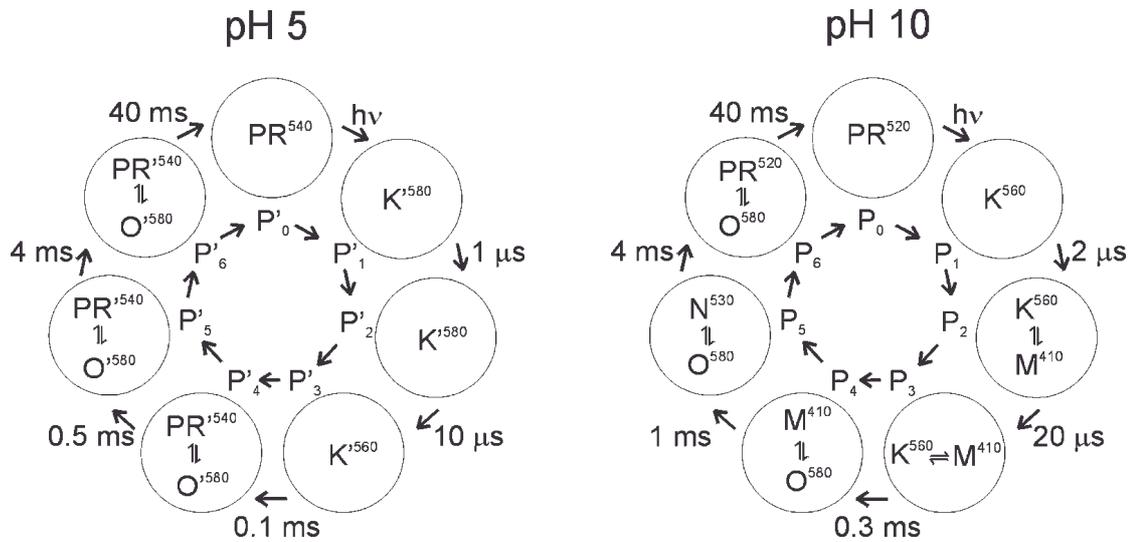


Abbildung 3.2: Photozyklus von Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten nach [17].

Charakteristische Residuen sowohl für die zytoplasmatische als auch für die extrazelluläre Seite sind weitgehend erhalten, genauso wie etwa $\frac{2}{3}$ der Residuen der Retinalbindungstasche [84]. Besonders hervorzuheben ist hierbei die Erhaltung des primären Protonenakzeptors Asp97 (Asp85 bei Bakteriorhodopsin) und Teile des Gegenions der protonierten Schiffischen Base Arg94 und Arg227 (Arg82 und Asp212 bei Bakteriorhodopsin) [79]. Der primäre Protonendonator Asp96 in Bakteriorhodopsin entspricht Glu108 im Fall von Proteorhodopsin. Obwohl wie erwähnt große Sequenzhomologie zwischen Proteorhodopsin und Bakteriorhodopsin besteht, scheinen Proteorhodopsin einige an der schnellen Protonenfreigabe beteiligte ionisierbare Reste zu fehlen [13, 85–87].

Überraschenderweise zeigt Proteorhodopsin im Gegensatz zu Bakteriorhodopsin bei pH-abhängigen Photostrommessungen eine Umkehrung der Protonenpumpenrichtung unterhalb des pK_a von Asp97 ($pK_a=7,7$) [17]. In photoelektrischen Strommessungen an orientierten Membranstücken konnte jedoch keine Umkehrung der Pumprichtung beobachtet werden, sodass dieser vektorielle Protonentransport Gegenstand aktiver Diskussionen ist [17, 88].

Wie in allen anderen Retinalproteinen auch, ist die Isomerisierung des Retinals (Abbildung 3.3) der entscheidende Schritt zum Start des Photozyklus. Helladaptiertes Proteorhodopsin in alkalischer Umgebung enthält laut Friedrich *et al.* [17] 60%

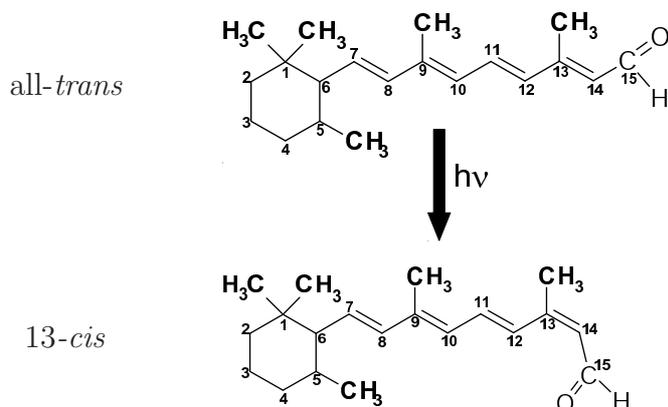


Abbildung 3.3: Retinal in der *all-trans*- und in der *13-cis*-Konformation.

all-trans- und 40% *13-cis*-Retinal. Für dunkeladaptiertes Proteorhodopsin ändert sich dieses Verhältnis auf 80/20. In saurer Umgebung liegt das Verhältnis bei 20/80 unabhängig davon, ob das Protein hell- oder dunkeladaptiert war. Neuere Retinalextraktionsuntersuchungen von Imasheva *et al.* [89] zeigen dagegen keine signifikanten Anteile des *13-cis*-Isomers für dunkeladaptiertes Proteorhodopsin bei pH 10, genau wie neuere Festkörper-NMR-Analysen von Glaubitz und Mitarbeitern [90, 91]. Im Gegensatz zu Bakteriorhodopsin zeigt sich bei hell- bzw. dunkeladaptiertem Proteorhodopsin keine Verschiebung des Absorptionsmaximums [92]. Es kann lediglich eine Erniedrigung des Extinktionskoeffizienten um etwa 10% für helladaptiertes Proteorhodopsin beobachtet werden [17].

Da die Photoisomerisierung des Retinals von großer Bedeutung für den gesamten Photozyklus ist, wurden im Rahmen dieser Arbeit transiente Absorptionsexperimente zur Untersuchung dieses Schrittes durchgeführt. Es sollte geklärt werden, ob bereits in der Primärreaktion eine pH-Abhängigkeit beobachtbar ist, die den möglichen vektoriellen Protonentransport bestätigen oder widerlegen kann.

3.2 Untersuchte Proteorhodopsinproben

Für die hier durchgeführten Untersuchungen wurde sowohl in Detergens solubiliertes als auch in Purpurmembranen rekonstituiertes Proteorhodopsin verwendet.

Die Expression und Aufreinigung erfolgte in der Gruppe von M. Engelhard wie in Ref. [17] beschrieben. Rekonstituiert wurde in polaren Lipiden aus Purpurmembranen, solubilisiert in Dodecylmaltosid. Das Einstellen des pH-Wertes erfolgte durch Zentrifugation und anschließendes Resuspendieren in PBS („phosphate buffered saline“) Puffer.

3.3 Stationäre Charakterisierung

Untersucht man Proteorhodopsin mittels statischer Spektroskopie, so fällt eine pH-abhängige Verschiebung des dominanten Absorptionsmaximums im sichtbaren Spektralbereich auf (siehe Abbildung 3.4). Dabei verändert sich das Absorptionsmaximum für rekonstituierte Proben von 520 nm (pH 9) hin zu 535 nm (pH 6). pH-abhängige Verschiebungen wie diese wurden bereits für andere Retinalproteine wie z.B. Bakteriorhodopsin beobachtet und sind zurückzuführen auf den Protonierungszustand des primären Protonenakzeptors Asp97 [17]. Weiterhin sind Beiträge bei 280 nm (Proteinsignal) und ein kleinere Bande bei 374 nm (β -Bande) zu erkennen. Streubeiträge wurden für die rekonstituierten Proben mittels $A+B/\lambda^C$ genähert und herauskorrigiert. Abweichungen von purer Rayleighstreuung ($1/\lambda^4$) ergeben sich, da

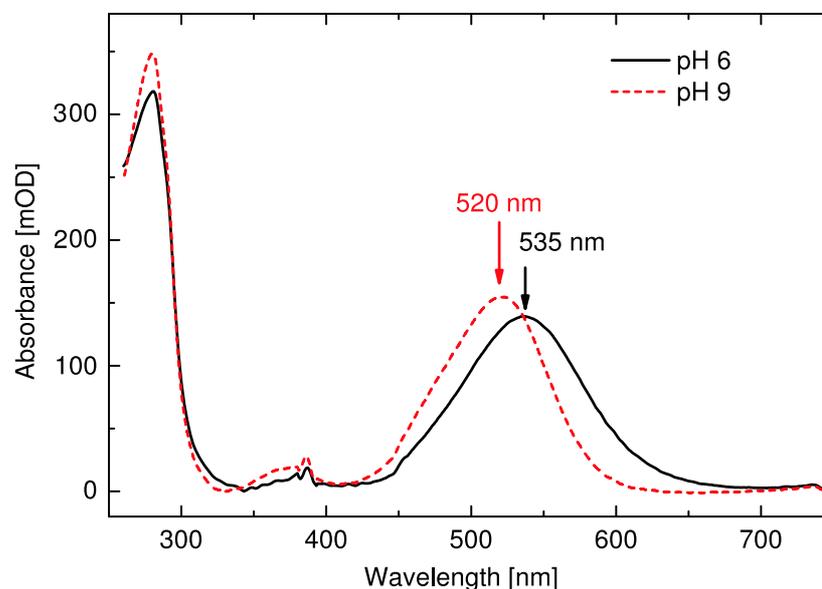


Abbildung 3.4: Absorptionsspektren von rekonstituiertem Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten, aufgenommen in einer 1 mm Küvette.

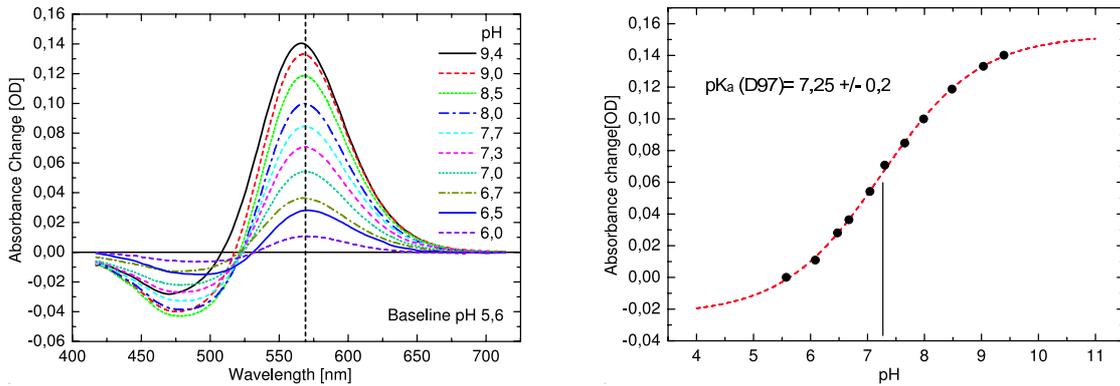


Abbildung 3.5: Titration von Proteorhodopsin zur Bestimmung des pK_a -Wertes des primären Protonenakzeptors Asp97.

die Teilchengrößen der rekonstituierten Proben im Bereich von wenigen Mikrometern liegen und es sich damit nicht mehr um Rayleighstreuung allein handelt.

Aus der pH-abhängigen Verschiebung des Hauptabsorptionsmaximums lässt sich der pK_a -Wert des Protonenakzeptors bestimmen. Dazu werden normalisierte Absorptionsamplituden gegen den pH-Wert aufgetragen und mittels einer geeigneten Funktion genähert, aus der sich dann der pK_a -Wert ergibt (Abbildung 3.5). Für das hier untersuchte Proteorhodopsin wird ein pK_a -Wert von $7,25 \pm 0,2$ bestimmt. Dieser Wert ist abhängig von den spezifischen Bedingungen wie z.B. Salzkonzentration, Aufbewahrung, solubilisiert oder rekonstituiert. Aus diesem Grund schwanken die in der Literatur zu findenden Werte deutlich (7,1 in [79, 93], 7,68 in [17] und 8,2 in [94]).

Vergleicht man die Absorptionsspektren solubilisierter und rekonstituierter Proben (Abbildung 3.4 und 3.6), so ist zu erkennen, dass sich an den spezifischen Charakteristika nichts ändert. Somit kann bereits auf der Grundlage dieser Messungen angenommen werden, dass es in optischen Experimenten möglich ist mit solubilisierter Proben anstelle von rekonstituierten aufgrund der geringeren Streubeiträge zu arbeiten. Diese Annahme bestätigte sich durch die zeitaufgelösten Absorptionsmessungen (siehe Abschnitt 3.5).

Die Fluoreszenzspektren beider Proben zeigen bei einer Anregung mit 525 nm ein ausgeprägtes Maximum der Fluoreszenz. Auffällig ist, dass dieses Maximum im Gegensatz zur Absorption keine pH-abhängige Verschiebung aufweist.

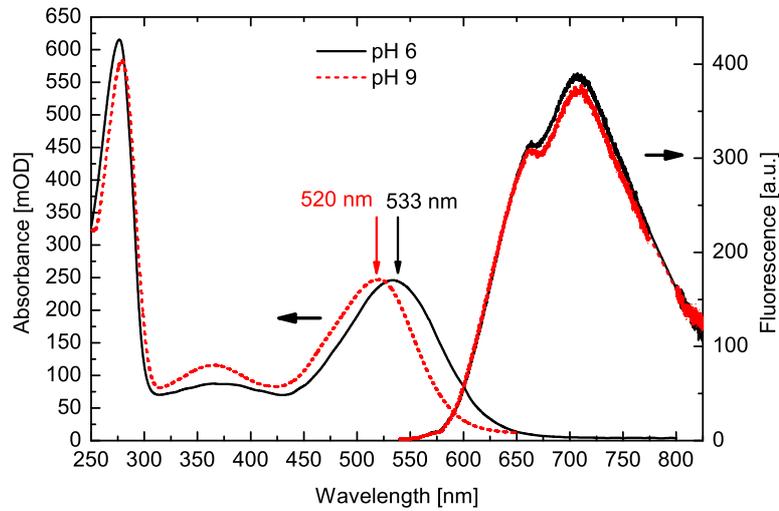


Abbildung 3.6: Absorptionsspektren von solubilisiertem Proteorhodopsin bei zwei pH-Werten. Eine gute Übereinstimmung mit den rekonstituierten Proben (Abbildung 3.4) ist zu erkennen. Gezeigt sind außerdem Fluoreszenzspektren nach Photoanregung bei 525 nm, bei denen die spektrale Empfindlichkeit des Detektors korrigiert wurde.

3.4 Fluoreszenzquantenausbeuten

Für unterschiedliche Retinalproteine konnte festgestellt werden, dass die Fluoreszenzquantenausbeuten einen Hinweis auf deren Funktion geben. Langlebige S_1 -Zustände und die damit verbundenen hohen Fluoreszenzquantenausbeuten deuten auf eine Funktion als Sensor hin. Kurzlebige angeregte Zustände und niedrige Fluoreszenzquantenausbeuten legen eine Funktion als Protonenpumpe nahe [83]. Daher wurde die Lebensdauer des angeregten Zustandes und die Fluoreszenzquantenausbeute für Proteorhodopsin bestimmt.

Strickler und Berg haben 1962 gezeigt, dass die strahlende Lebensdauer allein aus dem Absorptions- und Fluoreszenzspektrums bestimmt werden kann [95]. Sie entwickelten einen relativ einfachen Zusammenhang zwischen der strahlenden Lebensdauer τ_0 (= Fluoreszenzlebensdauer) und statischen Charakteristika:

$$k_0 = \frac{1}{\tau_0} = 2.880 \cdot 10^{-9} n^2 \langle \tilde{\nu}_f^{-3} \rangle_{Av}^{-1} \frac{g_l}{g_u} \int \epsilon(\tilde{\nu}) d \ln \tilde{\nu} \quad (3.1)$$

Hierbei ist n der Brechungsindex des Mediums, g_u und g_l sind die Multiplizitäten des

oberen und des unteren der betrachteten Zustände und $\epsilon(\tilde{\nu})$ ist der frequenzabhängige molare Extinktionskoeffizient. Das Integral wird aus dem Absorptionsspektrum bestimmt. Die Größe $\langle \tilde{\nu}_f^{-3} \rangle_{A\nu}^{-1}$ kann aus dem Fluoreszenzspektrum gemäß

$$\langle \tilde{\nu}_f^{-3} \rangle_{A\nu}^{-1} = \frac{\int I(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu}}{\int \tilde{\nu}^{-3} I(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu}} \quad (3.2)$$

berechnet werden. Hierin bezeichnet $I(\tilde{\nu})$ die spektrale Photonenzahldichte. Damit kann die strahlende Lebensdauer eines Zustandes aus der Kenntnis des Absorptions- und Fluoreszenzspektrums bestimmt werden. Neben der spontanen Emission führen in realen Molekülen noch weitere Prozesse zur Entvölkerung und dadurch zur Reduzierung der natürlichen Lebensdauer des angeregten Zustandes gegenüber der strahlenden Lebensdauer τ_0 . Für die natürliche Lebensdauer gilt:

$$\frac{1}{\tau} = k_0 + \sum_i k_i \quad (3.3)$$

Hierbei bezeichnen die k_i die Ratenkonstanten der Konkurrenzreaktionen. Die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_f stellt sich als Verhältnis zwischen der natürlichen Lebensdauer und der strahlenden Lebensdauer dar:

$$\Phi_f = \frac{k_0}{k_0 + \sum_i k_i} = \frac{\tau}{\tau_0} \quad (3.4)$$

Bei ihrer Ableitung gingen Strickler und Berg von Annahmen aus, die im Falle von isomerisierenden Retinalproteinen nur bedingt erfüllt sind. So muss es sich um einen erlaubten Übergang handeln, die Molekülkonfiguration darf sich während des Überganges nur schwach ändern und die Fluoreszenz muss aus dem Schwingungsgrundzustand des angeregten Zustandes erfolgen. Trotzdem ein Teil dieser Annahmen verletzt ist, konnte von Kochendoerfer *et al.* [96] gezeigt werden, dass die bestimmten Größen dennoch benutzbar sind und einem Vergleich mit Werten, die mit anderen Methoden bestimmt wurden, standhalten.

Zur Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute sollte zunächst ein kommerzielles Spektrometer der Firma Varian, Typ Cary Eclipse verwendet werden. Für dieses Gerät konnte aber keine Korrektur der spektralen Empfindlichkeit des Detektors vor-

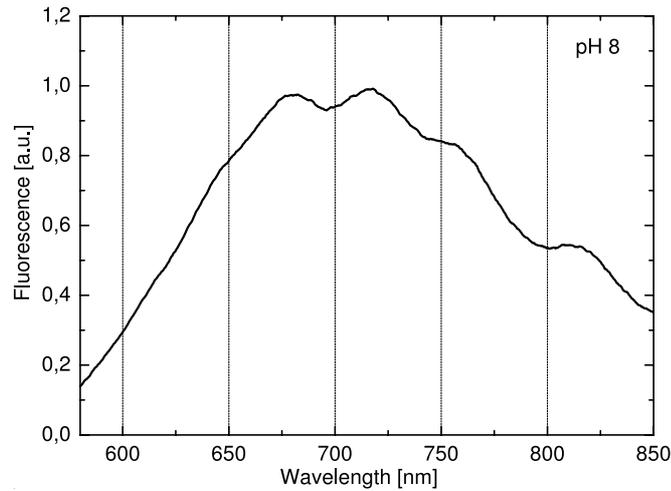


Abbildung 3.7: Statisches Fluoreszenzspektrum von solubilisiertem Proteorhodopsin bei pH 8. Die Wellen in der Form des Spektrums stammen von einem Interferenzfilter im Strahlengang und nicht von der Probe selbst.

genommen werden. Das Fluoreszenzspektrum von Proteorhodopsin wurde deshalb in der Anlage für transiente Fluoreszenzmessungen aufgenommen (siehe Abschnitt 2.9) und die Berechnungen der Fluoreszenzquantenausbeuten damit durchgeführt. Das entsprechende statische Spektrum ist in Abbildung 3.7 gezeigt.

Zur Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeuten wird die integrierte Fluoreszenz bei gleichen Einstellungen des Spektrometers mit der integrierten Fluoreszenz einer Substanz verglichen, deren Fluoreszenzquantenausbeute bekannt ist. Für Proteorhodopsin wurde als Vergleichssubstanz 1-Aminoanthraquinon [97] gewählt. Damit ergibt sich eine Fluoreszenzquantenausbeute von $\Phi_f = 2,6 \cdot 10^{-4}$. Unter Zuhilfenahme des Absorptionsspektrums und der o.g. Strickler-Berg-Beziehung kann

	BR	PR	sSRI	pSRII
Φ_f	$1,3 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$
τ_0 [ns]	6,64	6	6,16	5,99
τ [ps]	0,82	1,5	8,9	0,75

Tabelle 3.1: Vergleich der aus Fluoreszenzspektren gewonnenen charakteristischen Daten für verschiedene Retinalproteine. Werte für Bakteriorhodopsin (BR), Sensorrhodopsin I (sSRI) und Sensorrhodopsin II (pSRII) aus [83]. Φ_f : Fluoreszenzquantenausbeute, τ : natürliche Lebensdauer, τ_0 : strahlende Lebensdauer.

die strahlende Lebensdauer des ersten optisch aktiven Zustandes (S_1 -Zustand) zu $\tau_0 = 6 \cdot 10^{-9} \text{ s} = 6 \text{ ns}$ und daraus die natürliche Lebensdauer zu $\tau = 1,5 \text{ ps}$ bestimmt werden. Tabelle 3.1 gibt einen Überblick über die aus Fluoreszenzdaten erhältlichen charakteristischen Parameter. Die strahlende Lebensdauer τ_0 liegt mit 6 ns in einem Bereich der üblich für Retinalproteine ist. Unterschiede in der natürlichen Lebensdauer τ des S_1 -Zustandes sind fast ausschließlich auf unterschiedliche Fluoreszenzquantenausbeuten zurückzuführen. Für Proteorhodopsin liegt dieser Wert zwischen den Werten für Bakteriorhodopsin, Sensorrhodopsin I und Sensorrhodopsin II. Die erhaltenen Daten legen jedoch nahe, dass es sich bei Proteorhodopsin um eine Protonenpumpe und nicht um einen Sensor handelt.

3.5 Transiente Kurzzeitcharakterisierung

Die primären Schritte des Photozyklus von Proteorhodopsin wurden bei verschiedenen pH-Werten untersucht. Dazu kamen zeitaufgelöste Absorptionsmessungen sowohl an rekonstituierten als auch an solubilisierten Proben zum Einsatz. Zur Vervollständigung wurden Femtosekundenfluoreszenzmessungen an solubilisierten Proben bei einem pH-Wert von 8 durchgeführt.

3.5.1 Transiente Absorptionsspektroskopie

Zur Charakterisierung der Primärreaktion des Membranproteins Proteorhodopsin wurden zunächst in Purpormembranen rekonstituierte Proben untersucht, da dieser Zustand dem natürlichen Zustand ähnlicher ist. Durch Vergleich mit Untersuchungen an in Detergens solubilisierten Proteorhodopsinen konnte gezeigt werden, dass sich Proteorhodopsin in beiden Umgebungen in Bezug auf die Primärdynamik annähernd gleich verhält. Weiterhin wurde ein Modell der Primärreaktion nach Photoanregung entwickelt.

Experimentelle Details

Zur Charakterisierung der Kurzzeitdynamik von Proteorhodopsin wurden femtosekunden-zeitaufgelöste Messungen mittels des in Kapitel 2 beschriebenen Femtosekundenpektrometers durchgeführt. Angeregt wurden die Proben bei einer Wellenlänge von $\lambda = 525 \text{ nm}$ und abgetastet im sichtbaren Spektralbereich zwischen 420 nm und 730 nm. Abbildung 3.8 zeigt ein Anregungsspektrum am Probenort

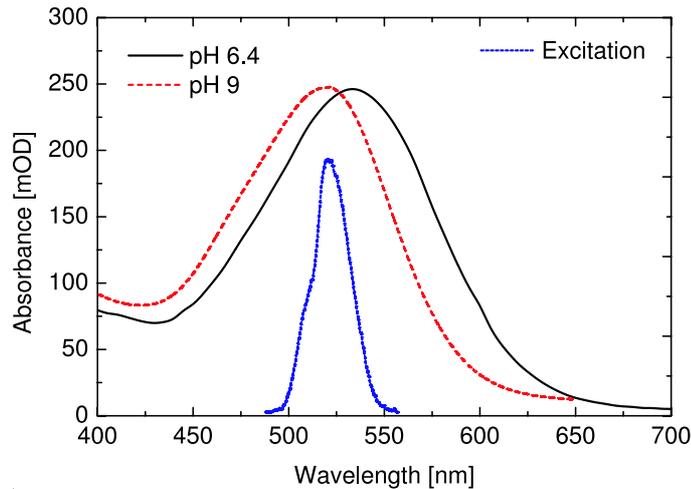


Abbildung 3.8: Absorptionsspektren von Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten zusammen mit einem Spektrum des Anregungsimpulses am Probenort.

zusammen mit Absorptionsspektren zweier Proteorhodopsinproben. Die Anregungswellenlänge wurde derart gewählt, dass ein S_0 - S_1 -Übergang induziert wurde. Weiterhin sollte die Extinktion für alle Proben vergleichbar sein. Die Anregungsenergien lagen bei 75 nJ für die rekonstituierten Proben und bei 50 nJ für die solubilisierten, gering genug um Multiphotonenanregung zu vermeiden. Die Pulslänge der Anregungsimpulse betrug 100 fs (rekonstituierte Proben) bzw. 50 fs (solubilierte Proben). Die erreichte Kreuzkorrelationsbreite variierte physikalisch bedingt, wellenlängenabhängig zwischen 70 und 120 fs. Anregungs- und Abtastimpulse waren parallel polarisiert.

Ergebnisse und Diskussion für rekonstituiertes Proteorhodopsin

Einen Überblick über die zeitliche Entwicklung der Absorption nach Photoanregung bei 525 nm der rekonstituierten Proben bei verschiedenen pH-Werten gibt Abbildung 3.9. Dabei deutet rot positive, grün keine und blau negative Absorptionsänderungen an. Der Bereich um die Anregungswellenlänge ist farblich weniger intensiv dargestellt, da hier das Signal-zu-Rausch-Verhältnis im Vergleich zum Rest erniedrigt ist.

Die spektralen Charakteristika ähneln sich bei den beiden pH-Werten. Um 450 nm ist eine dominante Absorptionsänderung zu erkennen, die ihr Maximum etwa 200 fs nach der Anregung erreicht. Bei pH 6 liegt das spektrale Maximum bei 460 nm,

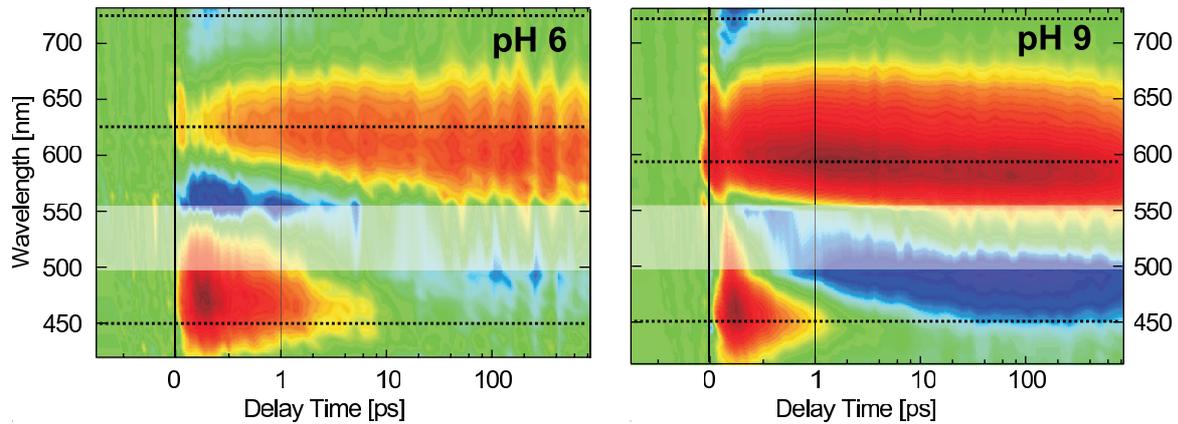


Abbildung 3.9: Überblick über die zeitliche Entwicklung von rekonstituiertem Proteorhodopsin nach Photoanregung bei verschiedenen pH-Werten. Die Amplituden sind farbcodiert. Blaue Bereiche bedeuten negative Signalbeiträge und rote Bereiche entsprechen positiven Absorptionsänderungen. Die farblich weniger intensiven Bereiche kennzeichnen den Bereich um die Anregungswellenlänge, in dem das Signal-zu-Rausch-Verhältnis erniedrigt ist. Die Linien zeigen die Wellenlängen an, die für die Transienten in Abbildung 3.10 gewählt wurden.

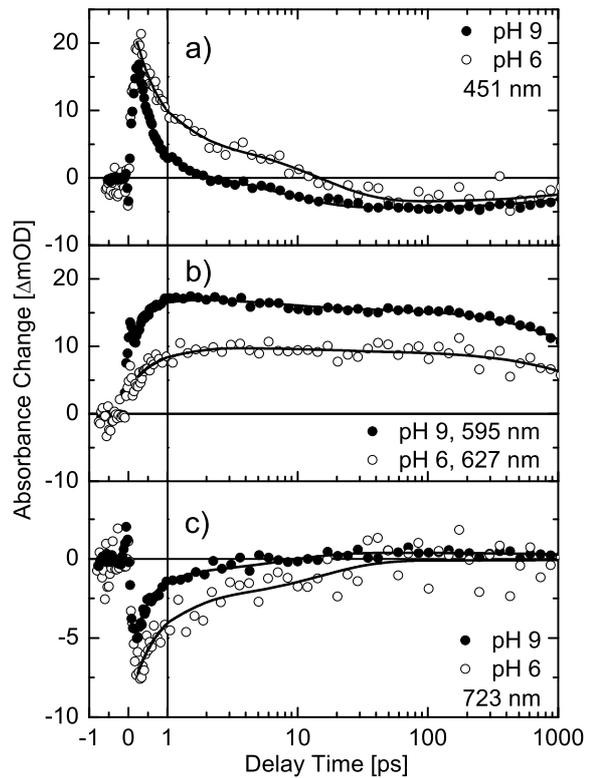
während es für pH 9 leicht blau verschoben bei 450 nm auftritt. Um 600 nm bzw. 630 nm ist eine positive Absorptionsänderung zu erkennen, die innerhalb weniger 100 fs bei pH 6 und innerhalb einiger 10 fs bei pH 9 entsteht.

Zum genaueren Vergleich der Absorptionsänderungen von beiden pH-Werten sind in Abbildung 3.10 Transienten für ausgewählte Wellenlängen und beide pH-Werte dargestellt. Bei 451 nm (oben) sieht man einen schnellen Anstieg der transienten Absorption nach Anregung. Dieser zerfällt auf der Pikosekundenzeitskala. Nach etwa 10 ps wird das Signal negativ für pH 6, und bleibt annähernd konstant über den restlichen Beobachtungszeitraum von 1 ns. Für pH 9 zeigt sich ein sehr ähnliches Verhalten. Allerdings erfolgt hier der Vorzeichenwechsel des Signals bereits nach 2 ps.

Am roten Ende des untersuchten Spektralbereiches, d.h. für Wellenlängen größer als 690 nm (Abbildung 3.10 unten) zeigen beide Proben negative Signalbeiträge. Nach einem schnellen Zerfall auf der Subpikosekundenzeitskala verschwindet dieses Signal komplett innerhalb von 30 ps (pH 6) bzw. 2 ps (pH 9).

Die auffälligste Charakteristik ist in beiden Proben die positive Absorptionsänderung um 600 nm, die bis 1 ns erhalten bleibt. Bei pH 6 liegt das Maximum bei 610 nm und wird nach etwa 1 ps erreicht. Für pH 9 liegt das Maximum leicht blau

Abbildung 3.10: Vergleich der transienten Absorptionsänderung von rekonstituiertem Proteorhodopsin in saurer und alkalischer Umgebung. Die Linien zeigen die Ergebnisse des globalen Fits für Verzögerungszeiten $\tau > 200$ fs.



verschoben bei 590 nm. Zu späteren Zeiten verschiebt sich dieses in beiden Fällen hin zu 600 nm (pH 6) bzw. 570 nm (pH 9). Abbildung 3.10 (mitte) zeigt die Transienten für diesen Wellenlängenbereich. Zwei Merkmale sind deutlich zu erkennen. Zum einen ein schneller Anstieg der Absorptionsänderung mit einem Maximum bei 200 fs. Dieses Merkmal ist für den alkalischen pH-Wert deutlicher ausgeprägt. Zum anderen tritt eine durchgehende positive Absorptionsänderung auf, die ihr Maximum nach 5 ps (pH 6) oder nach 2 ps (pH 9) erreicht. In beiden Fällen ist eine langsame Abnahme der Amplituden erkennbar. Trotzdem bleiben positive Signalbeiträge bis zu 1 ns erhalten.

Bei der Untersuchung der Daten mittels eines globalen Fits wie in Abschnitt 2.8 beschrieben, zeigt sich, dass zur Beschreibung vier Zeitkonstanten notwendig sind (siehe Tabelle 3.2). Die erste Zeitkonstante liegt in der Größenordnung der Zeitauflösung und ist daher mit einer deutlich erhöhten Unsicherheit belegt. Sie soll an dieser Stelle für rekonstituierte Proben nicht detailliert betrachtet werden. Abbildung 3.11 zeigt die Amplituden für die übrigen Zeitkonstanten. Schwerpunkt der Messungen an rekonstituierten Proteorhodopsinproben war eine Charakterisierung

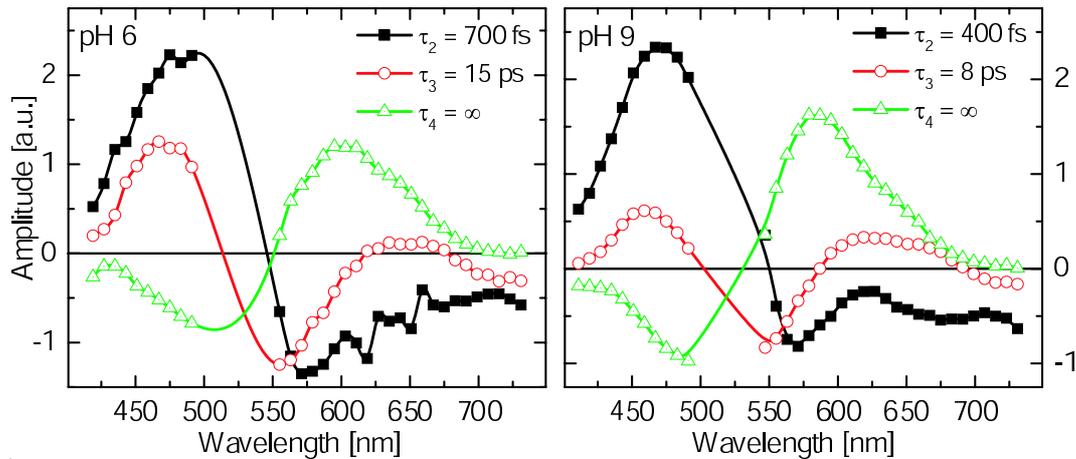


Abbildung 3.11: Amplitudenspektren des globalen Fits von Proteorhodopsin bei pH 6 und pH 9. Die Daten zwischen 500 und 550 nm wurden wegen des niedrigen Signal-zu-Rausch-Verhältnisses nicht berücksichtigt.

der primären Dynamik auf der Pikosekundenzeitskala, um diese mit solubilisierten Proben vergleichen zu können. Eine exakte Beschreibung der Dynamik unter 500 fs erfolgt anhand der Messungen an solubilisierten Proben im nächsten Abschnitt.

Zusammen mit dem Anregungsimpuls bildet sich ein deutlich erkennbares positives Signal aus und zerfällt innerhalb von 200 fs. Dieses erste Ereignis bildet einen Teil der Dynamik auf der Potenzialfläche des angeregten Zustandes. Für verschiedene Retinalproteine konnte dieses Signal einer Wellenpaketsbewegung aus der Franck-Condon-Region und damit molekularen Konformationsänderungen zugeordnet werden.

Das positive Signal im blauen Spektralbereich kann der Absorption des angeregten Zustandes zugeordnet werden. In Bakteriorhodopsin tritt diese Absorption bei Wellenlängen um 460 nm auf. Der Zerfall dieses Beitrages entspricht dem Übergang zwischen dem angeregten Zustand und dem Grundzustand. Dieser kann-

	τ_1 [ps]	τ_2 [ps]	τ_3 [ps]	τ_4 [ps]
PR (pH 6)	< 0,2	0,7	15	∞
PR (pH 9)	< 0,2	0,4	8	∞

Tabelle 3.2: pH-abhängige Zeitkonstanten des globalen Fits der ersten Schritte der Photozyklen von Proteorhodopsin.

te für Bakteriorhodopsin ebenfalls beobachtet werden und zerfällt dort mit etwa 500 fs [18,98]. Auch rotverschoben im Vergleich zum Grundzustandsabsorptionsmaximum konnte für Bakteriorhodopsin genau wie für Proteorhodopsin ESA („excited state absorption“) beobachtet werden [99]. Ein Teil der ESA (vor allem im Wellenlängenbereich zwischen 550 nm und 600 nm) ist dabei überlagert von negativen Beiträgen die im selben Zeitbereich auftreten. Es kann sich dabei sowohl um stimulierte Emission (rotverschoben von der Anregungswellenlänge), als auch um Entvölkerung des Grundzustandes handeln.

Zu längeren Verzögerungszeiten kann aufgrund des zerfallenen angeregten Zustands das Grundzustandsbleichen besser beobachtet werden, da sich die Signale nicht mehr kompensieren. Es sind deutlich negative Signale im Bereich zwischen 450 nm und 500 nm zu erkennen. Die Entvölkerung des Grundzustandes sollte jedoch auch bei Wellenlängen über 550 nm zu erkennen sein. Allerdings werden die Signale in dieser Region von einer starken positiven Absorption kompensiert.

Wie bereits beschrieben, sind für beide Datensätze vier Zeitkonstanten notwendig um die Daten adäquat zu beschreiben. Betrachtet man die zugehörigen Amplitudenspektren der zweiten und dritten Zeit (τ_2 und τ_3), so sieht man, dass beide Zeiten offensichtlich beim Zerfall des positiven Beitrags um 450 nm, sowie beim Zerfall des negativen Signals um 700 nm eine Rolle spielen und ähnliche Form haben. Es ist ein biphasischer Zerfall des angeregten Zustandes in den Grundzustand zu beobachten. Die kleiner werdenden Signale bei 450 nm bzw. bei 700 nm entsprechen dem Zerfall der ESA bzw. der stimulierten Emission. Dieser biexponentielle S_1 -Zerfall ist nicht überraschend und konnte bereits für archeale Rhodopsine und protonierte Retinalmoleküle in Lösung beobachtet werden [100,101].

Mit dem Zerfall der anfänglichen Absorption bilden sich weitere Signale. Der Zerfall des S_1 -Zustands führt zu einer langlebigen Absorption um 600 nm. Diese rotverschobene Absorptionsbande ist typisch für die frühesten Intermediate im elektronischen Grundzustand vieler Retinalproteine [17,80,83,99,102]. Es wächst mit den Zeiten τ_2 und τ_3 , synchron mit dem Zerfall des angeregten Zustands. Auch ein Zerfall des Signals um 650 nm im Amplitudenspektrum von τ_3 ist zu erkennen. Diese Beobachtung kann mit der Bildung von Grundzustandsintermediaten im gleichen Zeitbereich erklärt werden. Die Photoproduktbande kann durchaus zwei verschiedene Zustände enthalten (J und K wie in Bakteriorhodopsin), wobei J ein weniger rotverschobener Zustand ist und der Übergang von J nach K auf der Zeitskala

von wenigen Pikosekunden erfolgt. Das Amplitudenspektrum des Langzeit-Offsets τ_4 zeigt die erwarteten spektralen Merkmale des ausgebleichten Grundzustands und des frühen J- bzw. K-artigen Photoprodukts.

Für Bakteriorhodopsin ist bekannt, dass sich das J-Intermediat mit einer Zeitkonstante von 3 ps in das K-Intermediat umwandelt [103]. Im Fall von Proteorhodopsin führte die Einführung einer weiteren Zeitkonstante im Bereich weniger Pikosekunden zu keiner signifikanten Verbesserung des globalen Fits. Daher kann hier keine Aussage zu einem möglichen J \rightarrow K Übergang gemacht werden. Trotzdem unterstützen die Daten die Annahme, dass die Isomerisierung im elektronischen Grundzustand weiter läuft. Das Retinal endet entweder in der 13-*cis*- oder in der all-*trans*-Konformation. Da die zuletzt genannte Konformation zu einer erhöhten Besetzung des Grundzustandes führt, kann die beobachtete Blauverschiebung der positiven Absorptionsbande zu langen Verzögerungszeiten hin erklärt werden. Aus den spektralen Änderungen im entsprechenden Bereich der Amplitudenspektren von τ_2 und τ_3 kann auf unterschiedliche Quantenausbeuten der Isomerisierung für die beiden unterschiedlichen Prozesse (τ_2 und τ_3) und damit auf verschiedene Reaktionskanäle geschlossen werden.

Für das zu entwickelnde Reaktionsmodell müssen die zwei Zerfallszeiten des angeregten Zustands mit berücksichtigt werden. Generell sind zwei Gründe für den biphasischen Zerfall denkbar:

(i) *Heterogenität der Probe*

Falls die Heterogenität die Ursache für die biexponentielle Zerfallskinetik des S_1 -Zustandes ist, bedeutet das, dass die untersuchte Probe aus zwei verschiedenen Spezies mit unterschiedlichen spektralen Eigenschaften und unterschiedlichem dynamischen Verhalten besteht. Einer der Gründe kann eine nicht einheitliche Konformation des Retinals sein. Friedrich *et al.* [17] berichten, dass Proteorhodopsin im elektronischen Grundzustand sowohl Retinal in der all-*trans* als auch in der 13-*cis* Konformation enthält. Das Verhältnis hängt dabei vom pH-Wert und von den Bedingungen unter denen die Probe präpariert wird ab (licht- und dunkeladaptiert, siehe Abschnitt 3.1). Aufgrund der ähnlichen spektralen Eigenschaften und Extinktionskoeffizienten könnte dieses Konformer ebenfalls angeregt werden. Sofern signifikante Anteile des 13-*cis* vorliegen, kann nicht ausgeschlossen werden, dass es zu den beobachteten transienten Ab-

sorptionsänderungen beiträgt. Auch Dioumaev *et al.* [79] berichten, dass ein Gemisch aus all-*trans* und 13-*cis* vorliegt bei dem die spektralen Eigenschaften des 13-*cis* im Vergleich zum all-*trans* und im Gegensatz zu Retinal in Bakteriorhodopsin nicht verschoben sind.

Neuere Untersuchungen verschiedener Gruppen mit unterschiedlichen Techniken zeigen jedoch, dass in dunkeladaptiertem Proteorhodopsin fast ausschließlich (> 95%) Retinal in der all-*trans*-Konformation vorliegt [89–91]. Dies spricht gegen unterschiedliche Retinalkonformationen als Grund für den biexponentiellen Zerfall des angeregten Zustands.

(ii) *Verzweigtes Reaktionsmodell für eine homogene Probe*

Die Annahme verschiedener Reaktionswege und damit die Annahme eines verzweigten Reaktionsmodells erlaubt es, alle Beobachtungen konsistent zu erklären. Die Retinalisomerisierung in Halorhodopsin konnte ebenfalls mit einem verzweigten Reaktionsmodell erklärt und verstanden werden [99]. Die anfängliche Bewegung entlang einer definierten Reaktionskoordinate, vermutlich sind sowohl eine C-C Streckung als auch eine Torsion um die C13-C14-Bindung (siehe Abbildung 3.3) beteiligt, führt in Richtung einer konischen Durchschneidung zu einem schnellen Übergang in den elektronischen Grundzustand. Dieses sollte durch eine schnelle Rotverschiebung der Produktabsorption zu beobachten sein. Der parallele Zerfall mit der Zeitkonstante τ_3 erfolgt aus einem Bereich der Zustandfläche, der nicht identisch mit dem ursprünglichen Franck-Condon-Bereich ist. Der Zerfall erfolgt schnell über die konische Durchschneidung nach einer zwischenzeitlichen Besetzung (im Pikosekundenbereich) eines längerlebigen Zustandes.

Mit dem Einfluss des Protonierungszustandes des primären Protonenakzeptors auf τ_2 und τ_3 lässt sich auch der Einfluss auf die Photoisomerisierungsrate diskutieren. Wie Rechnungen an Rhodopsinen gezeigt haben besitzt der erste angeregte Zustand von gebundenem Retinal ionischen (B_u -artigen) Charakter [104]. Im Vergleich zur Ladungsverteilung im Grundzustand wird bei Anregung positive Ladung in Richtung des Kohlenwasserstoffendes des Chromophors bewegt. Diese positive Ladung wird stabilisiert durch die negativen Ladungen der Residuen Asp97 und Asp227 in der Nähe der C13 Position des Retinals. Der Doppelbindungscharakter

in dieser Position wird geschwächt, die Energie für eine auf der Zustandsfläche des angeregten Zustandes beginnende Torsionsbewegung erniedrigt. Für den niedrigen pH-Wert ist Asp97 dagegen protoniert und die Energie zur Bewegung um die C13-C14 Bindung erhöht. Deutlich wird dies durch eine verringerte Reaktionsrate [98]. Die Bedeutung der negativen Ladung am Asp97 für die schnelle Subpikosekundenbildung des Photoproduktes in Proteorhodopsin wird unterstützt durch ähnliche Beobachtungen in archealen Rhodopsinen mit ungeladenen Residuen an der Stelle von Asp97. Bakteriorhodopsin in saurer Umgebung ($< \text{pH } 2$), die D85N-Mutante von Bakteriorhodopsin genauso wie Sensorrhodopsine zeigen signifikant langsamere Reaktionsdynamiken in den ersten Schritten des Photozyklus [83, 105].

Ergebnisse und Diskussion für solubilisiertes Proteorhodopsin

Die Abbildungen 3.12 und 3.13 geben einen Überblick über die Dynamik nach Photoanregung für zwei solubilierte Proteorhodopsinproben in saurer und alkalischer Umgebung. Die spektralen Merkmale sind denen der rekonstituierten Proben sehr ähnlich, sodass die Ergebnisse der solubilierten Proben auf Proteine in natürlicher Umgebung in Membranen übertragen werden können. In beiden Abbildungen ist das Signal des angeregten Zustandes gut zu erkennen, welches um 470 nm zentriert ist. Es bildet sich direkt nach Photoanregung aus und tritt spektral breit auf. Der Zerfall erfolgt für beide pH-Werte innerhalb weniger Pikosekunden, jedoch signifikant schneller für die alkalische Umgebung. Auch die spektralen Merkmale des K-Intermediats wie es von Friedrich *et al.* in Nanosekundenmessungen beobachtet wird [17], lassen sich besonders zu den langen Verzögerungszeiten (um 1 ns) erkennen. Im K-Intermediat liegt das Retinal bereits in der isomerisierten 13-*cis*-Form, dem Photoprodukt der hier beobachteten Primärreaktion, vor. Stimulierte Emission aus dem angeregten Zustand lässt sich für Wellenlängen > 650 nm beobachten. Zu längeren Zeiten wird dieser Beitrag teilweise kompensiert durch die Absorption des Produktzustandes. Daher kann die stimulierte Emission am besten bei Wellenlängen um 700 nm beobachtet werden. Die negative Absorptionsänderung im Wellenlängenbereich > 500 nm zu Verzögerungszeiten > 50 ps kann dem Ausbleichen des Grundzustandes zugeordnet werden. Zu kürzeren Zeiten wird dieser Effekt von der ESA überlagert und ist daher nicht auszumachen.

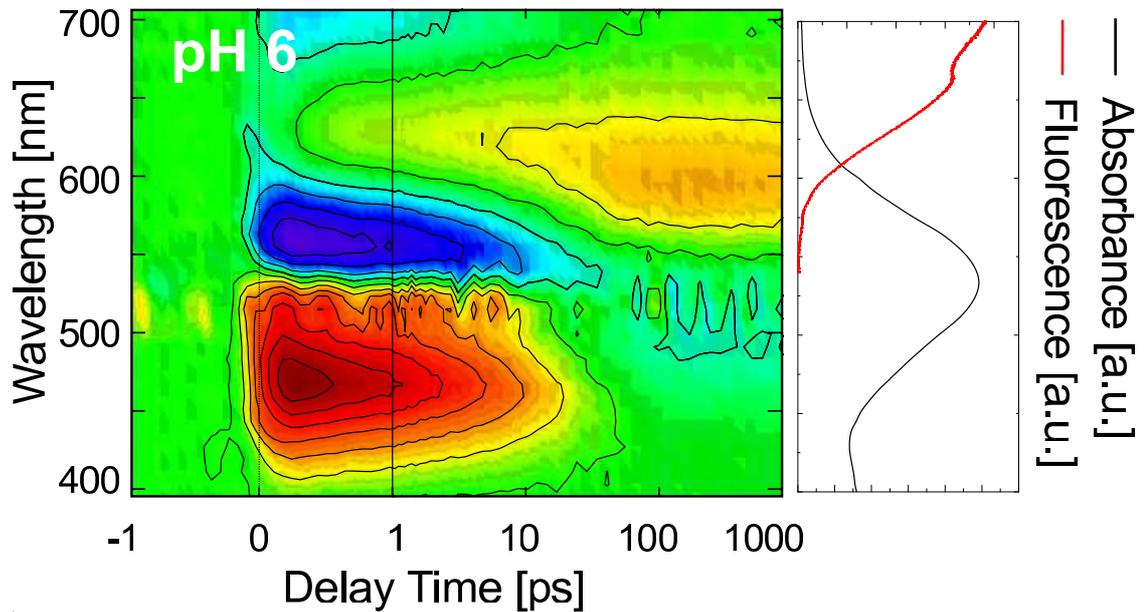


Abbildung 3.12: Überblick der zeitlichen Entwicklung von solubilisiertem Protorhodopsin bei pH 6,4 nach Photoanregung. Auf der rechten Seite sind zur Verdeutlichung noch die zugehörigen statischen Spektren gezeigt.

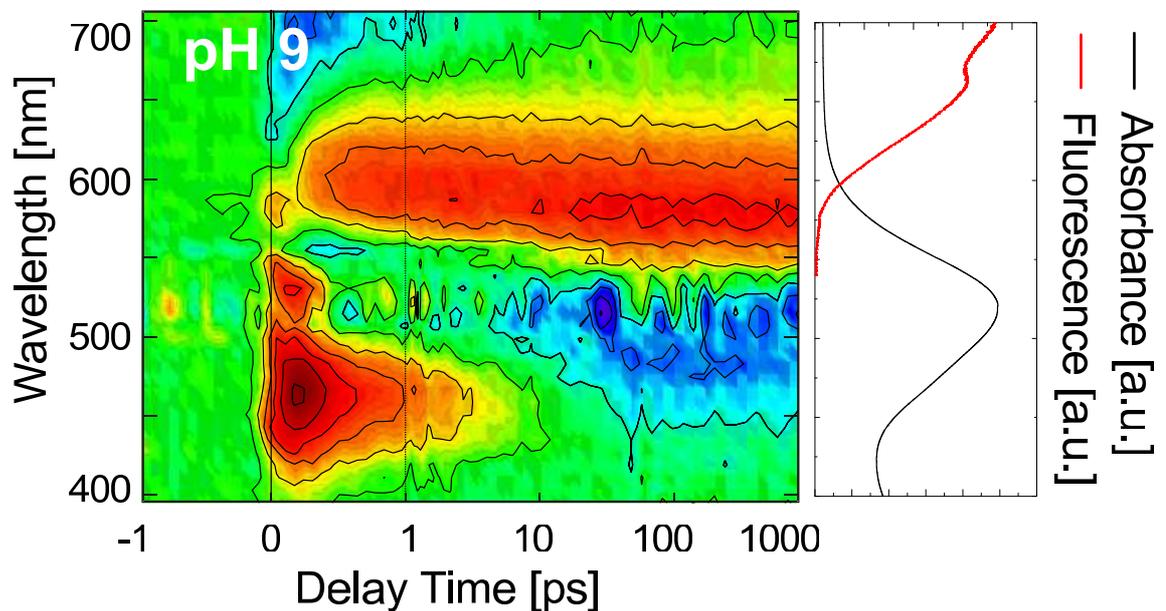


Abbildung 3.13: Überblick über die zeitliche Entwicklung von solubilisiertem Protorhodopsin bei pH 9 nach Photoanregung. Wie auch in Abbildung 3.12 sind rechts zur Verdeutlichung noch die zugehörigen statischen Spektren gezeigt.

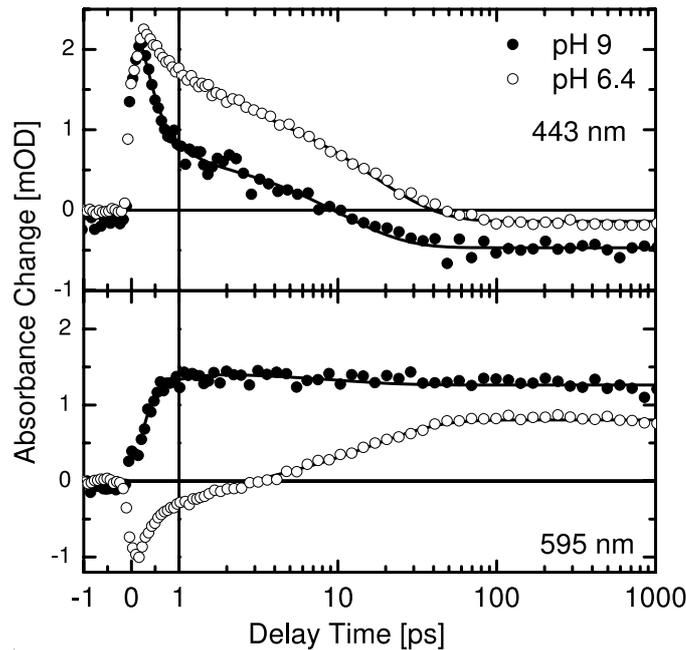


Abbildung 3.14: Vergleich der transienten Absorptionsänderung von solubilisiertem Proteorhodopsin in saurer und alkalischer Umgebung. Die Linien zeigen die Ergebnisse des globalen Fits.

Um die Daten quantitativ zu analysieren zeigt Abbildung 3.14 Transienten für ausgewählte Wellenlängen. Blauverschoben von der auffälligsten Absorptionsbande (443 nm) kann die Be- bzw. Entvölkerung des angeregten Zustands beobachtet werden. Die Besetzung erfolgt für beide Systeme in einem Zeitbereich innerhalb des Auflösungsvermögens des Femtosekundenspektrometers, während sich die Entvölkerung unterscheidet und die prinzipiell schnelleren Kinetiken bei pH 9 offenbart. Dies wird bestätigt durch die transienten Spektren (Abbildung 3.15), in denen für den alkalischen pH-Wert nach 5 ps fast keine positive Absorption erhalten bleibt, wohingegen für den sauren pH-Wert noch eine starke Absorptionsänderung zu erkennen ist.

In beiden Proben ist zu langen Verzögerungszeiten ein Ausbleichen des Grundzustandes zu erkennen. In den absoluten Werten unterscheiden sich die beiden Systeme aber. Unter der Annahme gleicher Absorptionsquerschnitte lässt sich auf eine stärkere Entvölkerung des Grundzustandes nach 1 ns für pH 9 schließen. Da das Signal für pH 9 etwa doppelt so hoch wie für pH 6,4 ist, kehren offensichtlich in saurer Umgebung innerhalb von einer Nanosekunde doppelt so viele Moleküle wieder den

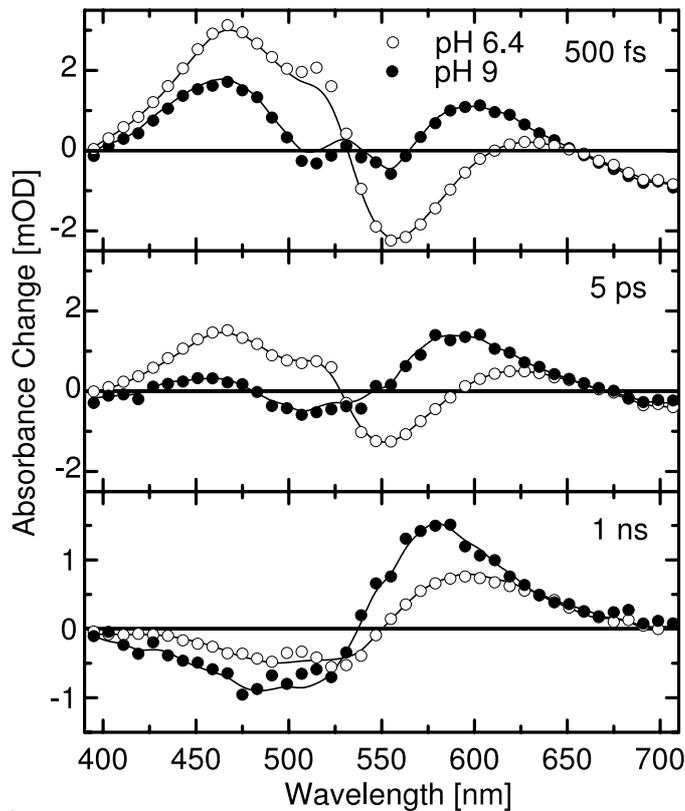


Abbildung 3.15: *Transiente Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten von solubilisiertem Proteorhodopsin bei pH 6,4 und pH 9.*

Grundzustand zurück. Qualitativ kann dieses Verhalten verstanden werden, indem elektrostatische Abstoßung berücksichtigt wird. Ein deprotonierter primärer Protonenakzeptor erlaubt den Durchlauf eines normalen Photozyklus, im Gegensatz zum protonierten Asp97, bei dem die Isomerisierung des Retinals verlangsamt ist.

Auf der roten Seite der dominierenden Absorptionsbande kann deutlich unterschiedliches Verhalten für die verschiedenen Umgebungen beobachtet werden (Abbildung 3.14, unten). Bei pH 9 ist ein starker Anstieg der Absorption erkennbar. Diese Absorptionsänderung wächst mit wenigen 100 fs an, und zerfällt dann im 10-ps-Zeitbereich. Für pH 6 kann zunächst eine anfängliche negative Absorptionsänderung beobachtet werden. Sie wächst genau wie bei pH 9 zu einer langlebigen positiven Absorptionsänderung bis zu 1 ns an.

In diesem Wellenlängenbereich kann das Photoprodukt beobachtet werden. Deutlich zu erkennen ist, dass sich das Photoprodukt für pH 9 innerhalb weniger hundert Femtosekunden aufbaut, gefolgt von nur noch kleineren Änderungen. Im Gegensatz dazu ist bei pH 6,4 zunächst nur der ausgebleichte Grundzustand zu erkennen, gefolgt vom Anwachsen des Photoproduktes mit 1 ps und 16 ps.

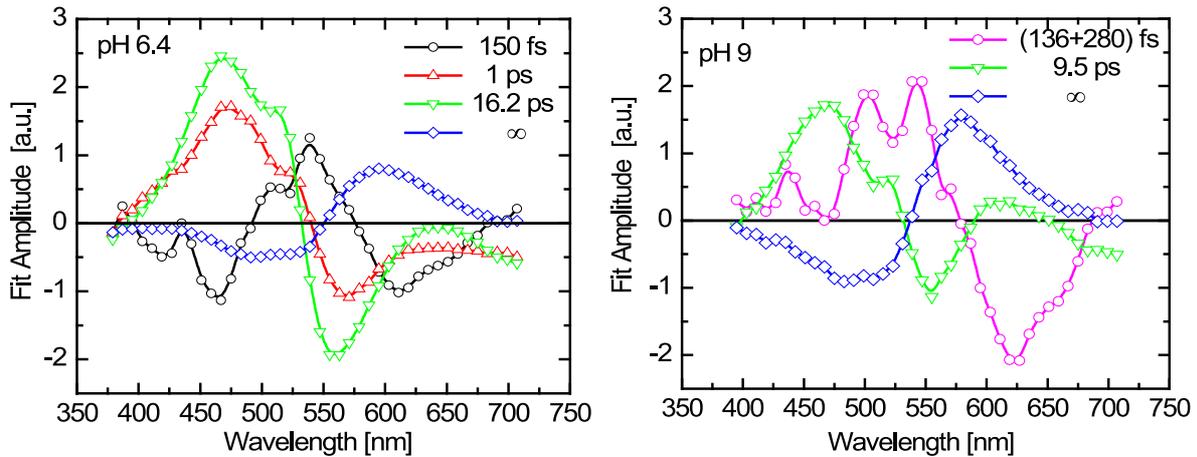


Abbildung 3.16: Amplituden der globalen Fitprozedur von Proteorhodopsin bei verschiedenen pH-Werten.

Auch in dieser Messserie wurden die Transienten mittels einer globalen Fitprozedur (s. Abschnitt 2.8) untersucht. Es genügen 4 Zeitkonstanten zum zufriedenstellenden Anpassen der Daten. Diese Zeiten sind in Tabelle 3.3 angegeben. Im Unterschied zu den Messungen an rekonstituierten Proben kann hier jedoch auf die kurzen Zeiten genauer eingegangen werden, da die Zeitaufösung ausreichend war, um die kurzen Zeiten verlässlich zu bestimmen. Zum Vergleich sind erneut die Zeiten für die rekonstituierten Proben angegeben. Der generelle Trend, dass sich die Pikosekundenprozesse bei protoniertem Protonenakzeptor (pH 6,4) verlangsamen ist auch in den Zeitkonstanten für die solubilisierten Proben zu erkennen. Die ultraschnellen Kinetiken unterhalb von 200 fs können jeweils mit einer Zeitkonstante für beide pH-Werte beschrieben werden ($\tau_{1(pH6,4)}$, $\tau_{1(pH9)}$). Diese Zeiten können be-

	τ_1 [ps]	τ_2 [ps]	τ_3 [ps]	τ_4 [ps]
PR _{solu} (pH 6,4)	0,15	1	16,2	> 1000 (∞)
PR _{solu} (pH 9)	0,14	0,28	9,5	> 1000 (∞)
PR _{rekons} (pH 6)	< 0,2	0,7	15	> 1000 (∞)
PR _{rekons} (pH 9)	< 0,2	0,4	8	> 1000 (∞)

Tabelle 3.3: pH abhängige Zeitkonstanten des globalen Fits der ersten Schritte der Proteorhodopsinphotozyklen für solubilierte und zum Vergleich rekonstituierte Proben.

stimmt werden, besitzen aber aufgrund der Tatsache, dass sie in der Größenordnung der Zeitaufösung liegen, größere Fehler als die anderen. Wie auch die zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen bestätigen, kommt es zu einem dynamischen Stokes-Shift, so dass die kurze Zeit eine Mischung verschiedenster Beiträge repräsentiert. Diese können eigentlich nicht mittels einer Exponentialfunktion beschrieben werden. Besonders für pH 9, bei dem die beiden kürzesten Zeiten nahe beieinander liegen, kommt zusätzlich der Effekt hinzu, dass sich die DAS gegenseitig kompensieren können. Daher ist in Abbildung 3.16 rechts nur die Summe der beiden kürzesten Zeiten angegeben.

Die spektralen Eigenschaften von τ_2 und τ_3 sind für pH 6,4 sehr ähnlich. Daraus lässt sich schließen, dass die zugrundeliegenden Prozesse verwandt sind. Im Spektrum der langsamsten Zeitkonstante ist nicht nur der ausgebleichte Grundzustand zu erkennen, sondern auch das Photoprodukt, das frühe K-Intermediat. Auch bei den solubilisierten Proben führt wie bei den rekonstituierten die Einführung einer weiteren Zeit nicht zu einer signifikanten Verbesserung des Fits.

3.5.2 Transiente Fluoreszenzspektroskopie

Da in transienten Absorptionsmessungen sowohl die Dynamik des Grundzustandes als auch die Dynamik des angeregten Zustands beobachtet wird und sich diese überlagern können, ist es oftmals schwierig zwischen den verschiedenen Beiträgen zu unterscheiden. Daher wurde auch transiente Fluoreszenzspektroskopie zur Untersuchung der Primärdynamik von Proteorhodopsin verwendet. Da eine geeignete Anlage in Frankfurt nicht zur Verfügung stand, wurden die Messungen von B. Schmidt in München [74] durchgeführt.

Abbildung 3.17 zeigt die Dynamik nach Photoanregung bei 525 nm. Eine kurzlebige und spektral breite (580 nm - 850 nm) Fluoreszenz ist deutlich sichtbar. Diese Dynamik kann mittels eines globalen Fits mit vier Zeitkonstanten beschrieben werden ($\tau_1 \approx 0,05-0,15$ ps, $\tau_2 \approx 0,45$ ps, $\tau_3 \approx 4$ ps und $\tau_4 = \infty$). Dabei beschreiben die ersten drei Zeitkonstanten die Probendynamik während die vierte einen Langzeitoffset beschreibt. Die ermittelten Zeiten sowie die zugehörigen Fitamplituden sind in guter Übereinstimmung mit Daten aus einem reduzierten globalen Fit der transienten Absorption. In diesem wurden nur die Transienten oberhalb von 650 nm gefittet. Da hier nur stimulierte Emission zum Zerfall beiträgt, ergeben sich im Rahmen der Messungengenauigkeiten die gleichen Zeitkonstanten.

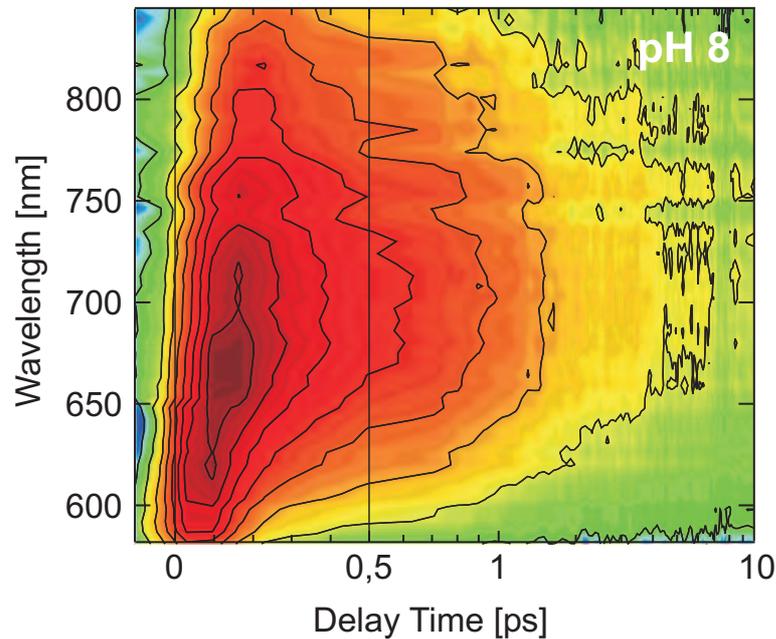


Abbildung 3.17: Zeitaufgelöste Fluoreszenz von Proteorhodopsin nach Photoanregung bei 525 nm.

Außerdem ist ein wellenlängenabhängiger Zeitnullpunkt zu erkennen. Dieser dynamische Stokes-Shift, der sich in einem Zeitbereich zwischen 50 fs und 150 fs abspielt, kann einer Bewegung auf der Potentialfläche des angeregten Zustandes zugeordnet werden. Diese Bewegung führt aus der Franck-Condon-Region heraus in Richtung der konischen Durchschneidung. Der beobachtete Zeitbereich entspricht dabei der schnellen Zeitkonstante der transienten Absorption. Ein dynamischer Stokes-Shift konnte auch bereits für andere Retinalproteine wie z.B. Bakteriorhodopsin beobachtet werden [72, 74]. Dort konnte auch ausgeschlossen werden, dass es sich um eine unzureichende Korrektur der GVD handelt. Zur Verdeutlichung des dynamischen Stokes-Shifts ist in Abbildung 3.18 (links) die Dynamik von Proteorhodopsin nach Photoanregung zu kurzen Zeiten zusammen mit dem jeweiligen Maximum der Fluoreszenz gezeigt. Abbildung 3.18 (rechts) zeigt das jeweilige Maximum der Fluoreszenz als Funktion der Wellenlänge und der Verzögerungszeit. Auch hier ist der dynamische Stokes-Shift deutlich zu erkennen.

Betrachtet man die Amplitudenspektren der Fluoreszenz, so zeigt sich, dass die spektralen Eigenschaften der zweiten und der dritten Zeitkonstante sehr ähnlich sind. Die Annahme zweier ähnlicher Zerfallskanäle aus dem S_1 -Zustand, wie sie sich aus der transienten Absorptionsspektroskopie ergibt, wird daher unterstützt.

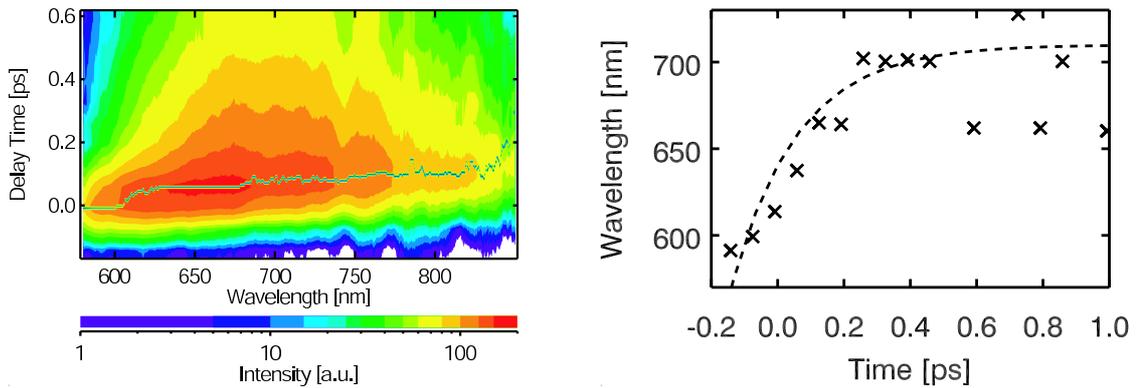


Abbildung 3.18: Links: Höhenlinienbild der Fluoreszenzspektren von Proteorhodopsin nach [72]. Die Linie zeigt die Lage der Fluoreszenzmaxima bei jeder Wellenlänge. Rechts: Dynamischer Stokes-Shift der Fluoreszenzspektren von Proteorhodopsin [72]. Stufenförmiges Verhalten resultiert aus einer unvollständigen Korrektur eines Messartefakts. Die Linie dient zur Verdeutlichung des Trends.

Der Vergleich der integrierten zeitaufgelösten Fluoreszenz mit dem statischen Spektrum (Abbildung 3.19) zeigt gute Übereinstimmung zwischen den beiden. Die stationäre Fluoreszenz setzt sich somit vollständig aus den in den zeitaufgelösten Messungen beobachteten Beiträgen zusammen.

3.6 Entwickeltes Modell der Primärreaktion von Proteorhodopsin

Direkt nach Photoanregung bildet sich bei allen untersuchten Proteorhodopsinsystemen eine positive Absorptionsänderung um 450 nm aus und zerfällt auf der Zeitskala von etwa 150 fs. Dieses Signal ist Teil der Bewegung auf der Zustandsfläche des ersten angeregten Zustands in Richtung der konischen Durchschneidung. Der auf derselben Zeitskala beobachtete dynamische Stokes-Shift unterstützt diese Annahme. Somit kann diese kurze Zeit einer Bewegung des anfänglich präparierten Wellenpaketes aus der Franck-Condon-Region heraus zugeschrieben werden. Analog zu einer Beschreibung in Bakteriorhodopsin mittels eines Zwei-Zustands-zwei-Moden-Modells [106, 107] kann diese Bewegung mit einer in-plane Streckung als Start der Isomerisierung des Retinals, gefolgt von einer Torsion um die C13-C14-Doppelbindung verstanden werden. Für diese anfängliche Bewegung des Retinals

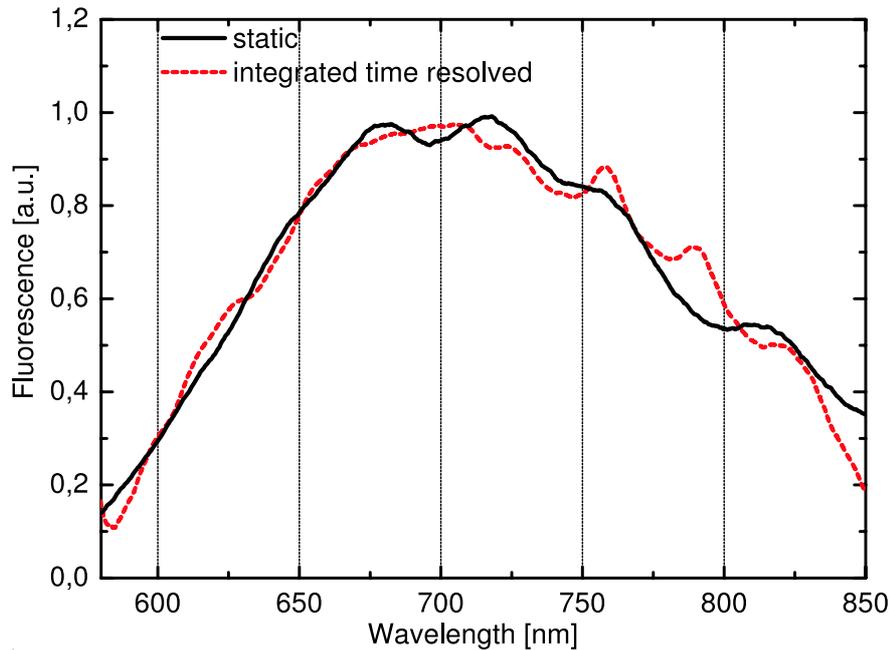


Abbildung 3.19: Vergleich zwischen statischer und integrierter zeitaufgelöster Fluoreszenz von Proteorhodopsin. Es ist gute Übereinstimmung zwischen beiden Messungen zu erkennen. Oszillationen auf den Kurven stammen von einem Interferenzfilter im Strahlengang.

konnte im Gegensatz zu den längeren Zeitkonstanten jedoch keine Abhängigkeit vom Protonierungszustands des primären Protonenakzeptors Asp97 gefunden werden. Die Drehung spielt sich abhängig vom pH-Wert zwischen 300 fs und 1 ps ab. Die Erniedrigung der Zeitkonstanten bei Erhöhung des pH-Wertes konnte sowohl in rekonstituierten wie auch in solubilisierten Proben beobachtet werden. Mit dieser Zeitkonstante erfolgt der Übergang in den elektronischen Grundzustand durch die konische Durchschneidung.

Die Fitamplituden der zweiten und der dritten Zeitkonstante sind einander spektral sehr ähnlich. Es kann davon ausgegangen werden, dass sowohl Ausgangs- als auch der Endzustand dieser beiden Zerfälle sehr ähnlich oder sogar gleich sind. Der Ausgangsbereich entspricht dabei nicht dem ursprünglichen Franck-Condon-Bereich, da sich die spektralen Merkmale der ersten Zerfallskonstante deutlich von den beiden anderen unterscheiden. Ein biphasischer Zerfall eines S_1 -Zustandes wurde bereits für andere Retinalproteine wie z.B. Halorhodopsin [83] beobachtet und ist daher auch für Proteorhodopsin plausibel.

Vergleicht man die jeweiligen Fitamplituden für beide pH-Werte, so fällt auf, dass in saurer Umgebung der langsamere Zerfallskanal ($\tau_3 = 16,2$ ps) bevorzugt ist, wohingegen in alkalischer Umgebung der schnelle Zerfallskanal ($\tau_2 = 300$ fs) dominiert. Grund für das biphasische Verhalten mit einer Änderung des jeweiligen Besetzungsverhältnisses kann Heterogenität der Probe sein. Wahrscheinlicher ist aber eine Verzweigung der Reaktion (siehe Seite 40/41).

Zur Beschreibung der Primärreaktion in Bakteriorhodopsin existieren verschiedene Modelle, die nach der Anzahl der beteiligten elektronischen Niveaus benannt wurden (Zwei-Zustands- und Drei-Zustands-Modelle). Bei Zwei-Zustands-Modellen erfolgt die Anregung aus dem Grundzustand (S_0 , A_g -artiger Charakter) direkt in den energetisch nächstliegenden (S_1 , B_u -artiger Charakter). Bei Drei-Zustands-Modellen wechselwirken die beiden niedrigsten Zustände oberhalb des Grundzustands über eine vermiedene Kreuzung miteinander. Dieses resultiert in einem starken kovalenten, $2A_g$ -artigen Charakter des ersten Zustand über dem Grundzustand. Da dieser dann nicht mehr optisch aktiv ist, kann eine Anregung nur in den darüberliegenden Zustand mit B_u -artigem Charakter erfolgen.

Die für Proteorhodopsin beobachtete photoinduzierte Primärdynamik würde sich auf der Grundlage beider Modellen erklären lassen. Da jedoch neuere theoretische und experimentelle Arbeiten gegen das Drei-Zustands-Modell zur Beschreibung der Primärdynamik für Bakteriorhodopsin sprechen [106,108,109], wird in dieser Arbeit ein Reaktionsmodell in Analogie zum Zwei-Zustands-Modell für Bakteriorhodopsin präsentiert.

Ein Energie- bzw. Reaktionsmodell das alle Beobachtungen in Betracht zieht und erklären kann, ist in Abbildung 3.20 gegeben. Nach der Photoanregung in die Franck-Condon-Region der S_1 -Potentialfläche kommt es im Retinal zunächst zu einer Streckbewegung (50 - 100 fs) und anschließend zu einer Torsionsbewegung innerhalb von 300 fs, die zur konischen Durchschneidung mit der S_0 Zustandsfläche führt. Die meisten Moleküle (für pH 9) folgen diesem Reaktionsweg, indem sie die aufgenommene Energie auf diese Weise umlagern. Jedoch finden nicht alle Moleküle direkt den Weg in die konische Durchschneidung. Einige erreichen zwischenzeitlich einen „entspannten“ Zustand (relaxed state) auf der S_1 -Potentialfläche. Innerhalb einiger Pikosekunden relaxieren auch diese über die konische Durchschneidung und isomerisieren auf der unteren Zustandsfläche entweder zur 13-*cis*-Konfiguration (K-Intermediat) oder enden wieder in der ursprünglichen all-*trans*-Konformation.

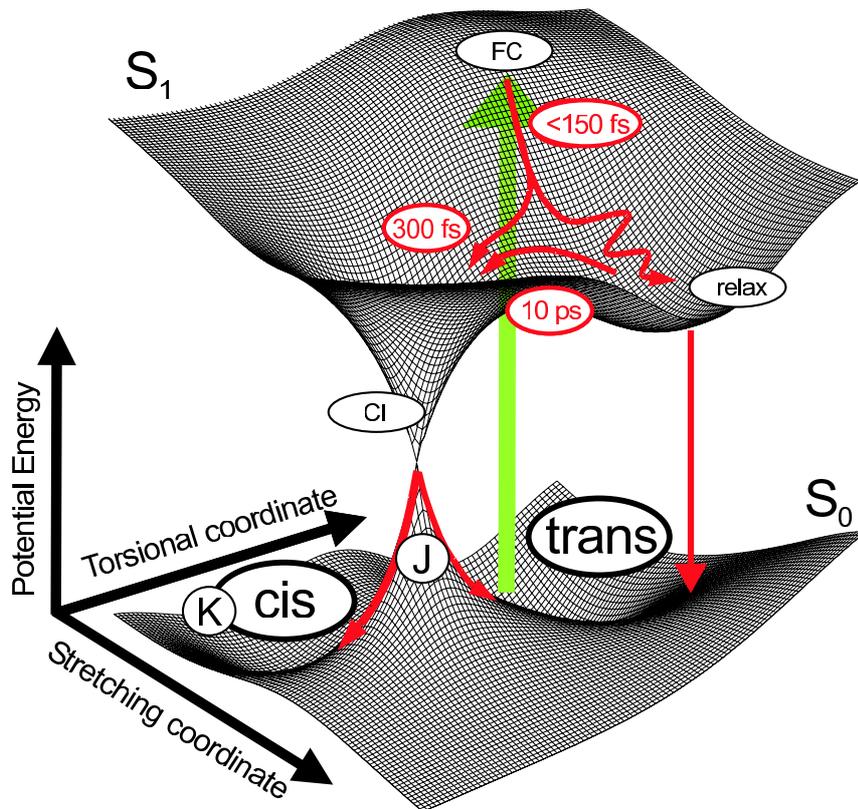


Abbildung 3.20: Entwickeltes Energie- und Reaktionsschema der Primärreaktion von Proteorhodopsin.

Die Beeinflussung des Aufteilungsverhältnisses zwischen schnellem und langsamem Reaktionskanal sowie langsamere Reaktionsraten können auch mittels des entwickelten Modells verstanden werden. Da der erste angeregte Zustand ionischen Charakter besitzt wird die Energie der Drehung um die C13-C14 Position durch die Ladung des Asp97 beeinflusst. Im Potentialflächenmodell kann dies mit einer Verkipfung der S_1 -Zustandsfläche verstanden werden. Dabei muss die obere Fläche derart geneigt werden, dass sich die Absorption in den Franck-Condon-Bereich leicht ändert, während die Fluoreszenz, die vornehmlich aus dem „entspannten“ Zustand erfolgt, konstant bleibt. Damit kann es sowohl zu einer Erhöhung der Zerfallszeiten, als auch zu einem veränderten Besetzungsverhältnis der Zerfallskanäle kommen. Abbildung 3.21 zeigt einen Schnitt durch die beiden Potentialflächen entlang der Torsionskoordinate zur Verdeutlichung dieses Modells. Für ein deprotoniertes Asp97 kann die Reaktion ohne große Barriere entlang dieser Koordinate bis zu ei-

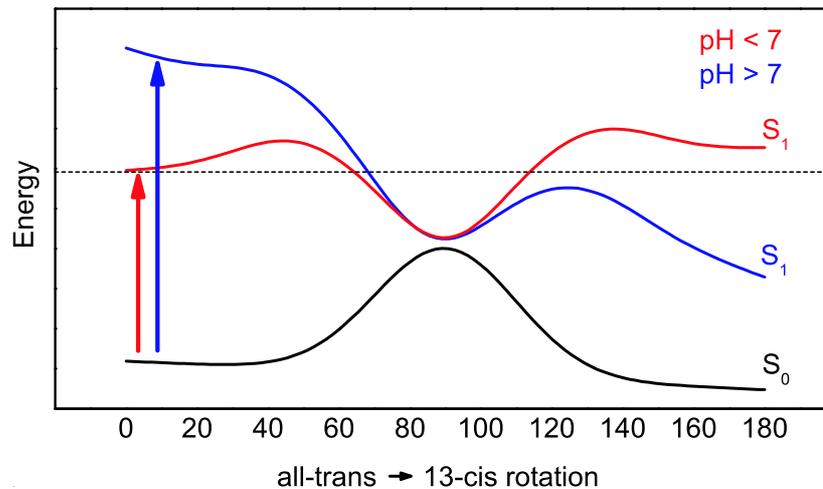


Abbildung 3.21: Modell zur Verdeutlichung der pH-Abhängigkeit der Primärreaktion von Proteorhodopsin. Die pH-Abhängigkeit kann durch eine Verkippung der Potentialfläche des ersten angeregten Zustandes und einer Erniedrigung der Barriere verstanden werden.

nem 90° -verdrehten Retinal erfolgen. Von diesem Zustand aus erfolgt entweder eine vollständige Isomerisierung oder eine Rückreaktion in den Ausgangszustand. Im Falle eines protonierten primären Protonenakzeptors muss eine Barriere überwunden werden. Das führt zu einer deutlichen Verlangsamung der Reaktion sowie zu einer Bevorzugung anderer Kanäle.

3.7 Resümee

Die hier gezeigten Messungen an solubilisierten und rekonstituierten Proteorhodopsinproben stellen die ersten femtosekunden-zeitaufgelösten Messungen der primären Dynamik dieses neu entdeckten bakteriellen Rhodopsins dar. Die ersten Schritte des Photozyklus konnten sowohl beobachtet als auch auf molekularer Ebene verstanden werden.

Nach Photoanregung kommt es in diesem Protein wahrscheinlich zunächst zu einer kombinierten Streckung und Torsion des Chromophors ähnlich wie in Bakteriorhodopsin. Es konnte gezeigt werden, dass diese Initialbewegung unabhängig vom Protonierungszustand des primären Protonenakzeptors Asp97 ist. Wie auch durch

femtosekunden-zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen bestätigt werden konnte, folgt der weitere Zerfall des angeregten Zustands einer biexponentiellen Kinetik und wird von der Ladung des primären Protonenakzeptors beeinflusst. Abhängig vom eingestellten pH-Wert ändern sich die genauen Zerfallszeiten und der S_1 -Zustand zerfällt entweder vornehmlich schneller ($\tau < 1$ ps für $\text{pH} > 7,6$) oder langsamer ($\tau > 8$ ps für $\text{pH} < 7,6$). Auch die Quantenausbeuten der Isomerisierung des Retinals zeigten sich abhängig vom pH-Wert und um den Faktor 2 höher für eine alkalische Umgebung.

Ein Vergleich der primären Dynamik von rekonstituiertem Proteorhodopsin mit solubilisiertem Proteorhodopsin zeigte gute Übereinstimmung der jeweiligen Kinetiken. Dies ermöglicht es in weiteren Untersuchungen auf das für den jeweiligen Zweck geeignetere System zurückzugreifen.

Eine elektrostatische Kontrolle der primären Reaktionen von Proteorhodopsin in Bezug auf Reaktionsraten sowie auf Isomerisierungseffizienzen durch die Proteinumgebung konnte damit zum ersten Mal für dieses neu entdeckte bakterielle Rhodopsin gezeigt werden.

*„Es kommen im Leben mehr unerwartete, wunderbare Dinge vor,
und es wäre schlimm, wenn alles im Gleise ginge.“
J.W.G.*

4 Elektronentransfer an Farbstoff-Halbleiter-Systemen

4.1 Einleitung

Ohne Ausbildung oder Aufbrechen von Bindungen wird bei Elektronentransferreaktionen ein Elektron von einem Donor zu einem Akzeptor transferiert. Aufgrund dieses relativ einfachen Mechanismus lassen sich Elektronentransferreaktionen in vielen Feldern der Naturwissenschaften von Physik über Chemie bis hin zur Biologie finden. Das

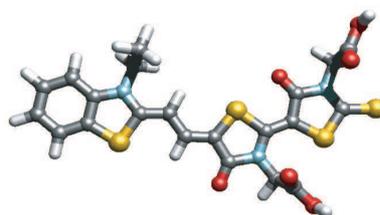


Abbildung 4.1: *Struktur von Merocyanin 2 OG.*

wichtigste und bekannteste Beispiel, in der sich diese fundamentale Reaktion wiederfinden lässt ist die Photosynthese. In natürlichen Systemen tritt ET typischerweise von einem diskreten Donorzustand eines Moleküls zu einem ebenfalls diskreten Akzeptorzustand eines anderen Moleküls auf und man spricht von einem homogenen ET. Die Bedeutung dieses Mechanismus wird auch dadurch deutlich, dass für dessen theoretische Beschreibung bereits zwei Nobelpreise vergeben wurden [110] (H. Taube 1983 [111] und R. Marcus 1992 [112]). Die von Marcus entwickelte klassische Theorie zur Beschreibung des thermisch induzierten homogenen ETs besitzt noch heute ihre Gültigkeit. Er erkannte die Bedeutung sowohl der Änderung der Kernkoordinaten im Verlauf der Reaktion als auch des Lösungsmittels für die Reaktionsraten. Das Standardmodell konnte von Hopfield um 1976 auf eine semiklassische Beschreibung [113] erweitert werden. Jortner und Mitarbeiter entwickelten auf dieser Grundlage eine quantenmechanische Beschreibung [114].

Für die im Rahmen dieser Doktorarbeit untersuchten Farbstoff-Halbleiter-Systeme kommt es zu einem photoinduzierten ET von einem adsorbierten Farbstoffmolekül in das Leitungsband eines Halbleiters. Damit liegt nicht mehr ein diskreter Akzeptorzustand, sondern ein Kontinuum von Akzeptorzuständen vor und man spricht von heterogenem ET. Diese Art des ET ist ein Prozess, der genau wie der homogene ET seit vielen Jahren bekannt ist und auch technisch angewendet wird [115–129]. Die bekannteste Anwendung ist dabei vermutlich die photosensibilisierte Solarzelle (DSSC, auch Grätzelzelle) [20]. Der zunehmende Einsatz alternativer Energiequellen dürfte der Hauptgrund für das derzeit starke Interesse an Farbstoff-Halbleiter-Systemen sein [20, 130–136]. Solarzellen dieser Art erreichen mittlerweile einen Wir-

kungsgrad von über 10% und können zum einen dank ihrer relativ unkomplizierten und kostengünstigen Herstellung, zum anderen aufgrund einfacher Abstimmbarkeit und Anpassung, einen signifikanten Beitrag zur Energieversorgung leisten.

Die primäre Photoreaktion dieser Art von Solarzelle ist der ET vom adsorbierten Farbstoff in das Leitungsband des im sichtbaren Bereich transparenten Halbleiterkolloids. Aufgrund einer Vielzahl von Akzeptorzuständen liegt die Injektionszeit abhängig von der Stärke der elektronischen Kopplung in der Größenordnung von wenigen Pikosekunden [137] bis hinunter zu wenigen Femtosekunden [24]. Aus diesem Grund stellt transiente Absorptionsspektroskopie mit einer Zeitauflösung von wenigen zehn Femtosekunden eine geeignete Methode dar, die Elektroneninjektion sowie die nachfolgenden Prozesse der Rückreaktion bis in den Nanosekundenbereich zu beobachten. In diesem Kapitel soll nach einer kurzen theoretischen Einführung die Dynamik verschiedener Merocyaninfarbstoffe in Lösung im Zeitbereich bis 1 ns nach Photoanregung dargestellt werden. Im Anschluss daran werden die Untersuchung der gekoppelten Systeme präsentiert und mit den ungekoppelten verglichen.

4.2 Grundlagen und Theorie

4.2.1 Theorie des Elektronentransfers

Mittels Elektronentransfertheorien ist es möglich, die Raten des Elektronentransfers zwischen Ausgangs- und Endzustand einer ET-Reaktion in Abhängigkeit verschiedener Parameter zu berechnen. Da im Rahmen dieser Arbeit auch intermolekulare ET-Reaktionen untersucht wurden, soll hier eine kurze Einführung in verschiedene Theorien gegeben werden.

Für die hier vorliegenden adsorbierten Farbstoffe fällt im Gegensatz zum klassischen ET die Diffusion als ratenlimitierender Schritt weg und es braucht nur die Elektroneninjektion selbst diskutiert werden. Für einen intermolekularen ET spricht man von einer Elektronenübertragung von einem Donormolekül D zu einem Akzeptormolekül A ($DA \rightarrow D^+A^-$).

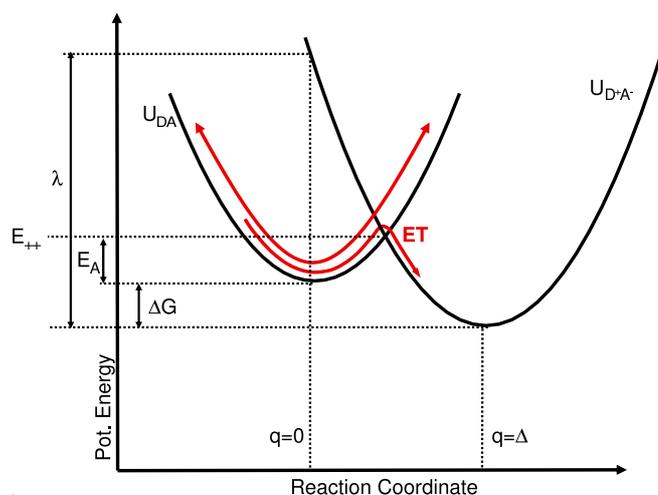


Abbildung 4.2: Darstellung der Parameter der Marcus-Theorie.

Marcus-Theorie

Entscheidende Größe zur Beschreibung der Reaktion ist die potentielle Energie. Diese ist eine Funktion vieler Koordinaten, wie z.B. Ortskoordinaten der Atome oder Orientierungskordinaten der Lösungsmittelatome. Sie können zur einfachen Beschreibung in einer effektiven Reaktionskoordinate zusammengefasst werden, die als Verrückung des Gesamtsystems inklusive der Lösungsumgebung verstanden werden kann. In vielen Fällen wird die generalisierte Koordinate dominiert von einzelnen, wie z.B. Bindungslängen oder Winkeln und kann anschaulich auch als diese eine Koordinate interpretiert werden. Trägt man die potentielle Energie des Anfangs- und Endzustandes der ET-Reaktion als Funktion der Reaktionskoordinate auf, erhält man im einfachsten Fall die zwei in Abbildung 4.2 skizzierten Parabeln. Die Minima entsprechen den Gleichgewichtslagen der jeweiligen Zustände. Ein ET kann aufgrund der Impuls- und Energieerhaltung nur im Bereich der Kreuzungspunkte der beiden Parabeln stattfinden (Franck-Condon-Prinzip). Weiterhin kann davon ausgegangen werden, dass die Elektronen aufgrund ihrer deutlich geringeren Masse annähernd instantan der Bewegung der Kerne folgen, sodass die potentielle Energie des Systems in einem bestimmten elektronischen Zustand ausschließlich durch die Kernkoordinaten bestimmt ist (Born-Oppenheimer-Näherung). Die Näherung bricht jedoch direkt am Kreuzungspunkt zusammen.

In Abbildung 4.2 sind weiterhin die wichtigsten Systemparameter einer ET-Reaktion angegeben. U_{DA} und U_{D+A-} beschreiben die Potentialflächen des Ausgangs- bzw. des Endzustandes. ΔG ist die Differenz der freien Energien der jeweiligen Gleichgewichtslagen und λ die Reorganisationsenergie, d.h. die Differenz zwischen der Energie des Endzustandes in seiner Gleichgewichtslage und seiner Energie in der Gleichgewichtslage des Anfangszustandes. E_A entspricht der Aktivierungsenergie. Die Reaktionskoordinaten $q = 0$ und $q = \Delta$ bezeichnen die Ruhelagen des Ausgangs- bzw. des ladungsgetrennten Zustandes. Unter der Annahme gleicher Parabelöffnungen kann die Aktivierungsenergie E_A als Funktion der Reorganisationsenergie sowie der Differenz der freien Energien geschrieben werden:

$$E_A = \frac{(\Delta G + \lambda)^2}{4\lambda} = \frac{\lambda}{4} \left(1 + \frac{\Delta G}{\lambda} \right)^2 \quad (4.1)$$

Zur Berechnung der Elektronentransferrate wird folgendermaßen vorgegangen: Das oszillierende System befindet sich im Ausgangszustand mit einer Schwingungsenergie deutlich oberhalb von E^{++} . Das Elektron passiert den Kreuzungspunkt der Parabeln zweimal pro Schwingung und kann mit der Wahrscheinlichkeit P_{ET} auf die Parabel des Endzustandes übergehen. Die mikroskopische Rate des ET einer bestimmten Ausgangsenergie berechnet sich dann unter Annahme einer mittleren Frequenz der Schwingungsmoden $\bar{\omega}$ zu

$$k(E) = 2P_{ET} \frac{\bar{\omega}}{2\pi}. \quad (4.2)$$

Zieht man zur vollständigen Berechnung der ET-Raten noch die Boltzmann-Verteilung der Schwingungsenergien mit k_B als Boltzmann-Konstante und T als Temperatur heran, so ergibt sich

$$k_{ET} = \frac{\int_{E^{++}}^{\infty} k(E) e^{-E/k_B T} dE}{\int_0^{\infty} e^{-E/k_B T} dE}. \quad (4.3)$$

Zur weiteren Betrachtung der ET-Raten können verschiedene Fälle unterschieden werden. Ein nichtadiabatischer Elektronentransfer liegt vor, wenn die Injektion von relaxierten Schwingungszuständen ausgeht, oder anders ausgedrückt, wenn der Transfer deutlich langsamer vonstatten geht als die Schwingungsrelaxation. Man spricht von adiabatischem ET, wenn es z.B. aufgrund einer starken elektronischen

Kopplung zwischen Donor und Akzeptor zu einem schnellen ET im Verhältnis zur Schwingungsrelaxation kommt. Mathematisch lässt sich die Unterscheidung mittels des Landau-Zener-Faktors

$$\gamma_{LZ} = \frac{2\pi|V|^2}{\sqrt{2\lambda k_B T}} \quad (4.4)$$

oder auch der Übergangswahrscheinlichkeiten

$$P_{ET} = 1 - e^{-\gamma_{LZ}} \quad (4.5)$$

mit $|V|$ als elektronischem Kopplungselement zwischen Donor und Akzeptor formulieren. Da das elektronische Kopplungselement quadratisch in die Bestimmung des Landau-Zener-Faktors eingeht, ist dessen Größe ein entscheidendes Maß für die Adiabaticität des Prozesses.

Homogener nichtadiabatischer ET

Ist $P_{ET} \ll 1$ und damit $\gamma_{LZ} \approx P_{ET}$ liegt der Grenzfall des nichtadiabatischen Elektronentransfers vor. Gleichung 4.3 kann analytisch gelöst werden und es ergibt sich eine makroskopische Elektronentransferrate von

$$k_{ET} = \frac{2\pi}{\hbar} \cdot |V|^2 \cdot \frac{e^{-\frac{(\Delta G + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}}}{\sqrt{4\lambda k_B T}}. \quad (4.6)$$

Danach hängt die Elektronentransferrate zum einen von der Stärke der elektronischen Kopplung ab. Zum anderen wird k_{ET} beeinflusst durch energetische Aspekte, wie die Reorganisationsenergie und die Differenz der freien Energien.

Homogener adiabatischer ET

Vom Grenzfall des adiabatischen ET spricht man, sofern eine hohe Übergangswahrscheinlichkeit an der Kreuzungsstelle der Parabeln vorliegt. Grund dafür ist eine starke elektronische Kopplung zwischen Donor und Akzeptor. Verdeutlicht wird dieses durch eine Aufspaltung am Kreuzungspunkt der Potentiale (siehe Abbildung 4.3). Man spricht von einer Reaktion die nur auf einer einzigen kombinierten adiabatischen Potentialfläche abläuft. Für einen rein adiabatischen Fall ($P_{ET} = 1$) ergibt

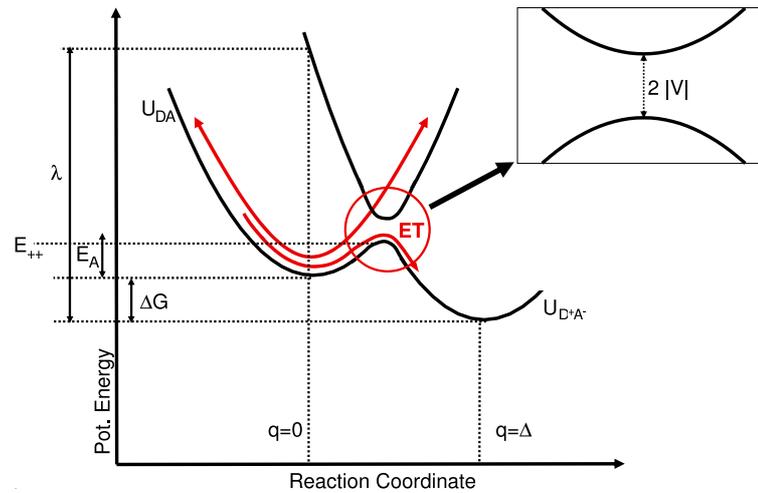


Abbildung 4.3: Darstellung der Potentialflächen des adiabatischen ET für Donor und Akzeptor.

sich die Elektronentransferrate zu [138]

$$k_{ET} = \frac{\omega}{2\pi} e^{-\frac{(\Delta G + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}}. \quad (4.7)$$

Mit den bis hier vorgestellten theoretischen Ansätzen ist es möglich, eine Vielzahl molekularer Elektronentransfersysteme zu beschreiben und auch die makroskopischen ET-Raten aus mikroskopischen Eigenschaften der Systeme zu bestimmen.

Heterogener ET

Für Farbstoff-Halbleiter-Systeme können die Theorien des homogenen ETs nicht direkt übernommen werden, sondern müssen modifiziert werden. Es kann nicht mehr *ein* Donor- und *ein* Akzeptorniveau betrachtet werden. Stattdessen liegt *ein* molekulares Donorniveau vor, das mit einer *Vielzahl* von Akzeptorzuständen des Leitungsbandes des Halbleiters überlappt. Der Fall, in dem der schwingungsangeregte Donorzustand für *jede* Kernkoordinate mit einem Akzeptorzustand in Resonanz ist wird als „Wide Band Limit“ bezeichnet [139–141]. Abbildung 4.4 zeigt die Potentialflächen im nichtadiabatischen Grenzfall für diese Situation. Jede Parabel der Schar entspricht einem kombinierten ladungstrennten Zustand.

In Analogie zum homogenen ET kann auch für den heterogenen ET zwischen adiabatischem und nichtadiabatischem Grenzfall unterschieden werden.

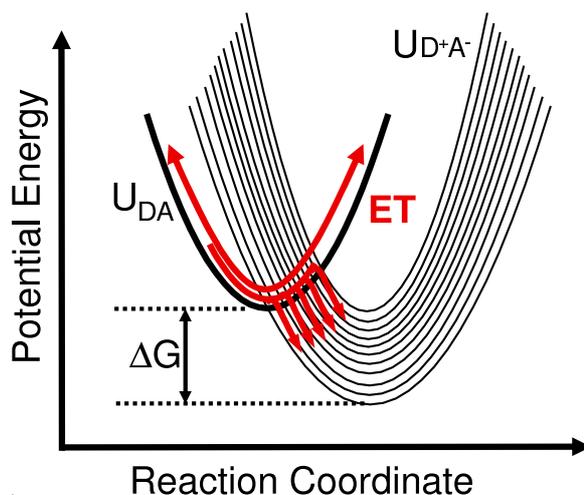


Abbildung 4.4: Darstellung der Potentialflächen eines heterogenen nichtadiabatischen ET ausgehend von einem Donor zu einem Kontinuum von Akzeptorzuständen.

Heterogener nichtadiabatischer ET

Aus Abbildung 4.4 ist zu erkennen, dass jeder Punkt der Donorparabel gleichzeitig auch als eine vermiedene Kreuzung zwischen den Energieflächen des Donors und des Akzeptors angesehen werden kann. Damit kann der ET an jedem Punkt der Donorparabel stattfinden und die Energieübereinstimmung zwischen Donor- und Akzeptorniveaus ist für alle Donorniveaus gewährleistet. Die beim homogenen ET erforderliche Energieanpassung („energy matching condition“) ist hier immer, d.h. ohne weitere molekulare Bewegung des Donors, erfüllt. Damit ist für jedes Donorschwingungsniveau nicht mehr nur der Franck-Condon-Überlapp mit einem Akzeptorniveau entscheidend, sondern der Überlapp mit der Summe aller Franck-Condon-Faktoren, d.h. dem gesamten Franck-Condon-Spektrum. Dadurch ergeben sich im Vergleich zum homogenen ET einige prinzipielle Änderungen. So kann der ET auch für schwache elektronische Kopplung ultraschnell werden, da die Rate nicht mehr durch die molekularen Schwingungen, die das System zu einem Kreuzungspunkt bringen müssen, limitiert ist. Weiterhin wird die Elektronentransferrate unabhängig von einzelnen Franck-Condon-Faktoren. Anstelle dieser tritt allein die Zustandsdichte ($\text{DOS} \hat{=} \text{„density of states“}$). Diese Größe ist stationär und die ET-Rate wird nur noch durch die elektronische Kopplungsstärke bestimmt. Dieses konnte von Lanzafame und Mitarbeitern 1992 auch durch Lösung der Liouville-Gleichung mathe-

matisch exakt für ein einzelnes Donorniveau gekoppelt an ein Zustandskontinuum gezeigt werden [141]. Die ET-Rate ist dann gegeben durch

$$k_{ET} = 8\pi\hbar|V|^2\text{DOS}_{kont}, \quad (4.8)$$

mit DOS_{kont} als Zustandsdichte des Kontinuums.

Außerdem erreicht das Elektron durch den Transfer einen deutlich vergrößerten Phasenraum. Ausgehend von einer lokalisierten Wellenfunktion ist es anschließend in zwei bzw. drei Dimensionen delokalisiert. Dadurch ergibt sich eine niedrige Wahrscheinlichkeit des Elektronenrücktransfers.

Heterogener adiabatischer ET

Im homogenen Fall konnte durch die elektronische Kopplungsstärke zwischen adiabatischem und nichtadiabatischem ET unterschieden werden. Es ergibt sich, dass die zwei unabhängigen Potentialflächen von Donor und Akzeptor für den adiabatischen Fall zu einer einzigen kombinierten verschmelzen. Diese Unterscheidung anhand der elektronischen Kopplungsstärke ist nicht mehr anwendbar für den heterogenen ET.

Befindet sich der Donorzustand deutlich oberhalb der Bandkante des Leitungsbandes, liegt das höchste besetzte molekulare Orbital energetisch innerhalb der Bandlücke des Halbleiters. Es ergibt sich eine optische Anregung von einem reinen molekularen Zustand in ein Gemisch von Zuständen. Der daraus resultierende Unterschied der Absorptionsspektren des adsorbierten Moleküls und des freien Moleküls ist möglicherweise ein experimentelles Kriterium zur Unterscheidung zwischen adiabatischem und nichtadiabatischem heterogenem ET.

Die unklare Natur des angeregten Zustands erschwert die theoretische Beschreibung des adiabatischen ET, da die Annahme eines klaren Donorzustandes zusammenbricht. Daher muss im Gegensatz zum homogenen Transfer der Prozess mittels mikroskopischer, zeitabhängiger Theorie beschrieben werden. Dabei muss das Modell erstens die hohe Dichte der Akzeptorzustände zwecks Beschreibung der elektronischen Kopplung berücksichtigen. Zweitens sollte der optische Übergang mikroskopisch mittels eines zeitabhängigen elektromagnetischen Feldes beschrieben werden, um eine Vorstellung der anfänglich präparierten Superposition von Zuständen (präpariertes Wellenpaket) zu erhalten. Drittens müssen zur Beschreibung der ultraschnellen ET-Prozesse auch elektronische Dephasierungs- und Relaxationsprozes-

se mit Freiheitsgraden für die Kerne in Betracht gezogen werden. Diese Anforderungen machen die erforderliche Theorie aufwändig und komplex, sodass eine Vielzahl systemabhängiger Näherungen und Vereinfachungen einfließen müssen.

Während für sehr schnelle Transferprozesse die Freiheitsgrade der Kerne vermutlich von geringer Bedeutung sind [142], muss bei Injektionszeiten von einigen 10 Femtosekunden bis einigen 100 Femtosekunden die Kopplung an die Kerne bei der Betrachtung der Dynamik des Elektrons berücksichtigt werden. Da eine vollständige quantenmechanische Beschreibung des kompletten Systems derzeit nicht möglich ist, können verschiedene Wege zur theoretischen Beschreibung beschritten werden.

Eine Möglichkeit bieten „first principle“ Methoden zur Beschreibung der elektronischen Struktur in Kombination mit Näherungsmethoden für die Modellierung der Dynamik. Ein Beispiel hierfür wären „*ab initio* Molecular Dynamics“ Methoden [143, 144]. Dabei wird die Dynamik der Kernfreiheitsgrade klassisch beschrieben. Einen anderen Ansatz verfolgen physikalisch motivierte Modelle, beispielsweise das Anders-Newns-Modell, die eine sehr genaue Beschreibung der Dynamik erlauben [145–147]. Weiterhin gibt es eine Reihe von Methoden, die eine genaue quantenmechanische Beschreibung des ET über die Grenzen der Störungstheorie hinweg ermöglichen [148].

Insgesamt lässt sich sagen, dass eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden mit unterschiedlichen Anwendungsgebieten zur Beschreibung des heterogenen ET existieren, sodass für den Einzelfall geeignete Methoden zur theoretischen Beschreibung gewählt werden müssen. Für das hier untersuchte System existiert derzeit noch keine ausführliche theoretische Beschreibung. Die hier vorgestellten Ergebnisse können aber dazu dienen, vorgeschlagene Modelle zu überprüfen und ggf. zu erweitern, sodass auch ähnliche Systeme beschrieben werden können.

4.2.2 Untersuchte Farbstoffe

Merocyanine gehören zur Klasse der Polymethinfarbstoffe, die sich durch eine Kette von Methingruppen auszeichnen. Es ergibt sich ein System von konjugierten Doppelbindungen. Diese Farbstoffklasse kann in vielen verschiedenen, strukturell unterschiedlichen Formen auftreten. So können einige der Kohlenstoffatome durch Stickstoffatome ersetzt oder die C-Atome Bestandteile von Ringsystemen sein. Der erste Merocyaninfarbstoff wurde 1856 von C. Williams [149] entdeckt und hätte

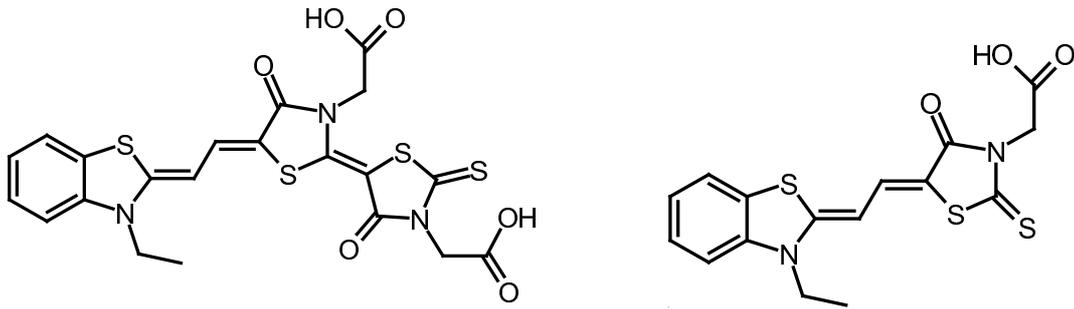


Abbildung 4.5: Chemische Struktur der untersuchten Merocyanine. Links: speziell synthetisiertes Merocyanin 2 (auch MC2OG). Rechts: kommerziell erhältliches Merocyanin 2, je nach Hersteller im Folgenden MC2HW (Firma Honeywell) und MC2FE (Firma FEW Chemicals) genannt.

wahrscheinlich nicht viel Aufmerksamkeit auf sich gezogen, hätte man nicht kurz darauf entdeckt, dass er photosensibilisierende Eigenschaften besitzt [150]. Schnell gewannen diese Farbstoffe großen Einfluss auf die Photographie, der bis heute erhalten geblieben ist [151–156].

Die ersten Versuche Licht mittels organischer Materialien in elektrische Energie umzuwandeln gab es in den frühen sechziger Jahren [158–162]. Diese Systeme entsprachen im Wesentlichen den bis dahin bekannten p-n-Halbleiter-Aufbauten, in denen lediglich die anorganischen Materialien durch organische ersetzt wurden. Dabei wurde ein Merocyanin als n-Leiter benutzt. Wenig später wurden dann auch Aufbauten mittels einer Schottky-Sperrschicht realisiert, bei denen Merocyanin auf eine Metallelektrode aufgedampft wurde [163–166]. Bei beiden Verfahren der Energieumwandlung bestand jedoch das Problem, dass die Konversionseffizienz niemals die 1%-Marke überstieg. Als Alternative wurde dann die elektrochemische Zelle (Grätzel-Zelle) entwickelt [20]. Bei ihr wurden hohe Effizienzen durch die Verwendung von nanometergroßen Halbleitern in Kombination mit sensibilisierenden Farbstoffen erreicht [131, 134, 167].

Merocyanin war einer der ersten organischen „Sensitizer“ ($\hat{=}$ Sensibilisator), gewann aber schnell auch in anderen Anwendungsgebieten als der Photographie an Bedeutung. Aufgrund ihrer starken Ladungsasymmetrie zeigen Merocyanine eine große Hyperpolarisierbarkeit. Diese kann in der nichtlinearen Optik ausgenutzt werden [168]. Die große Änderung des Dipolmoments bei Photoanregung führt außer-

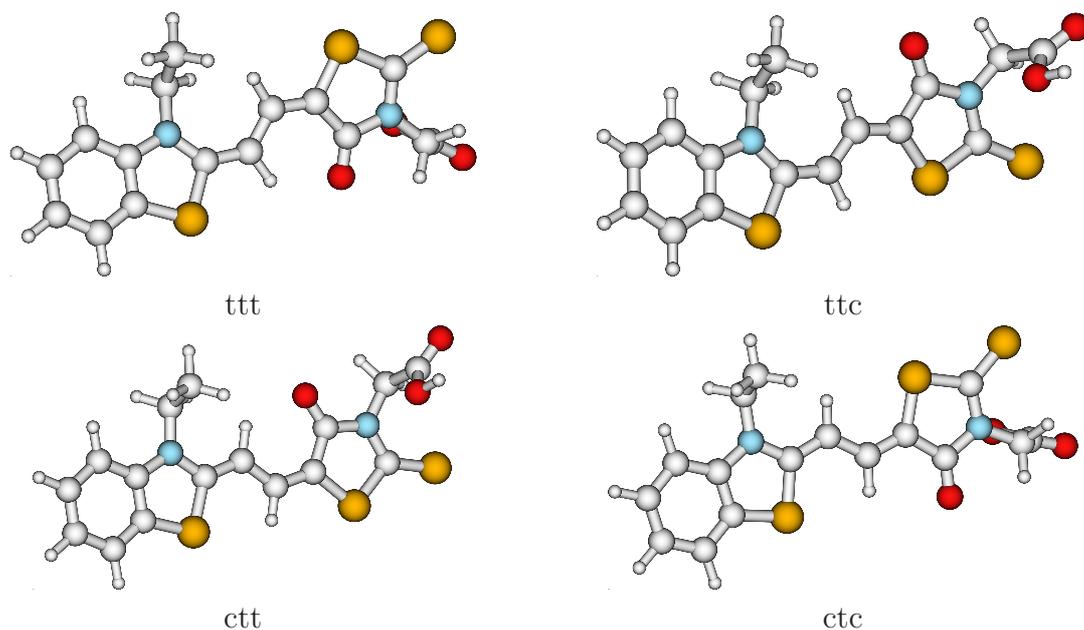


Abbildung 4.6: Die vier energetisch niedrigsten Isomere des MC2HW benannt nach der Konformation der Polymethinkette. Die Strukturen wurden von I. Kondov zur Verfügung gestellt [157].

dem zu einer starken Abhängigkeit der Absorptionseigenschaften vom Lösungsmittel. Aufgrund dieser Eigenschaft werden Merocyanine als Indikator für deren Polarisierbarkeiten oder als Marker in der Neurophysiologie verwendet [169–171].

Die chemischen Strukturen der hier verwendeten Merocyanine sind in Abbildung 4.5 gegeben. Es handelt sich bei beiden hier untersuchten Farbstoffen um Merocyanin 2 (3-acetyl-5-(2-(3-ethyl-2-benzothiazolidinyli- den)ethyliden)-rhodanin) bzw. ein Derivat davon.

Aus theoretischen Untersuchungen zur Struktur der Merocyanine ergibt sich, dass von acht möglichen planaren Isomeren des MC2HW nur vier sterisch erlaubt sind und ähnliche Grundzustandsenergien besitzen (Abbildung 4.6). Der Unterschied der Grundzustandsenergien beträgt weniger als 0,2 eV. Auch die freien Energien unterscheiden sich wenig (maximal um 0,4 kJ/mol) [157]. Aufgrund dieser Rechnungen kann man davon ausgehen, dass in Lösung bei Raumtemperatur alle Isomere vorhanden sein sollten. Die Rechnungen geben jedoch keine Auskunft darüber, wie hoch die energetischen Barrieren zwischen den einzelnen Isomeren sind. Es zeigt sich in Röntgenstreuungsexperimenten an Merocyaninkristallen, dass nur das ctc-Isomer vorliegt. Auch spektroskopische Untersuchungen im Nanosekundenbereich zeigen,

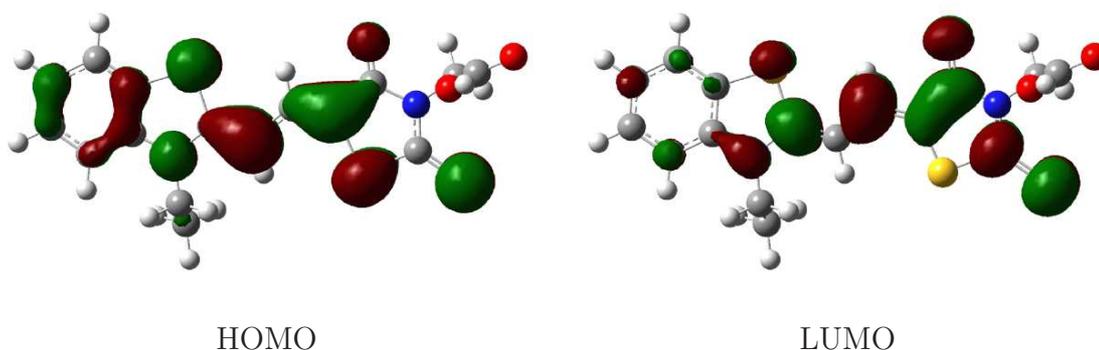


Abbildung 4.7: „**H**ighest **O**ccupied **M**olecular **O**rbital “ (*HOMO*) und „**L**owest **U**noccupied **M**olecular **O**rbital “ (*LUMO*) des stabilsten Isomers (*ctc*) von *MC2HW*.

dass im bei Raumtemperatur in Lösung nur ein Isomer auftritt [172]. Die hier erhaltenen Ergebnisse der Femtosekundenspektroskopie lassen sich ebenfalls trotz ihrer Komplexität unter der Annahme nur eines Isomers erklären. Damit liegt die Vermutung nahe, dass sowohl in Lösung als auch im Kristall nur das *ctc*-Isomer vorliegt. Der scheinbare Widerspruch zwischen Theorie und Experiment lässt sich ausräumen, wenn man berücksichtigt, dass sich aus den theoretischen Betrachtungen nur die Grundzustandsenergien ergeben. Hohe energetische Barrieren zwischen den einzelnen Isomeren können aber trotz annähernd gleicher Energien zur Bevorzugung eines einzelnen Isomers führen.

Molekülorbitale bei Photoanregung

Semiempirische Rechnungen (ZINDO-CI) haben gezeigt, dass es sich bei der dominanten Absorptionsbande des *MC2HW* um 520 nm um eine reine π - π^* -HOMO-LUMO-Anregung handelt [172]. Abbildung 4.7 zeigt die zugehörigen Orbitale. Die Umordnung der Orbitale entlang der Polymethinbrücke ist deutlich zu erkennen. Auch ein Ladungstransfer vom Benzothiazolring auf das Rhodanin wird deutlich. Zusätzlich zur Kohlenstoffkette im Zentrum des Moleküls sind bei der Anregung auch die Schwefelatome, sowie die Ketogruppe des Rhodaninrings erkennbar involviert. Carboxyl- und Ethylgruppen sind dagegen kaum beteiligt.

Obwohl erste theoretische Betrachtungen der Molekülorbitale bei Kopplung nahe legen, dass diese annähernd erhalten bleiben [157], können verschiedene experimentelle Ergebnisse mit einer Veränderung der Orbitale bei Bindung verstanden werden

	MC2HW bzw. MC2FE	MC2OG
Summenformel	$C_{16}H_{14}N_2O_3S_3$	$C_{21}H_{17}N_3O_6S_4$
Molekulargewicht	378,48 g/mol	535,66 g/mol
Absorptionsmaximum	520 nm	570 nm
Fluoreszenzmaximum	547 nm	597 nm

Tabelle 4.1: *Physikalische und chemische Daten der verwendeten Merocyanine.*

(siehe Abschnitt 4.5.2). Die theoretische Beschreibung des gekoppelten Systems erfolgte bis zum jetzigen Zeitpunkt mit einem einzelnen Ti-Atom zur Modellierung des Kolloids. Da sich für Alizarin-Halbleiter-Systeme zeigte, dass die Beschreibung der Eigenschaften des gekoppelten Systems stark von der Modellierung des TiO_2 -Kolloids abhängt [173], bleiben hier weitere Ergebnisse mit größeren Clustern zur Beschreibung des Halbleiters abzuwarten.

Eigenschaften der benutzten Merocyanine

MC2OG wurde in der Gruppe von J.E. Moser speziell für Untersuchungen des ET an Farbstoff-Halbleiter-Systemen synthetisiert. Im Gegensatz zum kommerziell erhältlichen Merocyaninfarbstoff MC2HW bzw. MC2FE besitzt MC2OG aufgrund des zusätzlichen Rhodaninrings eine um etwa 40 nm rotverschobene Absorptionsbande. Die Eigenschaft erleichtert eine spektroskopische Unterscheidung der verschiedenen Intermediate nach Photoanregung. Es liegt als violettes Pulver vor und kann in Methanol gelöst werden.

Merocyanin 2HW (Honeywell) bzw. Merocyanin 2FE (FEW Chemicals) wurde von den beiden Firmen zu Vergleichszwecken zur Verfügung gestellt. Es handelt sich um denselben Farbstoff verschiedener Hersteller, der Anwendung als Sensitizer findet. Auch dieser Farbstoff liegt als violettes Pulver vor und lässt sich gut in Methanol lösen.

Photophysik von Merocyanin

Wie bereits für verschiedene Merocyanine untersucht, u.a. auch für MC540 [174–176], existieren nach Photoanregung verschiedene Möglichkeiten die aufgenommene

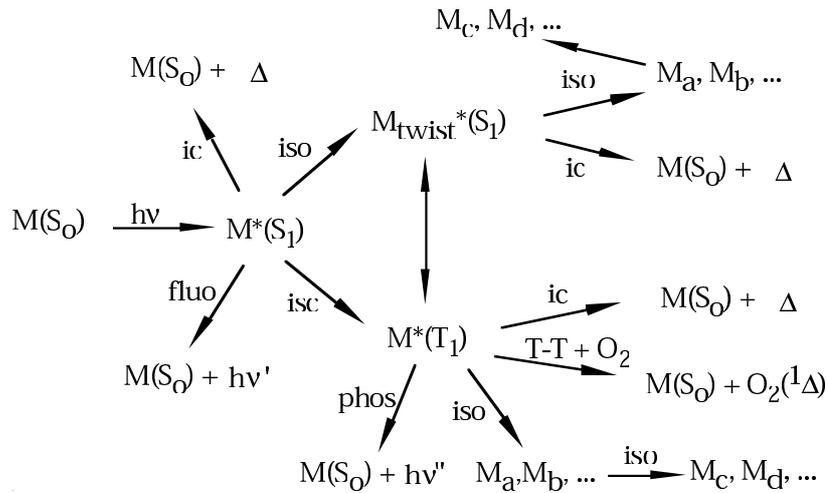


Abbildung 4.8: Mögliche Reaktionen nach Anregung von Merocyanin nach [172]. ic: interne Konversion, isc: Interkombination (ISC), iso: Isomerisierung, T-T: Triplett-Triplett-Energietransfer, fluo: Fluoreszenz, phos: Phosphoreszenz, Δ deutet freiwerdende Energie an und $O_2(^1\Delta)$ bezeichnet Singuletsauerstoff.

Energie abzugeben. Abbildung 4.8 zeigt einige der Deaktivierungskanäle. Deaktivierungskanäle via Aggregation, Deaggregation oder Oxidation sind nicht berücksichtigt. Für die freien Farbstoffe führen die konjugierten Doppelbindungen dazu, dass der Isomerisierung eine besondere Bedeutung zukommt. Neben der thermischen Deaktivierung ist der strahlende Übergang in den Grundzustand einer der wahrscheinlichsten Prozesse [172].

Für die hier betrachteten Merocyanine wurden die Untersuchungen hauptsächlich von F. Nüesch und dessen Kollegen durchgeführt [172,177]. Dabei wurden nicht nur die Merocyanine in Lösung betrachtet, sondern ebenfalls die Situation für an TiO_2 -Halbleiter gekoppelte Farbstoffe. Im Gegensatz zu den hier vorgestellten Untersuchungen wurden auf Oberflächen gesinterte Nanopartikel mit absorbierten Farbstoffen verwendet.

Bisherige Untersuchungen zur Reaktionsdynamik wurden vornehmlich mittels Nanosekundenmessungen durchgeführt. Dabei konnten verschiedene Intermediate nach Anregung identifiziert und charakterisiert werden (siehe Abbildung 4.9). Nach dem Besetzen des ersten angeregten Zustandes S_1 ($\hat{=}$ $M^*(S_1)$ in [172]) existieren für den freien Farbstoff in Lösung prinzipiell zwei Reaktionskanäle. Es kann zum einen zu einer Besetzung eines tiefliegenden Triplettzustandes T_1 ($\hat{=}$ $M^*(T_1)$) kommen.

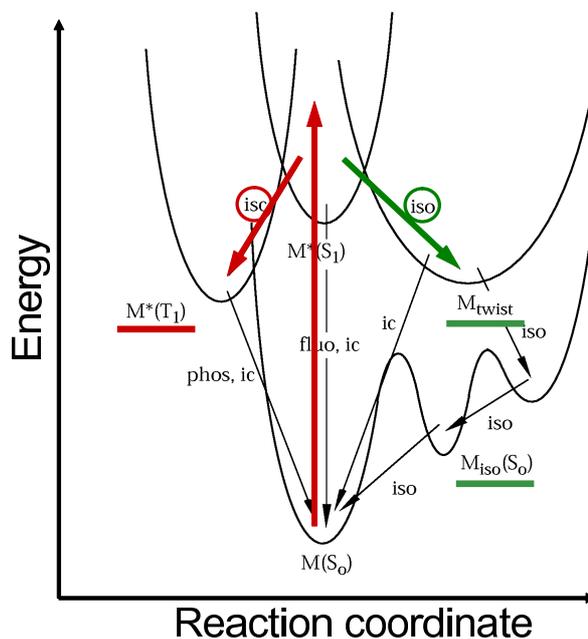


Abbildung 4.9: Reaktionsmodell nach Photoanregung von Merocyanin nach [172].

Die Zeitkonstante der Besetzung liegt dabei unterhalb der von Nüesch erreichbaren Zeitauflösung von etwa 150 ns. Spektral ist dieser Triplettzustand deutlich anhand einer gestiegenen Absorption im Bereich um 700 nm zu erkennen. Mittels eines typischen Triplettquencher konnte dieses Signal signifikant unterdrückt und eindeutig dem Triplett zugeordnet werden.

Zum anderen können die Merocyaninfarbstoffe dank ihrer konjugierten Polymethinketten im Zentrum des Moleküls isomerisieren (M_{twist}). Auch die Isomerisierung konnte von Nüesch beobachtet, jedoch zeitlich nicht aufgelöst werden. Zu beobachten war weiterhin eine Veränderung der spektralen Signatur im Zeitbereich einiger Mikrosekunden des isomerisierten bzw. zunächst vermutlich nur verdrehten Zustandes, sodass von Nüesch und dessen Kollegen das in Abbildung 4.9 gezeigte Reaktionsmodell nach Photoanregung entwickelt wurde. Ein verdrehtes und kurzlebige Intermediat wurde auch schon für MC540 beobachtet [175]. Das verdrehte bzw. isomerisierte Intermediat absorbiert bei einer Wellenlänge um 540 nm für MC2HW und bei einer Wellenlänge um 590 nm für MC2OG. Durch Vergleich mit einem Merocyanin in dem keine Isomerisierung der Polymethinkette stattfinden kann, konnte die Bande um 540 nm bzw. 590 nm dem verdrehten Intermediat zugeordnet werden.

Die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_f konnte für MC2HW von F. Nüesch durch Vergleich mit Acridin-Gelb [178] bestimmt werden. Es ergibt sich ein Wert von $\Phi_f = 2,5 \cdot 10^{-3}$. Unter Ausnutzung der Strickler-Berg-Beziehung (siehe Abschnitt 3.4) kann die strahlende Lebensdauer aus den Absorptions- und Emissionsspektren zu $\tau_0 = 3,65$ ns errechnet werden. Dieser Wert stimmt gut mit der strahlenden Lebensdauer des verwandten Merocyanin MC540 von 2 ns überein [175]. Durch Benutzung von Gleichung 3.1 kann daraus die natürliche Lebensdauer mit $\tau_0 = 9,1$ ps ermittelt werden. Der Grund für die niedrige Fluoreszenzquantenausbeute sowie für die kurze natürliche Lebensdauer liegt in den bereits erwähnten strahlungslosen Deaktivierungskanälen.

4.2.3 Titandioxidkolloide

Die verwendeten Titandioxidkolloidlösungen wurden von J.E. Moser zur Verfügung gestellt. Die genauen Parameter sind in Tabelle 4.2 gegeben. Die auf einem Hydrolyseprozess von TiCl_4 und anschließendem Dialysieren beruhende Herstellung wurde von Moser *et al.* in Ref. [179] beschrieben. Es konnte mittels TEM („transmissions electron microscopy“) gezeigt werden, dass weitgehend kugelförmige Kolloide mit einem Durchmesser von ca. 10 nm vorliegen.

Titandioxid kann in verschiedenen Kristallformen (Anatas, Rutil und Brookit) auftreten [180]. Aus TEM-Aufnahmen ist aber ersichtlich, dass der innere Bereich der Kolloide ein wohldefiniertes Kristallgitter mit einer Anatas-Struktur besitzt [181]. Damit ist die Annahme eines Leitungsbandes wie im Fall eines Festkörpers durch-

Kristallstruktur	Anatas
Molmasse	79,890 g/mol
Dichte	3,895 g/cm ⁻³
Konzentration TiO_2	10 g/l
Lösungsmittel	MeOH
pH-Wert	2,3
Radius der Kolloide	5 nm

Tabelle 4.2: Daten der verwendeten TiO_2 -Lösungen

aus gerechtfertigt und muss erst bei deutlich kleineren Teilchengrößen aufgegeben werden. Die Oberfläche des Titandioxids besitzt eine bis zu einem gewissen Grad undefinierte Struktur, folgt aber den durch die Kristallstruktur vorgegebenen Facetten.

Da die Kolloide bei neutralem bis basischem pH-Wert aggregieren, werden sie in saurer Umgebung aufbewahrt und verwendet (pH 2,3). Der niedrige pH-Wert führt zu einer Protonierung der Oberfläche, was die Aggregation der Nanopartikel verhindert. Als Lösungsmittel kam zunächst Wasser zum Einsatz. Da dies jedoch zu einer Aggregation der gekoppelten Farbstoffe führte (siehe Abschnitt 4.3.2) wurden stattdessen in Methanol gelöste Kolloide verwendet.

4.2.4 Kopplung der Farbstoffe

Die Adsorption der Farbstoffe an der Oberfläche der Kolloide erfolgt über so genannte Ankergruppen. Für Merocyanine erfolgt die Kopplung vermutlich über die Carboxylgruppe. Es sind verschiedene Arten der Kopplung denkbar wie Esterbildung, Chelatbildung, die Ausbildung von Wasserstoffbrücken oder auch andere Brückenbindungstypen (siehe Abbildung 4.10). Die Bindung kann zu einem oder mehreren Titanatomen erfolgen.

Die genaue Art der Kopplung von Carboxylgruppen in unterschiedlichen Molekülen ist Gegenstand aktueller Untersuchungen [182–186]. Experimentell wie auch theoretisch konnte gezeigt werden, dass es sogar zu verschiedenen Bindungstypen innerhalb desselben Moleküls kommen kann. Da es selbst bei sehr ähnlichen Molekülen zu einer starken Änderung des Bindungscharakters kommen kann, muss die

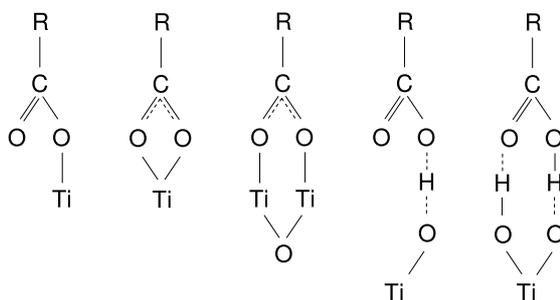


Abbildung 4.10: Mögliche Bindungen zwischen einer Carboxylgruppe und der Oberfläche von Halbleiteroxiden. Von links nach rechts: Esterbildung, Chelatbildung, Brückenbindung und unterschiedliche Wasserstoffbrückenbindungen.

Konzentration Stammlösung Merocyanin (in MeOH)	500 μM bzw. 1 mM
Konzentration Merocyanin (gekoppelt)	200 μM
Konzentration TiO_2 (gekoppelt)	10 g/l
Radius eines Kolloids	5 nm
Volumen eines Kolloids	523,6 nm ³
Masse eines Kolloids	$2 \cdot 10^{-18}$ g
Anzahl Kolloide pro Volumen	$4,9 \cdot 10^{18} \text{ l}^{-1}$
\Rightarrow Anzahl der Farbstoffmoleküle pro Kolloid	≈ 20

Tabelle 4.3: Daten der verwendeten Farbstoffe und Kolloide

genaue Art der Bindung für jedes System einzeln bestimmt werden. Sind innerhalb eines Moleküls mehrere Ankergruppen vorhanden, kann nicht davon ausgegangen werden, dass alle an der Bindung zum Halbleiter teilnehmen. Es gestaltet sich daher als schwierig von einem System auf ein ähnliches zu schließen.

Für Merocyanine konnte die genaue Art der Bindung bisher noch nicht abschließend geklärt werden. Für das MC2OG mit zwei möglichen Bindungsstellen liegt vermutlich sogar eine Mischung verschiedener Bindungsformen vor. Abbildung 4.11 gibt eine prinzipielle Darstellung einer Elektroneninjektion unter der Annahme einer Bindung über eine Carboxylgruppe.

Um die gekoppelten Systeme herzustellen, wurden die Farbstoffe zunächst in Methanol gelöst (siehe Tabelle 4.3). Diese Stammlösung wurde dann unter Rühren der kolloidalen Lösung beigemischt. Die Adsorption geht mit einer beobachtbaren Farbänderung von rot zu einem weniger intensiven rot bei MC2HW und von lila zu blau bei MC2OG einher (siehe Abbildung 4.12). Auch eine aufgrund der Elektroneninjektion unterdrückte Fluoreszenz (siehe Abschnitt 4.3) zeigt die Kopplung an. Mit den benutzten Konzentrationen sowie den Parametern aus Tabelle 4.3 ergibt sich, dass pro Kolloid etwa 20 Farbstoffmoleküle gebunden sind.

Da die Löslichkeit der Farbstoffe in wässriger Umgebung geringer als in Alkoholen ist und damit das chemische Gleichgewicht zwischen gebundenen und ungebundenen Farbstoffen deutlicher auf der Seite des gekoppelten Systems liegt, sollte zunächst mit Kolloiden in wässriger Lösung gearbeitet werden. Bei Konzentrationen oberhalb von $2,5 \mu\text{M}$ kommt es jedoch zur Aggregatbildung (siehe Abschnitt 4.3.2).

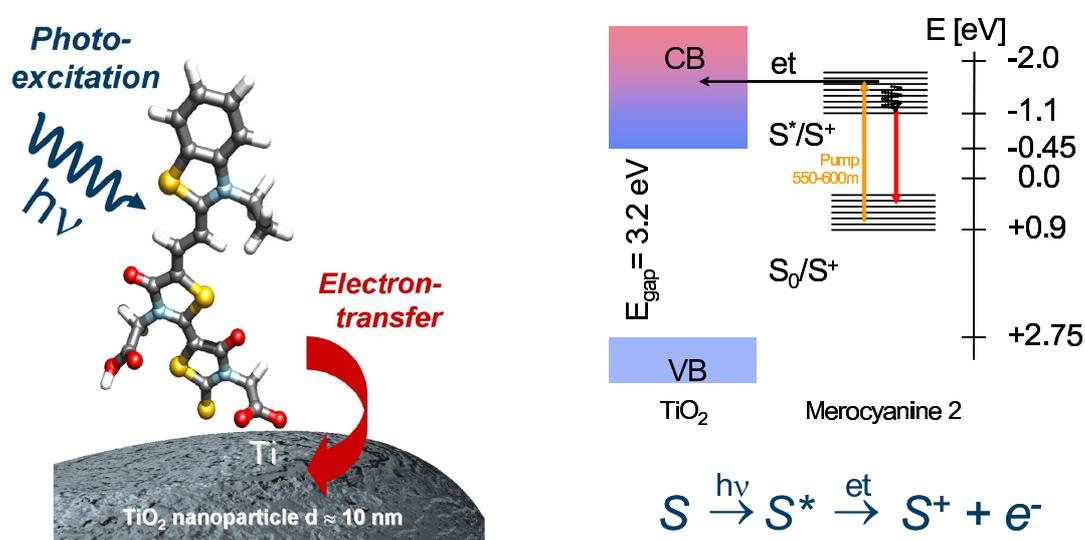


Abbildung 4.11: Prinzipskizze und energetisches Modell der Elektroneninjektion für MC2OG gekoppelt an TiO_2 . Der erste angeregte Zustand des Farbstoffes liegt energetisch oberhalb der Bandkante des Halbleiters, sodass ein Elektronentransfer möglich ist.

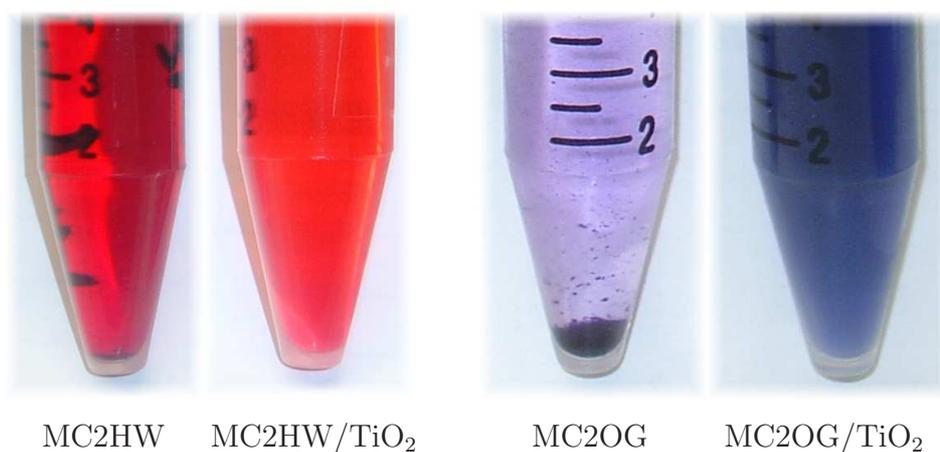


Abbildung 4.12: Farbbänderungen bei Kopplung von Merocyaninen an TiO_2 . Die Aufnahmen sind jeweils nach der Messung im Femtosekundenspektrometer entstanden. Der nicht vorhandene Bodensatz bei den gekoppelten Systemen zeigt die erhöhte Stabilität aufgrund des nicht besetzten Triplettzustandes (siehe Abschnitt 4.4).

Aus diesem Grund wurden die Farbstoffe an Kolloide in Methanol gekoppelt. Die benutzten Konzentrationen für die Messungen im Femtosekundspektrometer lagen bei $c = 10 \text{ g/l TiO}_2$ und $c = 200 \text{ } \mu\text{M Merocyanin}$ in Methanol (siehe auch Tabelle 4.3).

4.2.5 Elektronentransfer

Wie von Moser *et al.* gezeigt werden konnte [187], kommt es bei Kopplung eines Merocyaninfarbstoffes an TiO_2 nach Photoanregung zu einem Elektronentransfer vom Farbstoff in das Leitungsband des Halbleiters. Die energetische Situation, die diesem ET zugrunde liegt, ist in Abbildung 4.11 schematisch gezeigt.

Dabei liegt der erste angeregte Zustand des Farbstoffes oberhalb der Bandkante des Leitungsbandes des TiO_2 und es kann zu einer ET-Reaktion kommen. Die energetische Lage der Niveaus des Farbstoffs kann aus den Redox-Potentialen und aus dem Absorptionsspektrum bestimmt werden. Die Lage der Bandkante des TiO_2 kann durch Leitungsbandanregung und Messung des anschließenden Elektronentransfers in ein starkes Reduktionsmittel ermittelt werden [179, 188].

Durch Betrachtung der temperaturabhängigen Ladungsrekombination konnten in Ref. [187] die Matricelemente der elektronischen Kopplung für verschiedene Farbstoffe an TiO_2 -Halbleiterkolloide bestimmt werden. Die in diesem Artikel bestimmten absoluten Werte sind aufgrund der Annahme eines homogenen adiabatischen ET stark fehlerbehaftet, können jedoch miteinander verglichen werden. Es ergibt sich, dass die Kopplung für Alizarin- TiO_2 -Systeme stärker als für die hier untersuchten Merocyanin- TiO_2 -Systeme ist und dass die Kopplung für Cumarin-Halbleiter-Systeme schwächer als für die hier betrachteten Systeme ist.

$$|V_{Alizarin}|^2 > |V_{Merocyanin}|^2 > |V_{Cumarin}|^2 \quad (4.9)$$

Da die elektronische Kopplung direkt die Elektronentransferrate beeinflusst (siehe Abschnitt 4.2.1) sollte für die Elektroneninjektionszeiten τ_{ET} dieser drei Farbstoff-Halbleiter-Systeme gelten:

$$\tau_{ET \text{ Alizarin}} < \tau_{ET \text{ Merocyanin}} < \tau_{ET \text{ Cumarin}} \quad (4.10)$$

4.3 Experimentelles

4.3.1 Statische Charakterisierung

Der zeitaufgelösten Charakterisierung der Dynamik nach Photoanregung soll zunächst eine statische Beschreibung der untersuchten Systeme durch Absorptions- und Fluoreszenzmessungen vorangestellt werden.

In Abbildung 4.13 sind die Absorptions- und Fluoreszenzspektren für die beiden Merocyaninfarbstoffe in Methanol gezeigt. Deutlich zu erkennen ist die Rotverschiebung um 40 nm aufgrund des zusätzlichen Rhodaninrings für das MC2OG. Weiterhin lässt sich bei beiden Proben ein ausgeprägter Stokes-Shift erkennen. Im Fall von MC2HW beträgt er 0,1 eV für MC2OG 0,14 eV. Auf der blauen Seite des Absorptionsbandes ist deutlich eine Schulter zu erkennen. Aggregation als Grund für diese Schulter konnte ausgeschlossen werden, da sie weder eine Konzentrationsabhängigkeit zeigte noch bei hohen Temperaturen verschwand [172]. Verschiedene Isomere konnten als Grund für das Auftreten der Schulter ebenfalls ausgeschlossen werden, sodass diese als Teil einer Schwingungsprogression angesehen werden kann. Die Spektren für beide Systeme sind sehr ähnlich. Daraus kann gefolgert werden, dass der zusätzliche Rhodaninring nur eine Rotverschiebung der Absorption bewirkt, sonstige Eigenschaften aber weitgehend unbeeinflusst lässt.

Koppelt man die verschiedenen Merocyanine an den Halbleiter, wird bei Vermeidung der Aggregation (s.u.) lediglich eine Verschiebung des Hauptmaximums beobachtet. Tabelle 4.4 enthält die jeweiligen Absorptions- und Fluoreszenzmaxima

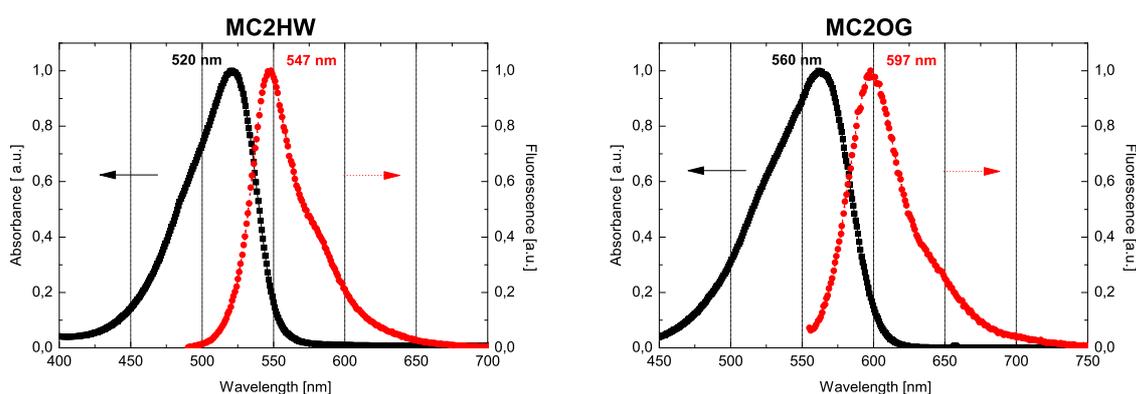


Abbildung 4.13: Normierte Absorptions- und Fluoreszenzspektren von MC2HW und MC2OG in Methanol. Anregungswellenlängen: 480 nm (MC2HW), 550 nm (MC2OG).

	Absorptions- maximum λ_{max} [nm]	Fluoreszenz- maximum λ_{max} [nm]	Stokes- Shift [eV]
MC2HW in MeOH	520	547	0,1
MC2HW/TiO ₂ in MeOH	530	547	0,07
MC2OG in MeOH	560	597	0,14
MC2OG/TiO ₂ in MeOH	575	602	0,1

Tabelle 4.4: Zusammenfassung der spektroskopischen Eigenschaften der untersuchten Proben.

für verschiedene gekoppelte und ungekoppelte Systeme. Das Absorptionsmaximum verändert sich bei Bindung um etwa 10 bzw. 15 nm. Diese Verschiebung entsteht als Folge der elektronischen Kopplung zwischen Molekül und Kolloid und wird als Maß für die elektronische Kopplungsstärke angesehen. Bei Kopplung von Alizarin an TiO₂-Kolloide über zwei Sauerstoffe ehemaliger Hydroxygruppen ergibt sich aufgrund der starken Wechselwirkung (siehe Abschnitt 4.2.5) eine Verschiebung von 70 nm, sodass für Merocyanin-Halbleiter-Systeme von einer schwachen Kopplung ausgegangen werden kann.

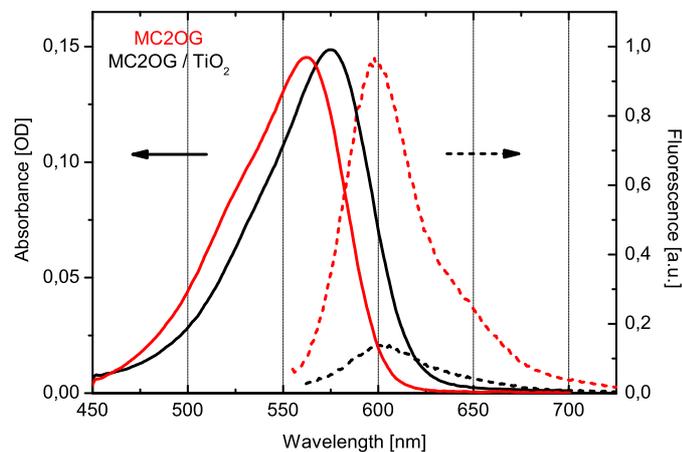


Abbildung 4.14: Absorptions- und Fluoreszenzspektren von MC2OG pur (rot) und gekoppelt an TiO₂ (schwarz) in MeOH. Die Verschiebung des Absorptionsmaximums sowie die unterdrückte Fluoreszenz bei Kopplung aufgrund der schnellen Elektronentransferreaktion sind klar zu erkennen. Die Anregung zur Messung der Fluoreszenz erfolgte bei 550 nm.

Eine weitere Charakterisierung kann durch Fluoreszenzmessungen der gekoppelten und ungekoppelten Systeme erfolgen (Abbildung 4.14). Gezeigt sind neben den Fluoreszenzspektren für pures MC2OG in MeOH und MC2OG/TiO₂ in MeOH auch noch die zugehörigen Absorptionsspektren. Für beide Systeme ist ein ausgeprägtes Fluoreszenzmaximum zu erkennen, das jedoch deutlich geringer für das gekoppelte System ist. Das Maximum der Fluoreszenz liegt bei 597 nm (MC2OG) bzw. bei 602 nm (MC2OG/TiO₂). Obwohl die Absorptionsspektren sehr ähnlich sind, ist die Signalhöhe der Fluoreszenz unterschiedlich. Da die Messparameter identisch waren, ist die integrierte gemessene Fluoreszenz proportional zur Quantenausbeute und es ergibt sich eine etwa sechsfach kleinere Quantenausbeute für das gekoppelte System. Diese verringerte Fluoreszenz kann auf eine Elektroneninjektion vom Farbstoff in das Kolloid zurückgeführt werden. Nach der Photoanregung wird aufgrund des schnellen ET der erste angeregte Zustand des Merocyanins schnell entvölkert und das Molekül kann nicht mehr strahlend zerfallen. Der verbleibende Beitrag ist vermutlich freien Farbstoffmolekülen in Lösung zuzuordnen. Mit Methanol als Lösungsmittel und der guten Löslichkeit der freien Farbstoffe darin, liegt ein geringer Anteil ungekoppelt vor (siehe auch nächster Abschnitt).

Bei Variation der Anregungswellenlänge im Bereich des Hauptabsorptionsmaximums ergibt sich immer das in Abbildung 4.14 gezeigte Spektrum, dessen Intensität proportional zum Extinktionskoeffizienten der Absorption bei der entsprechenden Anregungswellenlänge ist. Es kann davon ausgegangen werden, dass das Hauptabsorptionsmaximum von einem elektronischen Übergang stammt und sich nicht als Überlagerung mehrerer Übergänge ergibt.

4.3.2 Aggregation

Die untersuchten Merocyanine sind gut löslich in Methanol und Ethanol, allerdings kaum in Wasser. Bei Verwendung von Titandioxidkolloiden in wässriger Lösung zur Bildung der Farbstoff-Halbleiter-Komplexe kann daher von einer vermehrten Bindung der Farbstoffe ausgegangen werden. Das chemische Gleichgewicht befindet sich klar auf der Seite des gebundenen Systems. Die spektroskopischen Untersuchungen sollten zunächst in diesem Medium stattfinden. Die Merocyanine wurden dazu in Methanol bzw. Ethanol so gelöst, dass sich nach Zugabe zur Kolloidlösung ein Wasser/Ethanol-Verhältnis von 4:1 ergab. Wie Abbildung 4.15 zeigt, kommt es

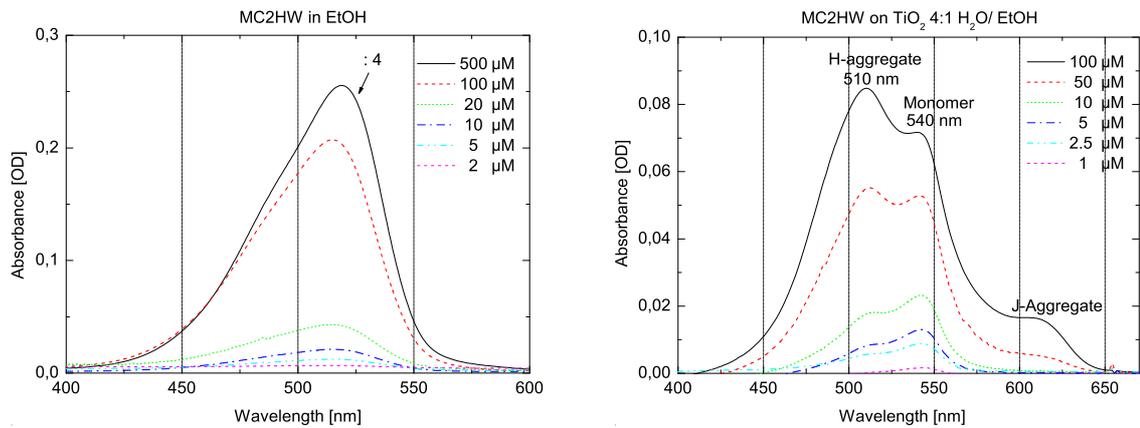


Abbildung 4.15: Konzentrationsabhängigkeit der Absorption für MC2HW in EtOH (links) sowie für MC2HW gekoppelt an TiO₂ in einem 4:1 H₂O/EtOH-Gemisch (rechts). Deutlich zu erkennen ist die Bildung von blauverschobenen H- und rotverschobenen J-Aggregaten für das gekoppelte System.

dabei schon ab Konzentrationen von 2,5 µM zur Bildung von Aggregaten.

Für Konzentrationen kurz oberhalb von 1 µM bilden sich zunächst H-Aggregate (blauverschoben, „hypsochrom“, bei etwa 510 nm), bei denen eine Stapelung der Farbstoffe senkrecht zur Oberfläche des Halbleiters auftritt (Abbildung 4.16 links). Mit zunehmender Farbstoffkonzentration bilden sich auch J-Aggregate (nach Jelly, einem der Entdecker, Absorption um 610 nm, Abbildung 4.16 rechts). Bei diesem Aggregattyp binden die Merocyanine über die Carboxylgruppe an den Halbleiter, stehen annähernd senkrecht auf der Oberfläche und bilden zweidimensionale Strukturen („Arrays“) aus [172].

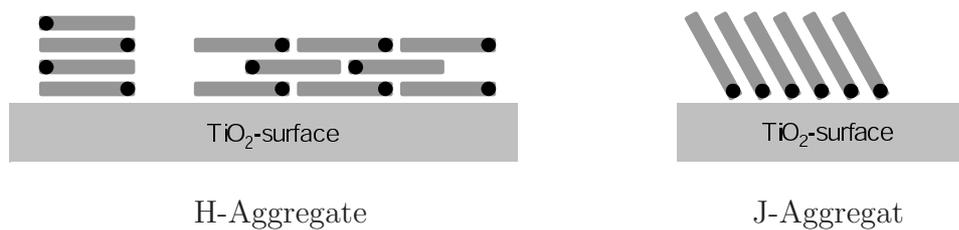


Abbildung 4.16: Darstellung verschiedener Aggregattypen bei Kopplung von Merocyaninen an Titandioxid. Der Punkt repräsentiert die Carboxylgruppe. Links: Verschiedene H-Aggregate Rechts: J-Aggregat

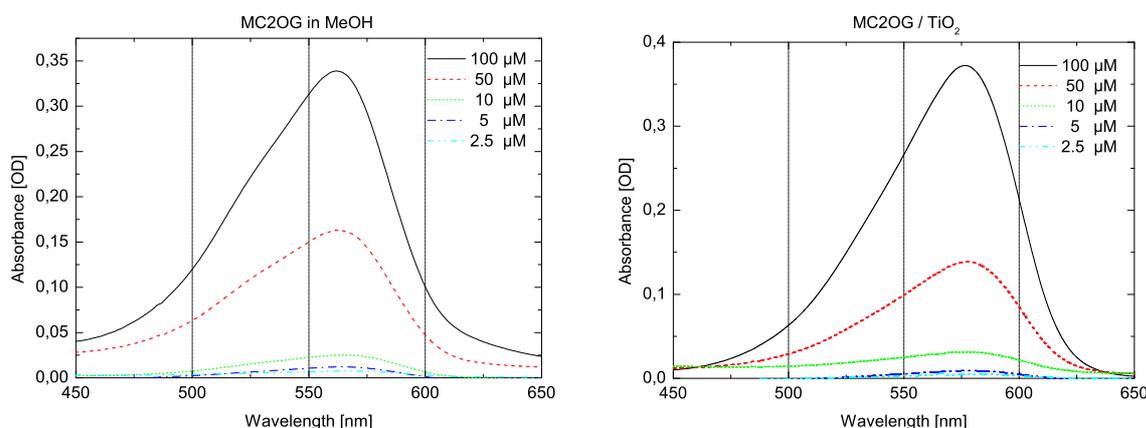


Abbildung 4.17: Konzentrationsabhängigkeit der Absorption für pures MC2OG (links) sowie für an TiO₂ gekoppeltes MC2OG in MeOH (rechts). Im Gegensatz zu wässriger Umgebung (Abbildung 4.15) kommt es nicht zur Bildung von Aggregaten.

Obwohl die Ausbildung von Aggregaten und die damit spektral breitere Absorption im sichtbaren Bereich u.U. wünschenswert für die Konstruktion einer möglichst effizienten Solarzelle ist, ist dieser Effekt für die Untersuchung des fundamentalen Elektronentransferprozesses hinderlich. Es kommt sowohl zu Energie- als auch zu Elektronentransfer zwischen Monomeren und Aggregaten sowie zur Elektroneninjektion aus den aggregierten Teilchen in den Halbleiter [172]. Daher muss die Bildung von Aggregaten vermieden werden. Dies konnte durch einen Wechsel des Lösungsmittels erreicht werden. Liegen sowohl die Kolloide als auch die gelösten Farbstoffe in Methanol vor, so zeigt sich auch bei Konzentrationen deutlich oberhalb von 2,5 μM keine Aggregation (siehe Abbildung 4.17). Eine für die zeitaufgelösten Messungen geeignete optische Dichte bzw. Konzentration kann problemlos unter Beibehaltung von Monomeren eingestellt werden. Das Gleichgewicht zwischen gekoppelten und ungekoppelten Farbstoffen liegt für Methanol weiter auf der Seite der freien Farbstoffe als bei Wasser als Lösungsmittel. Die unterdrückte Fluoreszenz (siehe vorhergehender Abschnitt) zeigt aber die Kopplung der Mehrzahl der Moleküle deutlich an.

4.4 Merocyanin in Lösung, Isomerisierung und Triplettbildung

In den folgenden Abschnitten soll zunächst die Reaktionsdynamik der reinen Farbstoffe in Lösung anhand der Femtosekundenmessungen diskutiert werden. Im Anschluss daran erfolgt die Vorstellung und Diskussion der Dynamik der gekoppelten Systeme in Abschnitt 4.5.

4.4.1 Transiente Charakterisierung

Merocyanin 2 HW

Abbildung 4.18 gibt einen ersten Überblick über die Dynamik von MC2HW nach Photoanregung. Zu beachten ist, dass in sämtlichen Darstellungen der transienten Absorptionsänderungen der Bereich bis zu einer Pikosekunde linear aufgetragen ist, während für längere Verzögerungszeiten eine logarithmische Darstellung der Zeitach-

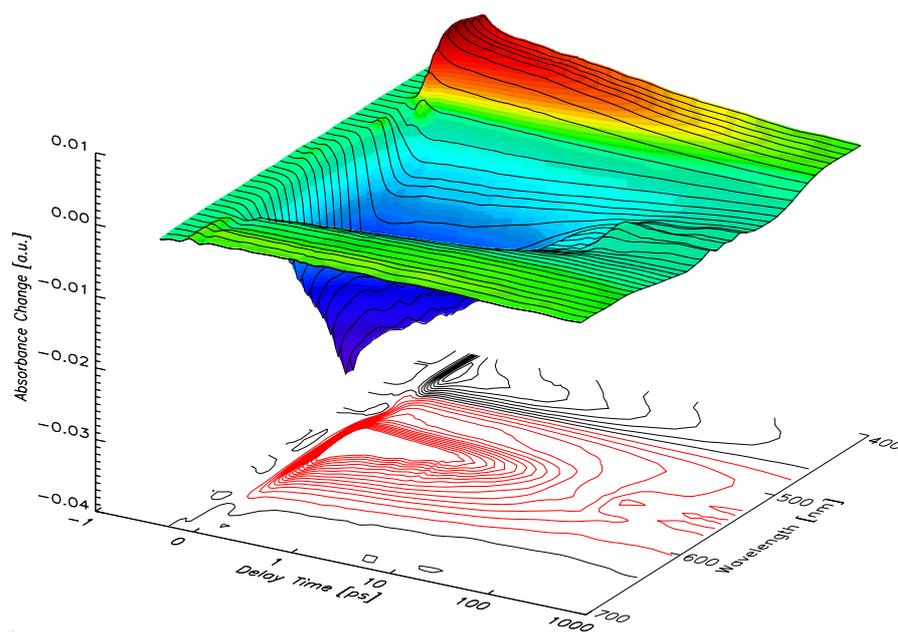


Abbildung 4.18: Transiente Absorptionsänderungen von MC2HW nach Photoanregung bei 555 nm. Rot entspricht positiver Absorptionsänderung und blau negativer.

se gewählt wurde. Gezeigt ist in den dreidimensionalen Darstellungen die Absorptionsänderung als Funktion der Wellenlänge sowie der Verzögerungszeit.

Für den Farbstoff lassen sich sowohl Bereiche positiver als auch negativer Absorptionsänderung erkennen. Der positive Bereich liegt unterhalb von etwa 470 nm und kann der Absorption des ersten angeregten Zustandes (ESA = „excited state absorption“) zugeschrieben werden. Oberhalb einer Wellenlänge von 470 nm lässt sich ein negatives Signal erkennen. Dieses kann um 560 nm dem Grundzustandsausbleichen (GSB = „ground state bleach“) und rotverschoben davon der Fluoreszenz zugeordnet werden. Zu langen Verzögerungszeiten bildet sich außerdem im Bereich um die Anregungswellenlänge bei etwa 570 nm ein positives Signal auf dem Untergrund des Grundzustandsausbleichen heraus.

Zur genaueren Analyse sind in Abbildung 4.19 transiente Absorptionsänderungen für ausgewählte Wellenlängen (im Folgenden kurz „Transienten“ genannt) des freien Merocyanin 2 HW in Lösung gezeigt. Deutlich ist eine instantane Absorptionszunahme bzw. -abnahme bei allen drei gezeigten Messkurven zu erkennen. Es lässt sich ein ähnlicher, allerdings nicht identischer zeitlicher Verlauf für alle drei Wellenlängen beobachten. Nach Photoanregung kommt es zunächst zu einer Veränderung auf der Zeitskala weniger 100 Femtosekunden, gefolgt von Veränderungen innerhalb von 10 bis 100 Pikosekunden. Eine genaue Zuordnung der beobachteten Effekte kann anhand transienter Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten erfolgen (Abbildung 4.20). Gezeigt sind Spektren zwischen 1 Pikosekunde und 1 Nanosekunde. Zu kurzen Zeiten lassen sich verschiedene Bereiche erkennen. Unterhalb von 470 nm kommt es im Beobachtungszeitraum zunächst zu einer instantanen Zunahme der Absorption, gefolgt von einem langsameren Zerfall. Oberhalb dieser Wellenlänge ist der Zerfall der ursprünglichen negativen Absorptionsänderung zu beobachten. Das anfängliche Signal ist dabei nicht gaußförmig, wie man es für ein einfaches Ausbleichen des Grundzustands erwarten würde, sondern zeigt eine ausgeprägte Struktur. Die Änderung ist um die Anregungswellenlänge von 555 nm herum am stärksten. Blauverschoben erkennt man eine deutliche Schulter, die in der gleichen Zeit zerfällt wie das Maximum. Rotverschoben findet sich eine weniger ausgeprägte Schulter. Zu längeren Zeiten entwickelt sich um 550 nm auf dem breiten negativen Untergrund eine weitere spektrale Signatur, die bis zum Ende der Beobachtungsdauer bestehen bleibt.

Abbildung 4.19: *Transiente Absorptionsänderung für ausgewählte Wellenlängen von ungekoppeltem MC2HW in MeOH.*

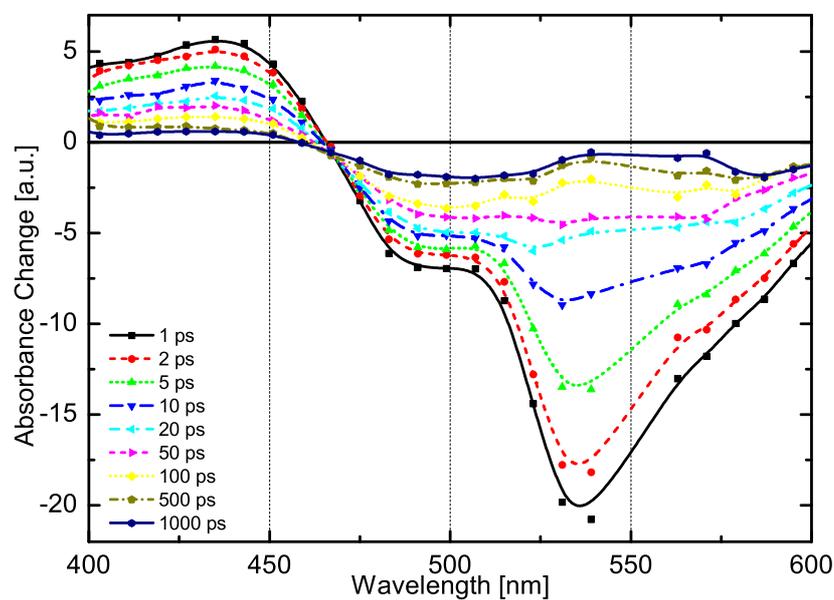
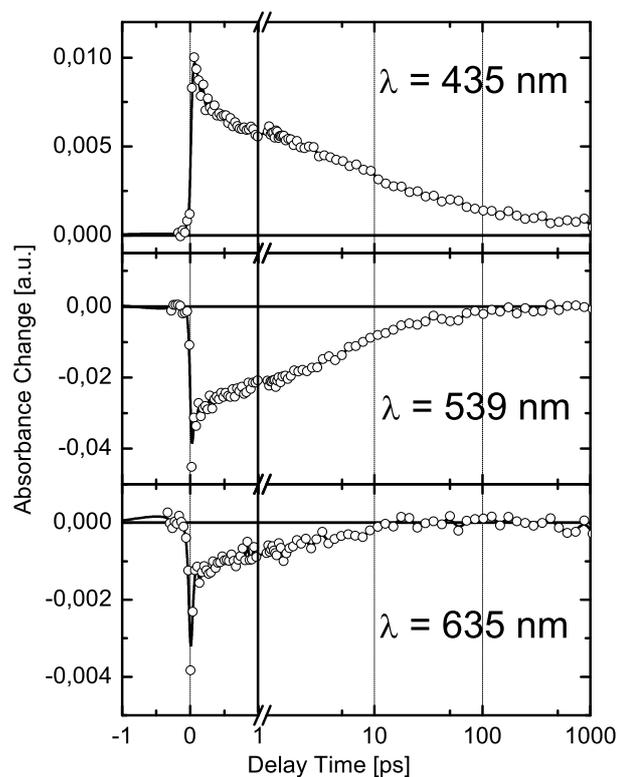


Abbildung 4.20: *Transiente Spektren von ungebundenem MC2HW in MeOH.*

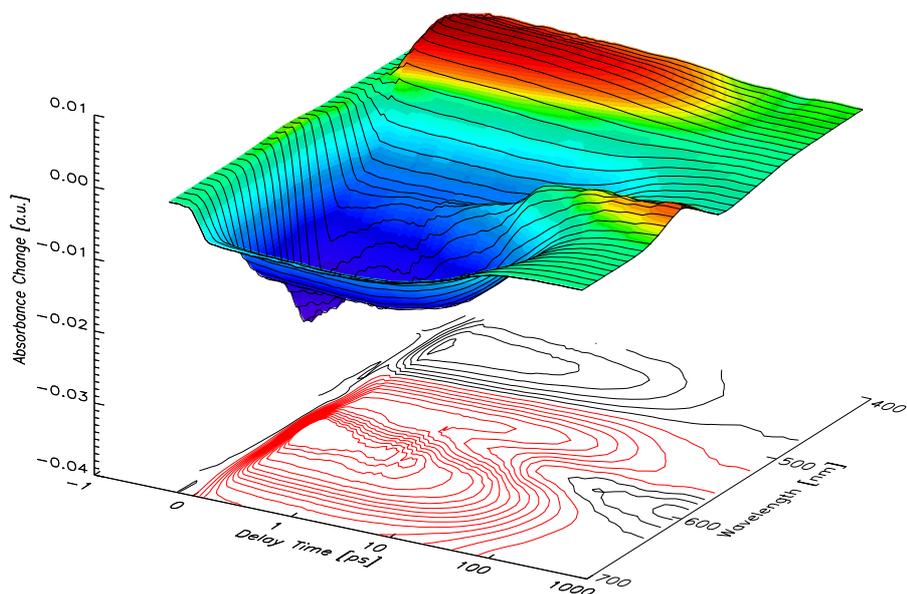


Abbildung 4.21: *Transiente Absorptionsänderungen von MC2OG nach Photoanregung bei 600 nm.*

Merocyanin 2 OG

Abbildung 4.21 gibt für MC2OG analog zu Abbildung 4.18 für MC2HW zunächst einen Überblick über die Kurzzeitdynamik des Farbstoffs nach Photoanregung innerhalb des Absorptionsmaximums bei 600 nm. Wie zu erwarten, lassen sich ähnliche spektrale Charakteristika erkennen. Sie sind jedoch aufgrund des zusätzlichen Rhodaninrings genau wie das Absorptionsmaximum rotverschoben. Eine positive Absorptionsänderung ist unterhalb von 500 nm zu erkennen, ein negatives Signal tritt für kurze Zeiten zwischen 500 nm und 700 nm auf. Zu längeren Verzögerungszeiten bildet sich ein deutlich sichtbares positives Signal um 590 nm heraus.

Zur genauen Untersuchung sind auch hier einzelne Transienten (Abbildung 4.22) sowie transiente Spektren (Abbildung 4.23) gezeigt. In den Transienten lassen sich die bereits oben erwähnten spektralen Charakteristika deutlicher erkennen. Die Absorption des ersten angeregten Zustands wird im Bereich unterhalb von etwa 500 nm durch nichts überlagert und zerfällt fast vollständig innerhalb des Beobachtungszeitraums (siehe auch Abbildung 4.22 links oben). Die Transiente bei 523 nm zeigt bis etwa 2 ps zunächst gleichbleibendes negatives Signal und zerfällt anschließend

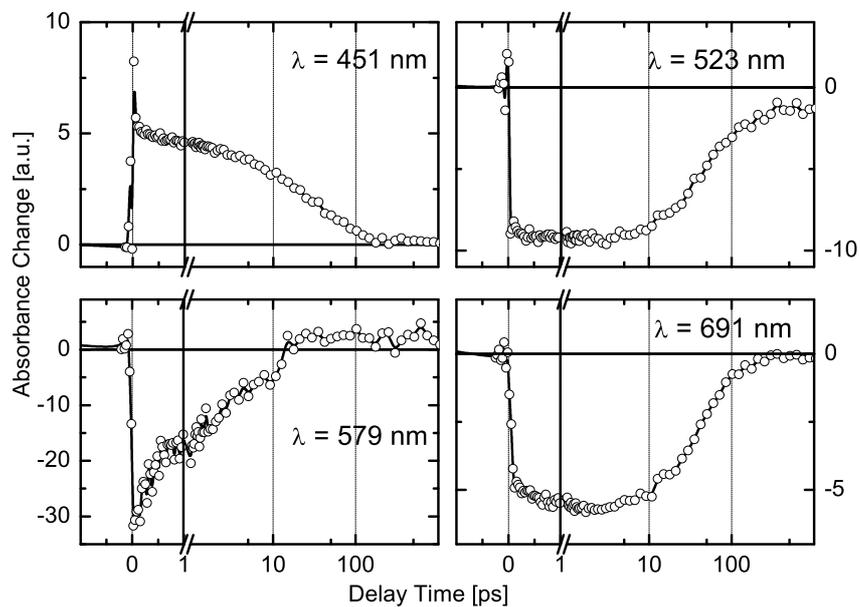


Abbildung 4.22: Transienten von freiem MC2OG in MeOH.

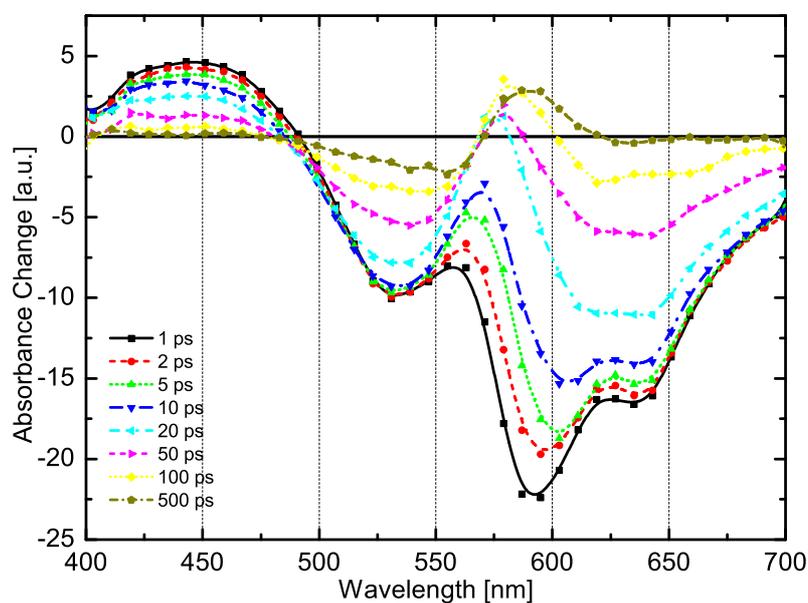


Abbildung 4.23: Transiente Spektren von freiem MC2OG in MeOH im Zeitbereich von 1 ps bis zu 1 ns. Deutlich zu erkennen ist die Absorption des angeregten Zustandes sowie das Ausbleichen des Grundzustandes.

innerhalb einiger 10 ps. Zu langen Verzögerungszeiten bleibt ein negativer Offset bestehen. Ähnliches Verhalten ist auch für den Bereich um 690 nm zu erkennen. Ein bis zu wenigen Pikosekunden konstantes Signal zerfällt danach innerhalb einiger 10 ps. Im Bereich des erwarteten Grundzustandsausbleichens um 580 nm zeigt sich direkt nach Photoanregung ein negativer Beitrag, der innerhalb von wenigen Pikosekunden zerfällt und nach etwa 15 ps sein Vorzeichen wechselt. Ein positiver Offset bleibt bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes bestehen. Die Merkmale, die in dieser Transiente erkennbar sind, zeigen sich in den transienten Spektren durch die schnelle Ausbildung eines Maximums innerhalb von 1 ps und einer Verschiebung dieses Maximums zu längeren Wellenlängen innerhalb 1 ns. Ähnlich wie bei MC2HW lassen sich bei MC2OG rot- und blauverschoben vom GSB Schultern finden, hier allerdings als deutlich ausgeprägte Minima bei 530 nm und 635 nm.

4.4.2 Diskussion Merocyanin in Lösung

Kombiniert man die transienten Daten mit den statischen Messungen, so lassen sich die spektralen Eigenschaften bestimmten Zuständen zuordnen und damit die Reaktionsdynamik innerhalb 1 ns nach Photoanregung erklären. Der positive Anteil unterhalb von 470 nm bzw. 500 nm kann für beide Merocyanine der Absorption des ersten angeregten Zustandes zugeordnet werden. Diese tritt spektral breit auf und das Maximum ist für MC2OG deutlich rotverschoben. Dieses verschobene Maximum entsteht, da sich GSB und ESA in diesem Bereich überlagern und der GSB für MC2OG bei deutlich längeren Wellenlängen auftritt.

Es zeigt sich keine negative Absorptionsänderung, die sich nur aus einem gaußförmigen Ausbleichen sowie eventueller stimulierter Emission zusammensetzt, sondern eine komplexere Struktur. Diese ist für beide Farbstoffe aus mindestens drei Beiträgen zusammengesetzt. Direkt um die jeweilige Anregungswellenlänge herum sieht man den größten Beitrag des GSB, der der fehlenden Absorption des entvölkerten Grundzustandes entspricht. Der GSB tritt nicht im Absorptionsmaximum auf, sondern leicht rotverschoben. Grund hierfür ist eine Anregung an der roten Flanke des jeweiligen Absorptionsmaximums. Der GSB ergibt sich als Faltung der statischen Absorption mit der Anregungswellenlänge.

Zu kleineren Energien hin lässt sich neben dem GSB für MC2HW eine Schulter und für MC2OG ein deutliches Minimum erkennen. Diese spektrale Signatur ist auf

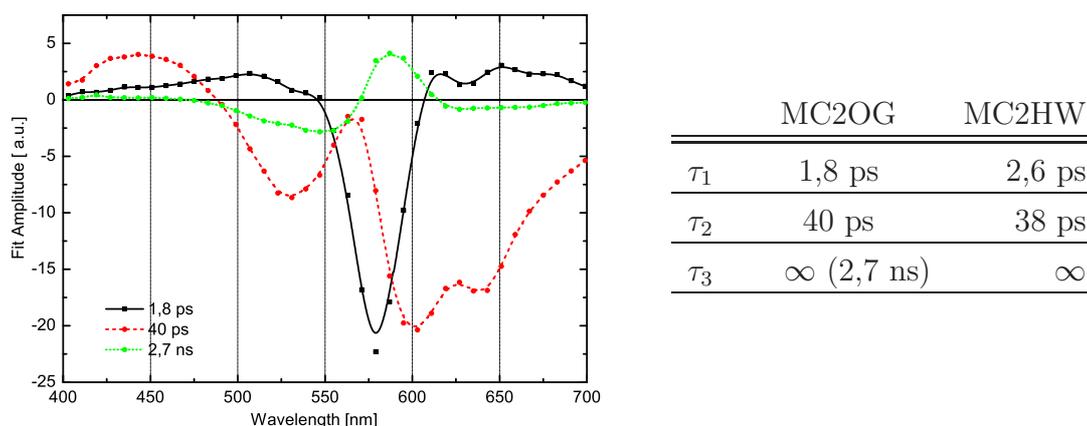


Abbildung 4.24: Zeitkonstanten des globalen Fits für die freien Farbstoffe in Lösung sowie Fitamplituden von MC2OG.

eine ausgeprägte stimulierte Emission zurückzuführen. Die blauverschobene Schulter korreliert sowohl für MC2OG als auch für MC2HW gut mit einer Schulter im statischen Absorptionsspektrum, sodass sie einem anderen vibronischen Übergang zugeschrieben werden kann.

Untersucht man die transienten Daten mittels SVD-Analyse in einem Bereich, indem das kohärente Artefakt keine Rolle mehr spielt ($\tau > 50$ fs), so zeigt sich für MC2OG, dass es drei signifikante Beiträge gibt. Auch beim Modellieren der Daten mittels globalem Fit (siehe Abschnitt 2.8) ist die Situation für MC2OG eindeutig und drei exponentielle Zerfälle sind ausreichend um die Daten adäquat zu beschreiben.

Für MC2HW lässt sich nicht eindeutig zuordnen, ob 3 oder 4 signifikante Singularwerte existieren. Eine Rekonstruktion mittels drei bzw. vier Singularwerten zeigt jedoch keine wesentlichen Unterschiede. Auch bei einer Modellierung der Daten mit drei oder vier Exponentialfunktionen sind keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen. In Analogie zu MC2OG und der Tatsache, dass sich alle Charakteristika der Messung bereits mit drei Zeitkonstanten beschreiben lassen, ist daher diese Anzahl von Exponentialfunktionen gerechtfertigt. Der Grund für die weniger eindeutige Situation liegt zum einen in einem niedrigeren Signal-zu-Rausch-Verhältnis, zum anderen daran, dass sich die spektralen Signaturen stärker überlagern.

Die sich aus den Fits ergebenden Amplitudenspektren der exponentiellen Zerfälle bzw. Anstiege sind exemplarisch für MC2OG in Abbildung 4.24 gegeben. Die Zerfallskonstanten für beide Farbstoffe lassen sich in der Tabelle daneben finden.

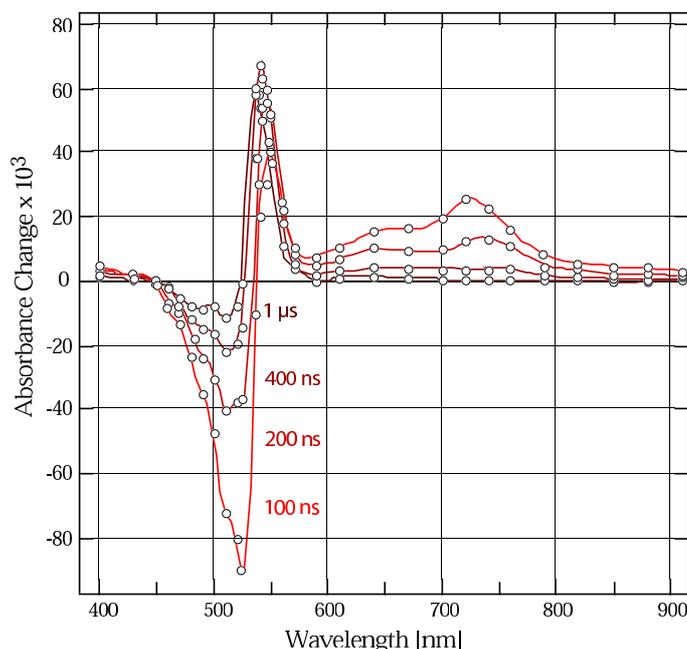
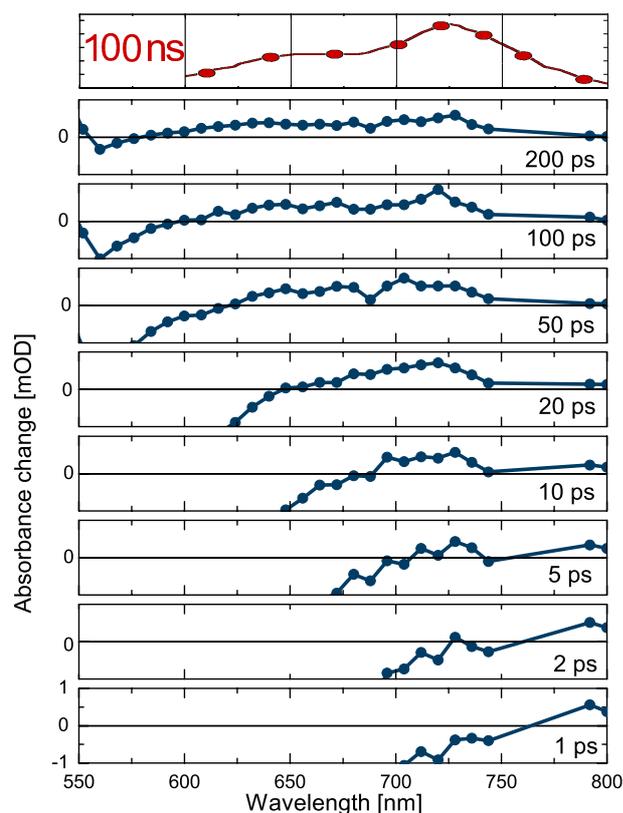


Abbildung 4.25: Transiente Spektren im Nano- bis Mikrosekundenbereich nach Anregung bei 532 nm aus [172]. Die Besetzung des verdrehten und isomerisierten Zustandes kann um 540 nm beobachtet werden, während die Entvölkerung des Triplettzustandes oberhalb von 650 nm erkennbar ist.

Für MC2OG ergeben sich Zeitkonstanten von $\tau_1=1,8$ ps, $\tau_2=40$ ps und eine lange Zeit deutlich oberhalb des Beobachtungszeitraums $\tau_3=\infty$. Alle Spektren besitzen annähernd gleiche Amplituden und keines der Spektren ist gegenüber den anderen bei allen Wellenlängen dominant. Die kürzeste Zeit ist gekennzeichnet durch eine spektral breite Signatur, die durch das Signal der wiederkehrenden Grundzustandsabsorption unterbrochen wird. Die positive Absorptionsänderung ist typisch für einen angeregten Zustand der zu zerfallen beginnt. Der große negative Beitrag zeigt den Zerfall des GSB, entsprechend einer teilweisen Wiederkehr des ursprünglichen Absorptionssignals.

Das zu τ_2 gehörige Amplitudenspektrum besitzt eine gänzlich andere Struktur. Wie bereits aus den Zeitschnitten erkennbar ist, zerfällt unterhalb von 500 nm der angeregte Zustand mit dieser Zeit. Auch die ausgeprägte stimulierte Emission oberhalb 630 nm verschwindet auf dieser Zeitskala. Am auffälligsten ist jedoch die Ausbildung einer Absorption um 565 nm, die sich im weiteren Verlauf zu 590 nm hin entwickelt. Eine solche spektrale Signatur konnte von Nüesch und Kollegen durch

Abbildung 4.26: *Transiente Spektren von MC2HW oberhalb von 550 nm. Die Entstehung der Absorption des Triplettzustandes lässt sich gut erkennen. Zum Vergleich ist oben ein transientes Spektrum nach 100 ns aus Ref. [172] gezeigt.*



einen Vergleich mit einem nicht isomerisierenden Merocyanin bereits als ein um die zentrale Polymethinkette verdrehtes Molekül identifiziert werden (s.u.) [172]. Auf den hier beobachteten Zeitskalen bis hin zu vielen Nanosekunden ist noch keine vollständige Isomerisierung des Moleküls erfolgt, sondern es liegt lediglich in einer gegenüber dem Ausgangszustand verdrehten Form vor [172]. Die Bildung des verdrehten Zwischenzustands erfolgt innerhalb von einigen 10 Pikosekunden.

Das Spektrum der langen Zeit entspricht im wesentlichen einem Zeitschnitt bei einer Nanosekunde und zeigt, dass ein langlebiges Photoprodukt existiert. Im Amplitudenspektrum lassen sich verschiedene Beiträge erkennen. Zum einen sind Reste des GSB unterhalb von 570 nm vorhanden, die zum Teil von der Absorption des verdrehten Zustandes mit dem Maximum bei 590 nm überlagert werden. Zum anderen sind noch kleinere Beiträge im Bereich der ESA sowie geringe Anteile im Bereich der stimulierten Emission vorhanden. Nach einer Nanosekunde ist also ein Teil der Moleküle noch immer in einem angeregten Zustand. Die Lebensdauer von Triplettzustands kann für Merocyanine mehrere Mikrosekunden betragen [189], sodass das Signal zu langen Zeiten entweder einem angeregten Triplett (s.u.) oder einem angeregten Singulett zugeschrieben werden kann.

Die hier geführte Diskussion lässt sich analog auf MC2HW übertragen. Hier überlappen die spektralen Signaturen jedoch noch stärker als im Fall von MC2OG und die Intermediate sind weniger deutlich zu identifizieren. Der Zerfall des angeregten Zustandes ist unterhalb von 470 nm zu sehen, GSB um 540 nm, stimulierte Emission oberhalb von 550 nm und die Ausbildung des verdrehten Isomers um etwa 550 nm. Mit einem globalen Fit mit drei Zeitkonstanten können die Daten beschrieben werden. Die sich dabei ergebenden Zeitkonstanten sind denen des MC2OG sehr ähnlich (siehe Abbildung 4.24) und können daher mit den gleichen Prozessen identifiziert werden.

Der verdrehte Zustand konnte von Nüesch und dessen Kollegen bereits in zeitaufgelösten Messungen auf der Nanosekundenskala beobachtet und identifiziert werden (siehe auch Abbildung 4.25). Durch den Vergleich mit einem Merocyanin, bei dem die Isomerisierung an der zentrale Polymethinkette nicht möglich ist, konnte gezeigt werden, dass die Isomerisierung an dieser Stelle stattfindet. Da sich innerhalb von einigen 100 ns noch weitere spektrale Verschiebungen ergeben, liegt zunächst ein verdrehter Zustand vor und noch kein vollständig isomerisiertes Merocyanin. Für verschiedene andere Merocyanine ist weiterhin bekannt, dass es zu photoinduzierten Isomerisierungen im Pikosekundenbereich kommen kann [176, 189, 190], sodass ein im Vergleich zum Grundzustand verdrehtes Molekül als Grund für die zusätzliche Absorption um 550 nm bzw. 590 nm plausibel erscheint. Diese Isomerisierung geschieht mit einer Zeitkonstanten von $\tau_{twist} = 40$ ps, ist jedoch innerhalb 1 ns noch nicht vollständig abgeschlossen.

Für Merocyanin in Lösung ist weiterhin bekannt, dass es nach Photoanregung zur Besetzung eines langlebigen Triplettzustandes kommen kann. Dieser ist spektral an einer deutlich rotverschobenen Absorption jenseits von 650 nm zu erkennen [172, 191, 192]. Für MC2HW konnte diese Absorption um 720 nm beobachtet werden (siehe Abbildung 4.25). Mittels Sauerstoff als Triplettquencher war eine eindeutige Zuordnung möglich [172].

Auch auf den hier untersuchten Zeitskalen konnte die Entwicklung einer deutlich rotverschobenen Absorption beobachtet werden (siehe Abbildung 4.26). Diese trat in einem spektralen Bereich auf, in dem der Beitrag des Triplettzustandes zu erwarten ist. Auch die Form der Absorptionsänderung stimmt gut mit der in Ref. [172] für den Triplettzustand gefundenen überein. Die Besetzung des Triplettzustandes erfolgt dabei mit einer Zeitkonstanten von wenigen Pikosekunden, deutlich unterhalb der Zeit,

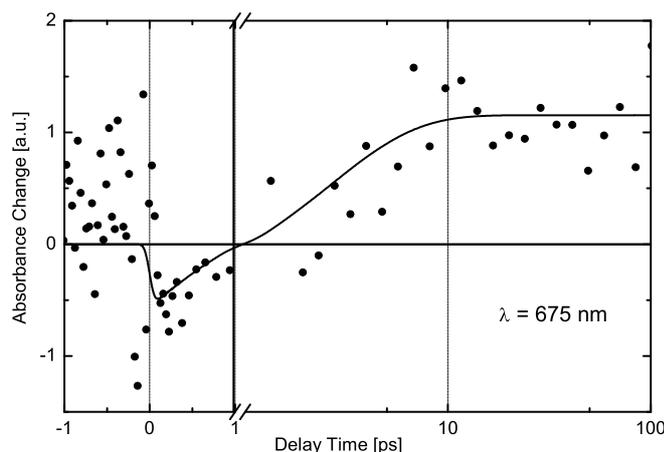


Abbildung 4.27: Transiente von MC2HW in Lösung bei 675 nm. Die Entstehung der Absorption des Triplettzustands ist zu erkennen. Die Linie zeigt einen Fit mit einer Triplettbildungszeit von $\tau = 2,6$ ps.

mit der die Bildung des verdrehten Zustandes vonstatten geht (Abbildung 4.27). Da sich aus dem globalen Fit eine Zeit um zwei Pikosekunden ergibt, kann diese als die Zeit zur Bildung des Triplettzustandes angesehen werden.

1963 wurden von El-Sayed mittels quantenmechanischer Rechnungen Regeln aufgestellt, wann ein Übergang von einem Singulett in einen Triplettzustand wahrscheinlich bzw. unwahrscheinlich ist [193]. Dabei konnte gezeigt werden, dass ein ISC („intersystem crossing“) dann wahrscheinlich und damit schnell ist, wenn zusätzlich zu einer Umkehr des Spins ein Wechsel in ein Orbital mit einer anderen Drehimpulsquantenzahl erfolgt. Weiterhin gilt, dass ein ISC umso schneller ablaufen kann, je größer die Spin-Bahn-Kopplungskonstanten [42] der beteiligten Atome sind. Schwefel besitzt eine deutlich höhere Kopplungskonstante als beispielsweise Kohlenstoff (Faktor zehn) oder Sauerstoff (Faktor drei). Merocyanine enthalten mehrere Schwefelatome (3 für MC2HW, 4 für MC2OG) deren Orbitale direkt an der HOMO-LUMO-Anregung beteiligt sind (siehe Abbildung 4.7). TDDFT-Rechnungen haben weiterhin gezeigt, dass drei Triplettzustände energetisch direkt unterhalb des ersten angeregten Zustandes liegen [157] von denen einer vom $n\pi^*$ -Typ ist, sodass bei Übergang in diesen Zustand sich auch die Drehimpulsquantenzahl ändert. Somit ist eine schnelle Besetzung des Triplettzustandes innerhalb weniger Pikosekunden für Merocyanine durchaus verständlich.

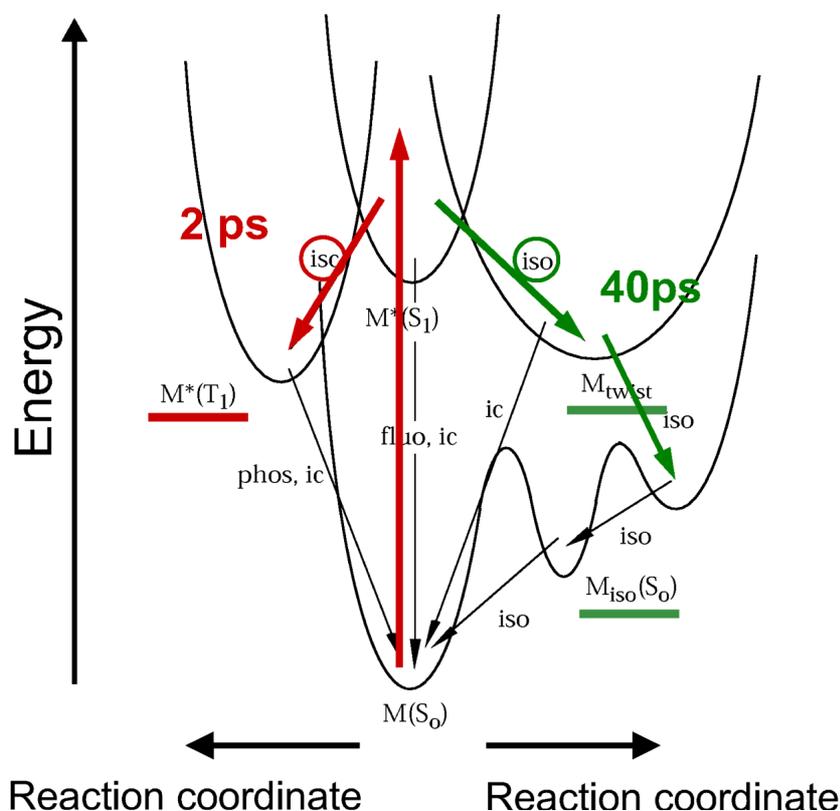


Abbildung 4.28: Erweitertes Reaktionsmodell der untersuchten Merocyanine MC2HW und MC2OG nach Photoanregung mit zugehörigen Zeiten für die entsprechenden Reaktionskanäle unterhalb einer Nanosekunde.

Sämtliche Beobachtungen lassen sich mit dem hier gezeigten Reaktionsmodell erklären. Zusätzlich lassen sich die Zeitkonstanten bestimmten Reaktionen zuordnen. Es ergibt sich das in Abbildung 4.28 gezeigte Reaktionsmodell mit den entsprechenden Reaktionszeiten. Dabei ist zu beachten, dass es sich bei der Reaktionskoordinate der Isomerisierung und der Reaktionskoordinate der Triplettbildung um unterschiedliche Koordinaten handelt. Es existiert keine Isomerisierung aus dem Triplettzustand, ebenso wenig wie eine Triplettbildung aus dem verdrehten Molekül. Zusätzlich zur Beobachtung der entsprechenden Zerfallskanäle konnten die zugehörigen Zerfallszeiten erstmalig bestimmt werden.

4.5 Schneller Elektronentransfer an Merocyanin/ TiO₂

Nach der Diskussion der freien Farbstoffe in Lösung soll nun eine Diskussion der an Halbleiteroberflächen gekoppelten Farbstoffe und des dabei auftretenden Elektronentransfers erfolgen.

4.5.1 Transiente Charakterisierung

Merocyanin 2 OG/TiO₂

Einen ersten Überblick über die Dynamik von MC2OG/TiO₂ nach Photoanregung bei einer Wellenlänge von 600 nm gibt Abbildung 4.29. Es lassen sich deutliche Unterschiede zu freiem Merocyanin in Lösung erkennen. Unterhalb von etwa 550 nm ist ein Bereich positiver Absorption auszumachen, oberhalb davon einer negativer Absorption. Zu langen Verzögerungszeiten ist keine positive Absorptionsänderung des verdrehten Zustandes um 590 nm sichtbar.

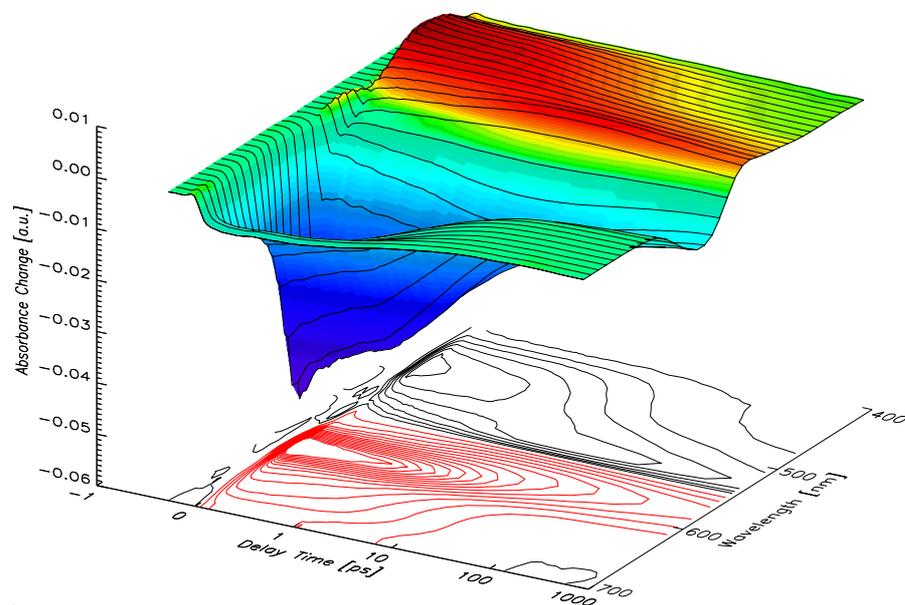


Abbildung 4.29: Transiente Absorptionsänderungen von MC2OG/TiO₂ nach Photoanregung bei 600 nm.

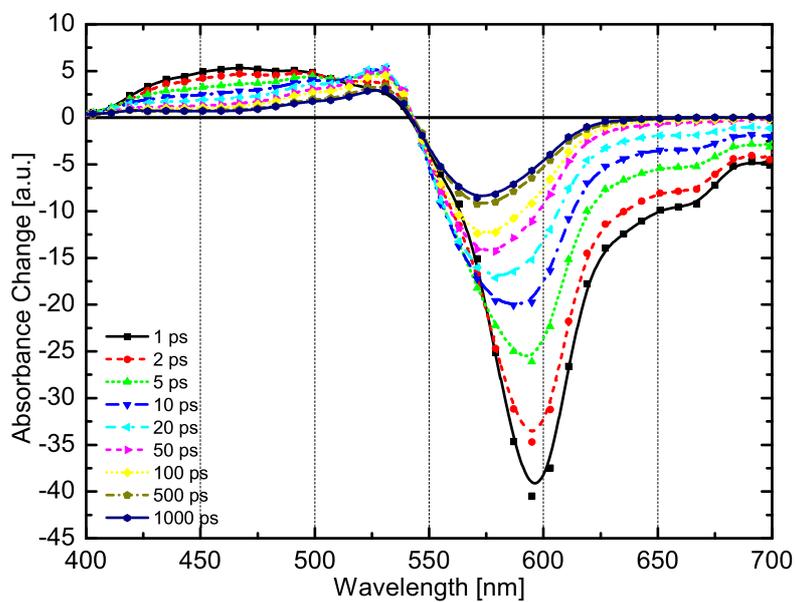


Abbildung 4.30: *Transiente Spektren für gebundenes MC2OG in MeOH.*

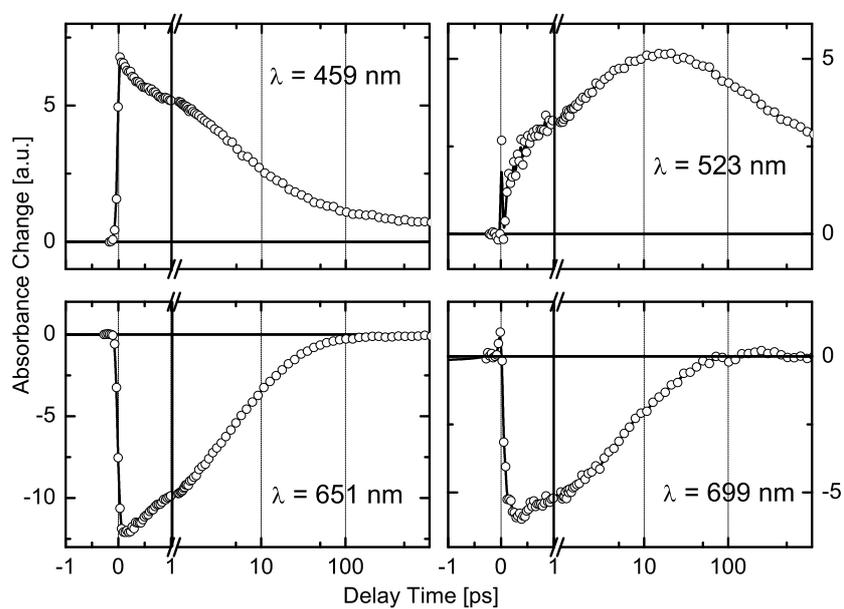


Abbildung 4.31: *Transienten für MC2OG/TiO₂ in MeOH.*

Eine genauere Untersuchung soll anhand transienter Spektren (Abbildung 4.30) sowie mittels Transienten (Abbildung 4.31) erfolgen. Betrachtet man die transienten Spektren, so zeigen sich die Unterschiede zum freien MC2OG klarer als in der Übersichtsdarstellung. Eine zeitliche Veränderung der Form des positiven Signals bei Wellenlängen kleiner als 540 nm lässt sich erkennen. Zu kurzen Verzögerungszeiten sieht man eine breite, fast symmetrische Absorption mit dem Maximum bei etwa 470 nm, zu längeren Verzögerungszeiten verschiebt sich das Maximum des dann asymmetrischen Peaks zu längeren Wellenlängen auf etwa 525 nm. Der negative Signalbeitrag besitzt sein Minimum bei 590 nm zu kurzen Verzögerungszeiten und schiebt innerhalb einer Nanosekunde zu 570 nm. Auf der roten Seite dieser Absorptionsänderung ist eine Schulter bei etwa 670 nm zu erkennen, die mit der gleichen Zeitkonstante zerfällt, mit der sich die breite symmetrische Absorption um 470 nm in die asymmetrische umwandelt. Von der langlebigen Absorption des verdrehten Zustands bei freien Merocyaninen auf dem Untergrund des GSB ist hier nichts zu erkennen.

Die Transiente bei 459 nm zeigt klar die Umwandlung der symmetrischen Absorption in die asymmetrische. Bei 523 nm ist die Entwicklung einer Absorption mit gleicher Zeitkonstante wie der Zerfall bei 459 nm zu beobachten. Transienten bei 651 nm und 699 nm zeigen sehr ähnliches Verhalten, d.h. einen Zerfall auf der gleichen Zeitskala ausgehend von anfänglich unterschiedlichen Amplituden.

Merocyanin 2 HW/TiO₂

Auch für MC2HW gekoppelt an Titandioxidkolloide wurden transiente Absorptionsmessungen durchgeführt. Hier wurde ebenfalls an der roten Flanke des Absorptionsmaximums, diesmal bei 555 nm angeregt. Einen Überblick über die Dynamik gibt Abbildung 4.32. Es zeigt sich prinzipiell dasselbe Bild wie für gebundenes MC2OG. Genau wie für freies MC2HW sind auch hier die spektralen Merkmale aufgrund des fehlenden Rhodaninrings im Vergleich zu MC2OG blauverschoben. Die positive Absorption liegt unterhalb von 490 nm und die negative Absorption besitzt ihr Minimum direkt nach der Photoanregung bei 540 nm.

Mit Hilfe der transienten Spektren (Abbildung 4.33) lassen sich die Merkmale genauer zuordnen. Die positive Absorptionsänderung hat ihr Maximum bei 467 nm und die Form dieses Beitrages ändert sich innerhalb einer Nanosekunde kaum. Der

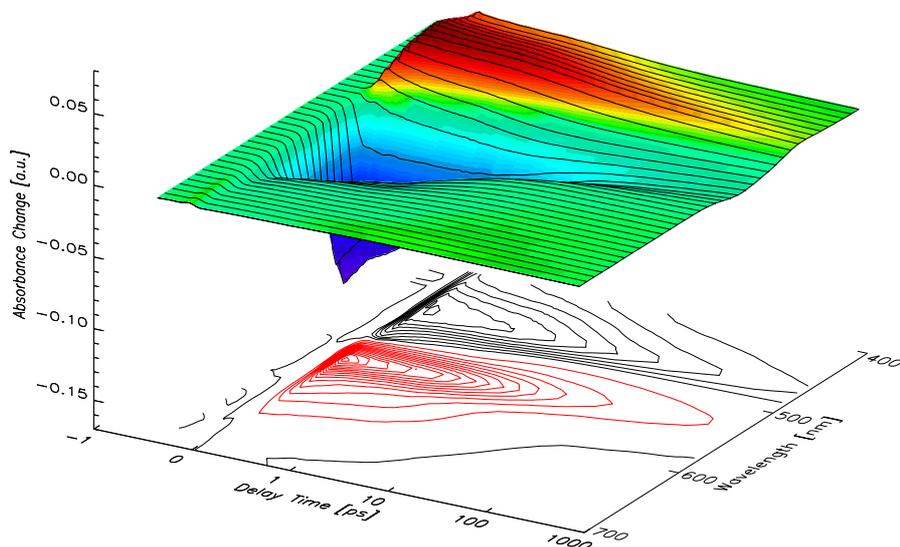


Abbildung 4.32: Transiente Absorptionsänderungen nach Photoanregung von MC2HW/TiO₂ bei 555 nm.

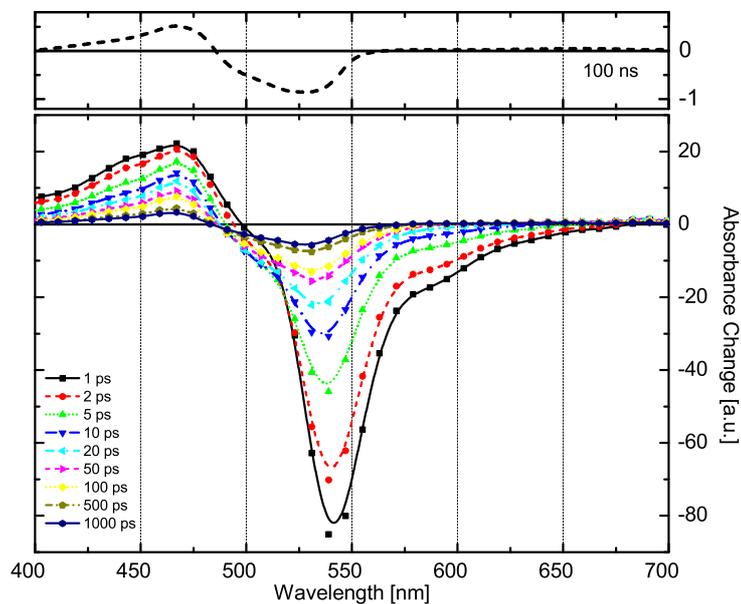
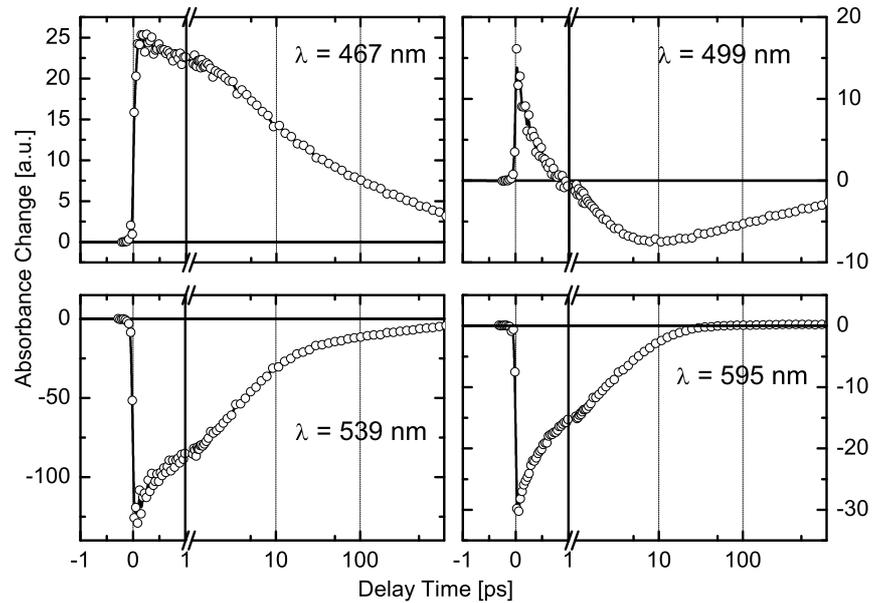


Abbildung 4.33: Oben: Transientes Spektrum aus Nanosekundenmessungen [194]. Unten: Transiente Spektren für gebundenes MC2HW in MeOH.

Abbildung 4.34: Transienten für MC2HW/ TiO_2 in MeOH.

negative Signalbeitrag (Minimum bei 537 nm für 1 ps) verändert sowohl seine Form als auch die Lage des Minimums. Nach einer Nanosekunde liegt das Minimum bei 523 nm. Die Schulter auf der roten Seite des negativen Hauptbeitrages zerfällt innerhalb weniger Pikosekunden. Diese Beobachtungen werden durch die Transienten in Abbildung 4.34 bestätigt.

4.5.2 Diskussion gekoppelter Systeme, Elektronentransfer

Die beobachteten transienten Änderungen sollen im Folgenden individuellen molekularen Reaktionen zugeordnet werden und im Hinblick auf einen Elektronentransfer vom Farbstoff in das Kolloid diskutiert werden.

Für MC2OG/ TiO_2 kann die positive Absorption unterhalb von 540 nm zu kurzen Zeiten der Absorption des angeregten Zustandes zugeschrieben werden. Diese erstreckt sich typischerweise spektral sehr breit, wird hier aber oberhalb von 540 nm vom ausgebleichten Grundzustandssignal kompensiert. Dessen Maximum ist laut statischem Spektrum bei 597 nm zu erwarten. Hier ist dieses Maximum aber aufgrund der Kompensation mit dem Absorptionssignal des angeregten Zustandes rotverschoben zu erkennen. Mit dem Zerfall des angeregten Zustandes verschiebt sich

das vorhandene Minimum in Richtung des zu erwartenden Minimums. Die Schulter bei 670 nm kann stimulierter Emission zugeschrieben werden, deren Zerfall mit dem Zerfall des angeregten Zustandes einhergeht. Solange sich noch ein Teil der angeregten Moleküle im S_1 -Zustand befinden, ist auch stimulierte Emission zu beobachten.

Die asymmetrische Absorption zu langen Zeiten kann der Absorption des Mero-cyaninkations zugeschrieben werden, da diese Absorption für freies MC2OG nicht zu beobachten war. Zusätzlich konnte bereits in Nanosekundenmessungen ein lang-lebiger Beitrag bei diesen Wellenlängen beobachtet werden und als Kationensignal identifiziert werden [172]. Die Form der Absorption nach einer Nanosekunde stimmt sehr gut mit der Form bei 100 ns überein (siehe Abbildung 4.33, oben). Im Gegensatz zu Nanosekundenmessungen kann hier jedoch die Bildung des Kations beobachtet und daraus die zugehörige Zeitkonstante bestimmt werden. Deutlich wird dies in den Amplitudenspektren (Abbildung 4.35). Die Messergebnisse für MC2OG nach Anregung bei 600 nm lassen sich zufriedenstellend mit fünf Zeitkonstanten anpassen. Fittet man weniger Zeitkonstanten, so wird die Kurzzeitdynamik innerhalb von 100 fs nicht hinreichend beschrieben, sodass fünf Zeitkonstanten zur Charakterisierung notwendig sind. In Abbildung 4.35 sind die Amplituden dieses Fits gezeigt.

Die Bildung des Kations geschieht mit den beiden schnellsten Zeitkonstanten $\tau_1 < 100$ fs und $\tau_2 = 1,6$ ps. In beiden Spektren ist ein negativer Signalbeitrag um 530 nm deutlich zu erkennen, dessen Form der gespiegelten stationären Absorption des Kations entspricht. Zu einem geringen Teil erfolgt die Bildung des Kations auch mit einer Zeitkonstanten von 11 ps. Für alle drei Zeiten ist weiterhin der Zerfall des angeregten Zustandes auszumachen, was die Annahme der Elektroneninjektion aus dem S_1 -Zustand in das Kolloid und die damit verbundene MC2OG⁺-Bildung bestätigt.

Auffällig ist der positive Beitrag um 565 nm im Spektrum der zweiten Zeitkonstante τ_2 . Vergleicht man diese Amplitude mit den Fitamplituden des ungekoppelten Farbstoffs, zeigt sich eine gute Übereinstimmung mit der Amplitude von τ_2 dort. Diese Zeit konnte der Bildung des verdrehten Isomers zugeschrieben werden. Für das gekoppelte System bedeutet dies, dass es auch hier zur Besetzung des verdrehten Zustandes kommt. Im Vergleich zum ungebundenen System ist das aber in einer signifikant kürzeren Zeit von $\tau_2 = 2$ ps zu beobachten.

Im Wellenlängenbereich oberhalb von 620 nm ist stimulierte Emission zu beobachten, die mit der gleichen Zeit zerfällt wie die Absorption unterhalb von 500 nm. Der positive Beitrag der kürzesten Zeit in Bereich oberhalb von 620 nm kann auf

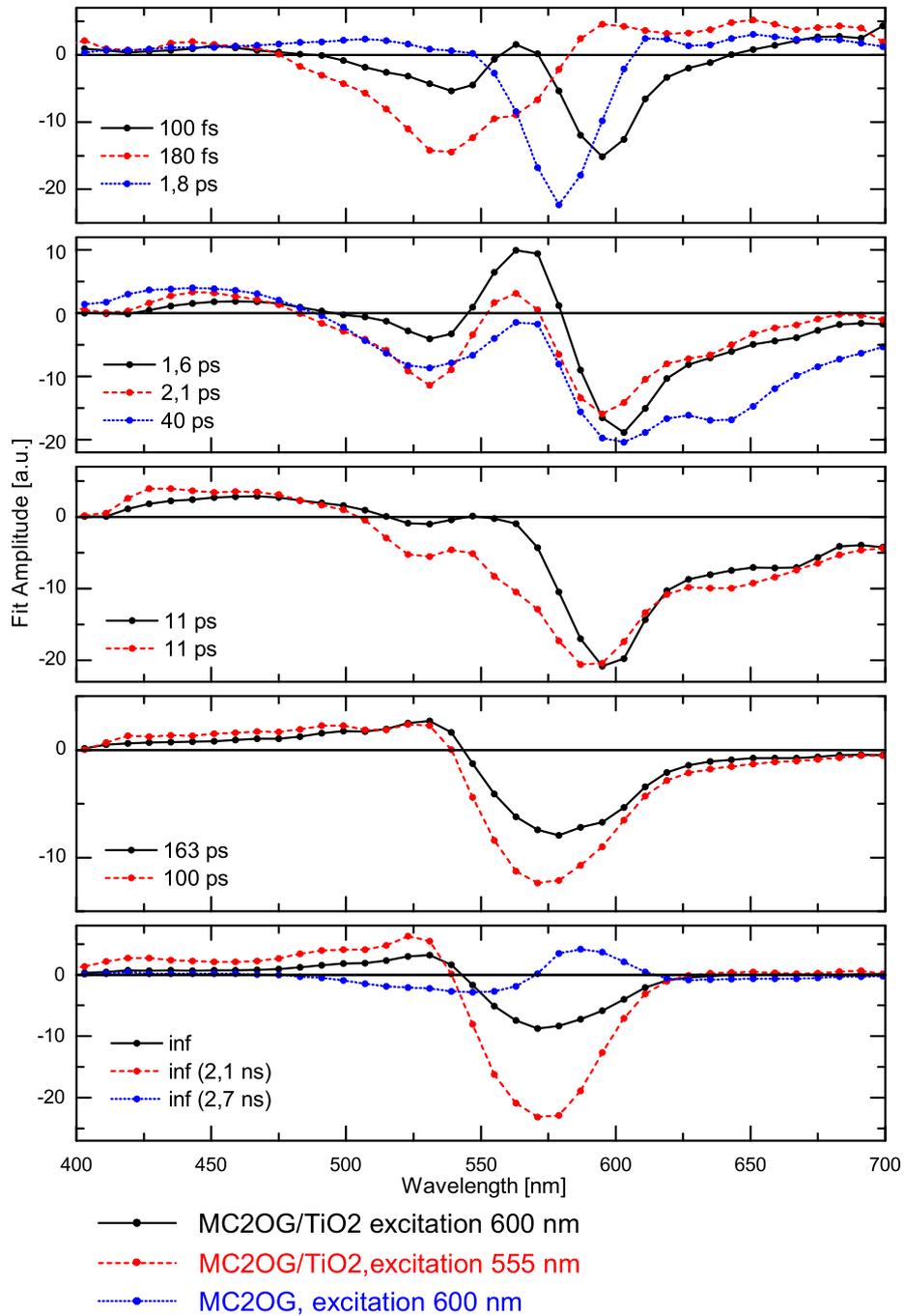


Abbildung 4.35: Amplituden der globalen Fits mit fünf Zeitkonstanten für gekoppeltes MC2OG bei zwei verschiedenen Anregungswellenlängen. Zum Vergleich sind auch die Fitamplituden für den Fit des ungekoppelten MC2OG mit drei Zeitkonstanten gezeigt.

Reste des kohärenten Artefaktes oder auf gegenseitige Kompensation der Amplituden der beiden kurzen Zeiten zurückgeführt werden.

Die Spektren der beiden längsten Zeiten unterscheiden sich deutlich von den anderen. Im Bereich unterhalb von 540 nm ist der Zerfall des Kationensignals zu beobachten, spiegelbildlich zur Entstehung mit den drei kürzeren Zeiten. Um 570 nm lässt sich wiederum der Zerfall des GSB erkennen, der teilweise vom Kationsignal kompensiert wird und deshalb rotverschoben liegt. Im Bereich oberhalb von 620 nm treten keine bzw. nur kleine negative Absorptionsänderungen auf. Hier wäre das Signal des Elektrons im Leitungsband des TiO_2 zu erwarten, kann aber aufgrund des geringen Absorptionsquerschnittes nicht beobachtet werden. Auch in Nanosekundenmessungen war der Beitrag des Elektrons sehr gering und kaum zu identifizieren [172]. Ein weiterer Grund, warum das Elektron im Leitungsband nicht zu erkennen ist, kann ein zusätzlicher negativer Signalbeitrag sein, der die Absorption des Elektrons kompensiert. Da das Signal des Kations klar zu identifizieren ist, kann davon ausgegangen werden, dass die energetisch erlaubte Elektroneninjektion in das Halbleiterkolloid stattfindet.

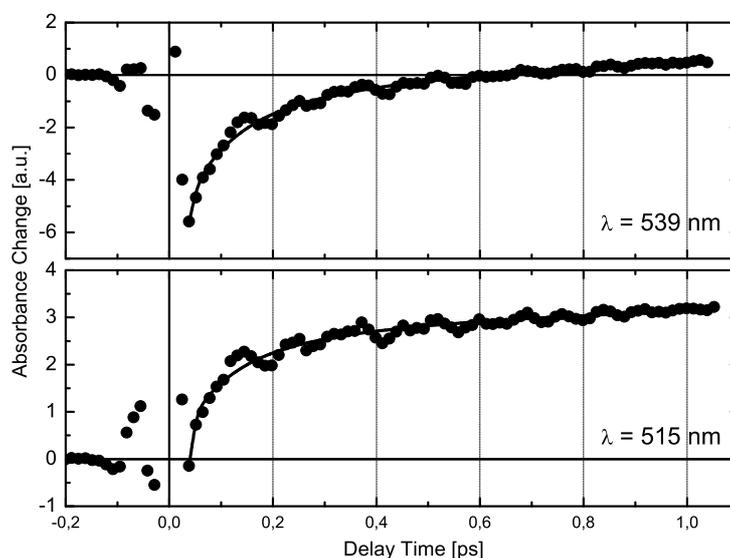


Abbildung 4.36: Transienten von gekoppeltem MC2OG in einem Spektralbereich, in dem die Bildung des Kations beobachtet werden kann. Die Linien entsprechen dem globalen Fit. Die Oszillationen sind auf eine zeitliche Entwicklung eines präparierten Wellenpaketes zurückzuführen.

Vergleicht man die Amplituden des globalen Fits einer Messung bei einer Anregungswellenlänge von 600 nm mit denen einer Messung bei einer Anregungswellenlänge bei 555 nm für gebundenes MC2OG (Abbildung 4.35), so zeigt sich die gute Übereinstimmung der einzelnen Amplituden. Auch die ermittelten Zeiten stimmen überein. Nur für die kurze Zeit, mit der die Elektroneninjektion stattfindet, zeigt sich, wie zu erwarten ein leicht verändertes Spektrum. Durch die Anregung mit einer anderen Wellenlänge wird ein anderer Bereich der Potentialfläche erreicht und die Elektroneninjektion findet von dort statt. Dieses führt zu einer veränderten Form des Spektrums.

Die genaue Zeit der Elektroneninjektion konnte durch eine Messung mit erhöhter Zeitauflösung bestimmt werden. In Abbildung 4.36 sind zwei Transienten aus dieser Messung für gekoppeltes MC2OG im Bereich der Absorption des Kations gezeigt. Deutlich ist die ultraschnelle Entstehung zu erkennen. Eine globale Anpassung dieser Daten lieferte eine Injektionszeit von $\tau_1=80$ fs. Die sichtbaren Oszillationen stammen von der zeitlichen Entwicklung des präparierten Wellenpaketes.

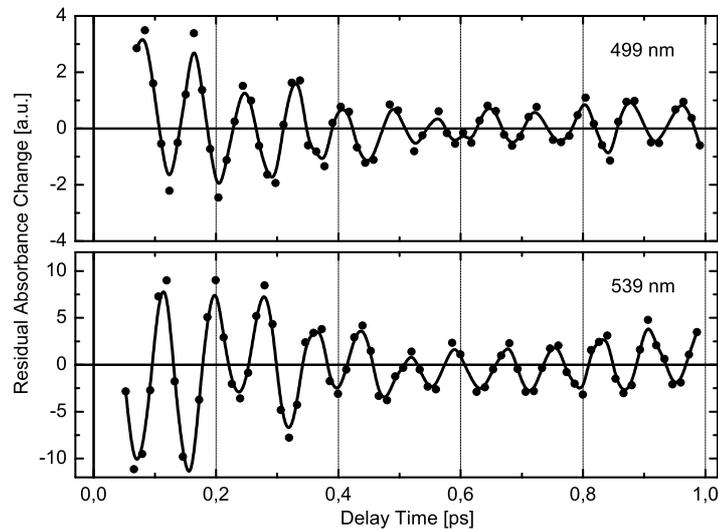


Abbildung 4.37: Schwingungsresiduen von MC2HW gekoppelt an TiO_2 . Die Phasenverschiebung zwischen den Modulationen bei verschiedenen Wellenlängen von annähernd 180° ist deutlich erkennbar.

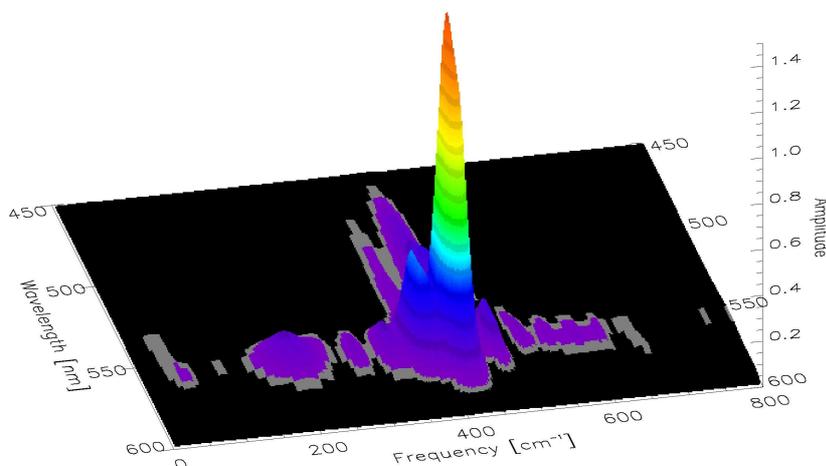


Abbildung 4.38: Darstellung der Ergebnisse der globalen Fouriertransformation der Schwingungsresiduen von MC2HW gekoppelt an TiO_2 .

Diese Schwingungen lassen sich auch für das gekoppelte MC2HW-System erkennen. Subtrahiert man die Absorptionsänderungen, die sich aus dem globalen Fit ergeben, von den Messdaten, so erhält man die Schwingungsresiduen (siehe Abbildung 4.37). Änderungen der Molekülgeometrie wirken sich auf die energetische Lage der Absorptionsbande aus. Diese periodischen Modulationen lassen sich insbesondere an den Flanken der Banden beobachten [65]. Daher sind in Abbildung 4.37 die Residuen jeweils für eine Wellenlänge an der höherenergetischen und an der niedrigerenergetischen Flanke des Absorptionsmaximums gezeigt. Die Phasenverschiebung von annähernd 180° zwischen der Modulation bei den beiden Wellenlängen, die sich durch eine Verschiebung der Bande zu kürzeren und längeren Wellenlängen ergeben sollte, ist deutlich zu erkennen.

Zur weiteren Analyse können diese Modulationen der Absorptionsänderungen nach einer Fourier-Transformation betrachtet werden. In Abbildung 4.38 ist das Ergebnis dieser Transformation für den gesamten untersuchten Spektralbereich dargestellt. Der dominante Beitrag ist bei Frequenzen um 420 cm^{-1} zu erkennen. Da Modulationen mit dieser Frequenz auch im ungekoppelten System auftraten, kann diese Mode als Schwingung des neutralen Merocyanins interpretiert werden. Weitere klare Beiträge sind nur schwer auszumachen. Zu möglichen Schwingungen des TiO_2 -Kristallgitters (Phononen) wie sie in anderen Farbstoff-Halbleiter-Systemen um 140 cm^{-1} beobachtet wurden [65] kann daher keine Aussage gemacht werden.

	MC2OG/TiO ₂ Anregung 600 nm	MC2OG/TiO ₂ Anregung 555 nm	MC2HW/TiO ₂ Anregung 555 nm
τ_1	80 fs	<180 fs	<200 fs
τ_2	1,6 ps	2,1 ps	1,4 ps
τ_3	11 ps	11 ps	7,6 ps
τ_4	163 ps	100 ps	190 ps
τ_5	∞ (2,7 ns)	∞ (2,1 ns)	∞

Tabelle 4.5: Zeitkonstanten des globalen Fits für MC2OG/TiO₂ und MC2HWTiO₂ bei verschiedenen Anregungswellenlängen.

Für MC2HW/TiO₂ zeigt sich ein insgesamt ein ähnliches Bild wie für MC2OG/TiO₂. Die Dynamik nach Photoanregung lässt sich mit fünf Zeitkonstanten beschreiben. Die beiden kürzesten Konstanten ($\tau_1=200$ fs und $\tau_2=1,4$ ps) beschreiben die Entstehung des Kations und damit die Elektroneninjektion. Der Einbruch auf dem Untergrund des zerfallenden angeregten Zustands ist ebenfalls zu erkennen. Weniger deutlich zu erkennen ist die Kationentstehung mit der dritten Zeitkonstante, da für MC2HW/TiO₂ die Beiträge der ESA, des GSB und des Kations stärker überlappen und schlechter zwischen einzelnen Beiträgen zu unterscheiden ist. Dadurch sind auch die Zeiten des globalen Fits mit größerer Unsicherheit behaftet. Während für MC2OG/TiO₂ die schnelle Elektroneninjektion zwischen 500 nm und 550 nm sehr deutlich erkennbar ist, kann sie bei MC2HW/TiO₂ nur schwer um

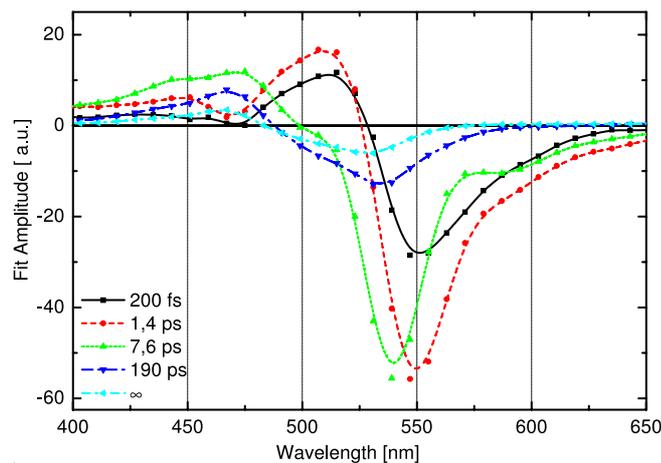


Abbildung 4.39: Amplituden des globalen Fits für MC2HW/TiO₂.

470 nm identifiziert und von anderen Beiträgen getrennt werden. Die Überlagerung der spektralen Signaturen der verschiedenen Prozesse führt auch zu einer stärkeren gegenseitigen Beeinflussung der spektralen Beiträge bei der globalen Anpassungsroutine. Die sich daraus ergebende vergrößerter Unsicherheit resultiert in einer scheinbar deutlich längeren ersten Zeit. Durch eine Messung mit erhöhter Zeitauflösung konnte aber auch hier die schnelle Dynamik der Elektroneninjektion mit ≈ 80 fs beobachtet werden. Die beiden längsten Zeiten $\tau_4=190$ ps und $\tau_5=\infty$ zeigen den langsamen Zerfall des Kations, sowie teilweise die Rückkehr der Grundzustandsabsorption.

Die beobachtete Elektronentransferzeit von 80 fs liegt signifikant oberhalb der Elektroneninjektionszeit von 6 fs für das in Ref. [24] untersuchte Alizarin-TiO₂-System. Dieser Unterschied kann mittels der unterschiedlichen Kopplungen zwischen den Farbstoffen und den Halbleitern verstanden werden. Für das Alizarin-Halbleiter-System kommt es aufgrund der kovalenten Bindung über zwei Sauerstoffatome zu einer starken elektronischen Kopplung und damit zu einem ultraschnellen Elektronentransfer innerhalb von 6 fs. Wie Messungen der Rekombinationsraten in Ref. [187] gezeigt haben ist die Kopplung der Merocyanine an die Kolloide über die Carboxylgruppe dagegen schwächer. Damit ist auch eine geringere Elektroneninjektionsrate zu erwarten und die Elektroneninjektionszeit von 80 fs kann in diesem Zusammenhang verstanden werden. Im Vergleich zu dem noch schwächer koppelnden Cumarin-Halbleiter-System sollte sich eine kürzere Injektionszeit ergeben. Für Cumarin-TiO₂-Systeme wurde in Ref. [65] eine Injektionszeit von 100 fs gemessen, sodass sich das in Abschnitt 4.2.5 angenommene Verhältnis der Elektronentransferzeiten auf der Grundlage der elektronischen Kopplungen von

$$\tau_{ET \text{ Alizarin}} = 6 \text{ fs} < \tau_{\mathbf{ET} \text{ Merocyanin}} = \mathbf{80 \text{ fs}} < \tau_{ET \text{ Cumarin}} = 100 \text{ fs}$$

bestätigt.

Der Vergleich der gekoppelten mit den ungekoppelten Systemen zeigt eine teilweise Übereinstimmung der Fitamplituden. Die spektrale Signatur der Isomerisierung an der zentralen Polymethinkette ist in beiden zu erkennen. Für das gekoppelte System tritt diese Geometrieänderung jedoch um den Faktor 20 beschleunigt auf. Eine mögliche Erklärung berücksichtigt eine Veränderung der an der Anregung beteiligten Orbitale durch Kopplung an den Halbleiter. Die Ladungsdichte des angeregten Zustands verschiebt sich derart, dass sich der Doppelbindungscharakter zumindest

eine der zentralen Doppelbindungen schwächt. Dadurch wird die Barriere für die Isomerisierung herabgesetzt, was zu einer Vergrößerung der Reaktionsraten führt. Diese Annahmen könnten durch genau Kenntnis des Bindungscharakters und der dadurch möglichen theoretischen Beschreibung untermauert werden. Mittels elektrostatischer Rechnungen sollten sich dann Aussagen darüber machen lassen, inwieweit sich die Ladungsdichteverteilung bei Anregung des gekoppelten Systems im Vergleich zum ungekoppelten im Bereich der zentralen Polymethinkette ändert und dadurch die Isomerisierung beeinflusst wird.

Die für die freien Merocyanine beobachtete Triplettbildung ist für die gekoppelten Systeme nicht auszumachen. Die Kopplung verändert die energetische Situation derart, dass der für das freie Merocyanin tiefliegende Triplettzustand nicht mehr besetzt werden kann. Theoretische Untersuchung [157] haben für freies Merocyanin gezeigt, dass drei Triplettzustände annähernd die gleiche Energie wie der optisch aktive Singulettzustand besitzen und damit Singulett-Triplett-Übergänge möglich sind. Unter der Annahme, dass sich die energetische Lage der Triplets bei Kopplung nicht ändert, die Lage des S₁-Zustands sich aber zu niedrigerer Energie verschiebt, wie es auch aus dem rotverschobenen stationären Absorptionsspektrum erkennbar ist, lässt sich das Ausbleiben des ISC verstehen. Auch wenn die Annahme eines sich durch Kopplung verschiebenden Singulettzustandes bei gleichbleibenden Triplettzuständen noch nachzuweisen ist, kann durch diese Vorstellung das Ausbleiben der Triplettbildung verstanden werden.

Die Beobachtungen der gekoppelten Systeme lassen sich konsistent mit einem Reaktionsmodell wie in Abbildung 4.40 darstellen und erklären. Nach der Photoanregung in den angeregten Zustand des gekoppelten Merocyanins existieren zwei von einander unabhängige Reaktionspfade. Wie durch die Messung mit erhöhter Zeitauflösung gezeigt, kommt es innerhalb von 80 fs zu einer ultraschnellen Elektroneninjektion aus dem ersten angeregten Zustand des Merocyanins in das Leitungsband des TiO₂-Halbleiters. Dieses ist an der schnellen Ausbildung des Merocyaninkations zu erkennen. Der zweite mögliche Reaktionspfad beinhaltet die Bildung eines gegenüber dem Molekül im Grundzustand verdrehten Zustands, ähnlich wie es auch für das ungekoppelte Merocyanin beobachtet werden konnte. Die spektrale Signatur des verdrehten Moleküls tritt jedoch schon innerhalb von 2 ps und damit um den Faktor 20 schneller als für das freie Molekül auf. Die Entstehung des Kationensignal konnte auch mit dieser Zeitkonstanten beobachtet werden, was die Annahme nahe

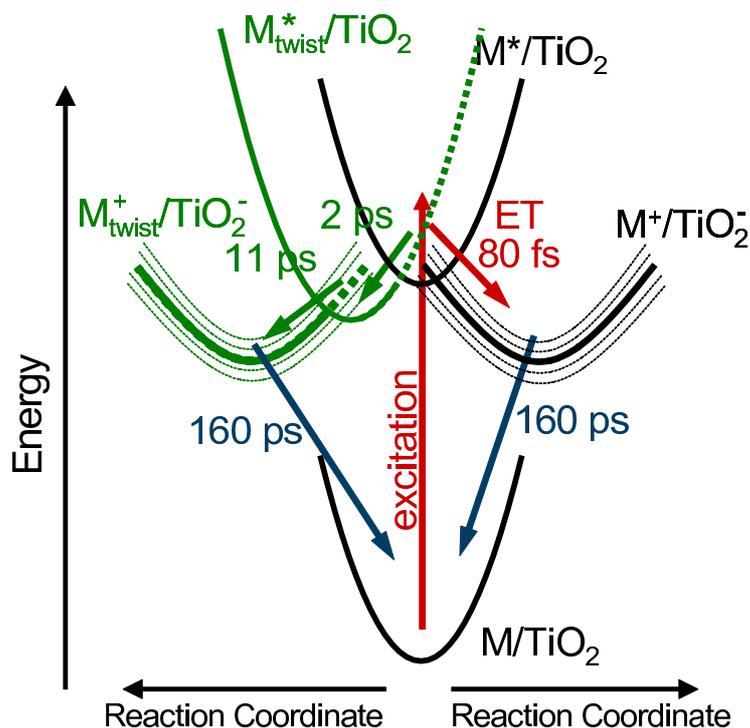


Abbildung 4.40: Entwickeltes Reaktionsmodell für an TiO_2 gekoppeltes Merocyanin.

legt, dass auch aus diesem angeregten verdrehten Zustand M_{twist} ein schneller Elektronentransfer stattfinden kann. Durch die Abnahme des Kationensignals mit einer Zeitkonstanten von 160 ps zeigte sich, dass es mit dieser Zeit zur Rekombination kommt.

4.6 Resümee

Ziel der in diesem Teil der Arbeit präsentierten Untersuchungen war es, den schnellen Elektronentransfer an Farbstoff-Halbleiter-Systemen zu untersuchen. Als Farbstoffe wurden verschiedene Merocyanine verwendet, die es durch ihren Aufbau mit einer zentralen Polymethinkette im Gegensatz zu anderen Farbstoff-Halbleiter-Systemen erlauben, nicht nur den Elektronentransfer allein zu studieren, sondern auch den Einfluss des Isomerisierungszustandes zu untersuchen.

Für die freien Farbstoffe in Lösung zeigten sich nach Photoanregung zwei voneinander unabhängige Deaktivierungskanäle. Die hier betrachteten Merocyanine können sich nach Absorption eines Photons innerhalb von 40 ps an der zentralen Polymethinkette verdrehen. Die Isomerisierung ist aber innerhalb einer Nanosekunde noch

nicht abgeschlossen und kann daher in Nanosekundenmessungen beobachtet werden. Für freie Merocyanine kann es aber auch zu einer Besetzung eines langlebigen Triplettzustandes kommen. Die Reaktionszeit für diesen Deaktivierungskanal beträgt 2 ps und ist damit vergleichsweise schnell für einen ISC. Sie kann aber aufgrund starker Spin-Bahn-Kopplung sowie eines energetisch naheliegenden Triplettzustandes mit anderer Drehimpulsquantenzahl verstanden werden. Mit diesen Beobachtungen konnte das existierende Reaktionsmodell der Deaktivierungskinetik für freie Merocyanine erweitert werden.

Die Dynamik nach Photoanregung konnte durch die Kopplung der Merocyanine an TiO₂-Halbleiter verändert werden. Es zeigten sich auch hier zwei voneinander unabhängige Deaktivierungskanäle. Mit einer Zeitkonstante von 80 fs kommt es zu einem schnellen Elektronentransfer aus dem Farbstoff in das Leitungsband des Halbleiters. Durch den Vergleich mit anderen Farbstoff-Halbleiter-Systemen konnte der Einfluss der Kopplungsstärke zwischen Halbleiter und Farbstoff auf die Elektronentransferzeit bestätigt werden. Neben dem schnellen Ladungstransfer ist die Isomerisierung der Merocyanine zu beobachten. Es zeigt sich eine Beschleunigung der ohnehin schon schnellen Isomerisierung um den Faktor 20 gegenüber den ungebundenen Farbstoffen. Auch aus dem verdrehten Molekül kommt es zu einem Elektronentransfer in das Leitungsband des Halbleiters. Der Zerfall des ladungsgetrennten Zustandes erfolgt für beide Deaktivierungskanäle innerhalb weniger 100 ps. Sämtliche Beobachtungen des Farbstoff-Halbleiter-Systems können mit dem hier entwickelten Reaktionsmodell nach Photoanregung erklärt werden.

In Ergänzung zu bisherigen Studien an Farbstoff-Halbleiter-Systemen war es damit in dieser Arbeit möglich, molekulare Bewegung und Elektroneninjektion gleichzeitig zu untersuchen, zu beeinflussen und zu verstehen. Diese Kombination stellt eine bemerkenswerte Beobachtung dar und sollte sich für lichtinduzierte, reversible Modifikation makroskopischer Parameter nutzen lassen.

„Das also war des Pudels Kern!“

J.W.G.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die Charakterisierung zweier Systeme, bei denen schnelle photoinduzierte Ladungstransferreaktionen auftreten. Diese beiden Systeme wurden mittels Anregungs-Abtast-Spektroskopie im sichtbaren Spektralbereich untersucht. Dazu wurde ein Femtosekundenspektrometer aufgebaut und im Vergleich zu Standardaufbauten derart weiterentwickelt, dass mit sehr kleinen Probenmengen, bei kurzen Messzeiten und sehr rauscharm gearbeitet werden kann.

Mit diesen Modifikationen wurde die bisher noch nicht charakterisierte Primärreaktion des erst vor wenigen Jahren entdeckten bakteriellen Retinalproteins Proteorhodopsin untersucht. Dieses Protein, das einen signifikanten Beitrag zur Energiebilanz der euphotischen Zone leisten kann, zeigt einen vektoriellen, pH-abhängigen und lichtgetriebenen Protonentransfer über die Zellmembran. Mittels zeitaufgelöster Femtosekundenspektroskopie wurde die Primärdynamik in saurer sowie in alkalischer Umgebung untersucht.

Nach Photoanregung von Proteorhodopsin zeigt sich eine konzertierte Schwingung des all-*trans*-Retinals, die in einer biphasischen Reaktion zu einer Isomerisierung zum 13-*cis*-Zustand führt. Neben den genauen Zerfallszeiten wird auch das Besetzungsverhältnis des schnellen (≤ 1 ps) zum langsamen Zerfallskanal (≥ 10 ps) durch den Protonierungszustand des primären Protonenakzeptors (Asp97) gesteuert. In alkalischer Umgebung reagieren deutlich mehr Moleküle über den schnellen Reaktionskanal als in saurer Umgebung. Zusätzlich vergrößert sich die Quantenausbeute der Isomerisierungsreaktion vom all-*trans*- zum 13-*cis*-Retinal um den Faktor zwei beim Erhöhen des pH-Wertes von 6 auf 9.

Durch die Reaktion des Chromophors auf die unterschiedlichen Ladungszustände des primären Protonenakzeptors zeigt sich, dass die Proteinumgebung elementar für die Funktion, speziell auch für die primäre Photodynamik, ist. Eine mögliche Erklärung berücksichtigt die räumliche Nähe der entsprechenden Aminosäure zur C13=C14 Bindung. Durch Deprotonierung an dieser Stelle kommt es zu einer Schwächung der genannten Bindung. Die energetische Barriere für die Isomerisierung wird herabgesetzt und diese Reaktion kann schneller und effizienter ablaufen als bei Gegenwart einer protonierten Aminosäure. Da die Ladung des Akzeptors die Reaktion „steuert“, kann von einer elektrostatischen Kontrolle der Reaktionsdynamik gesprochen werden.

Die Untersuchung von solubilisierten und rekonstituierten Proteorhodopsinen ermöglichte es, deren Primärdynamik direkt miteinander zu vergleichen. Dabei zeigt

te sich, dass die auftretenden Prozesse identisch sind und sich lediglich die Zeiten einzelner Reaktionen um wenige Prozent unterscheiden. Die generellen Charakteristika wie die pH-Abhängigkeit der Besetzung der Zerfallskanäle und der Quantenausbeuten bleiben unabhängig vom Präparationszustand erhalten. Die gleiche Primärdynamik von detergenssolubiliertem und in Purpurmembranen rekonstituiertem Proteorhodopsin bietet die Möglichkeit, weitergehende Untersuchungen im jeweils besser geeigneten Zustand durchzuführen und Ergebnisse auf die andere Umgebung zu übertragen.

Durch Ersetzen des primären Protonenakzeptors (Asp97) durch eine neutrale Aminosäure (Asp \rightarrow Asn, D97N-Mutante) lassen sich weitere Informationen über die Isomerisierung des Retinals in der Proteinbindungstasche gewinnen. Es sollte sich durch diese Veränderung eine Reaktionszeit ergeben, die zwischen den hier ermittelten liegt. Mit der vorgestellten Erklärung der Isomerisierungsdynamik sollte sich eine verringerte Quantenausbeute im Vergleich zu Proteorhodopsin in saurer Umgebung zeigen.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde die photoinduzierte Dynamik von Merocyaninen sowohl frei in Lösung als auch an kolloidale Halbleiter gekoppelt untersucht. Mit der Kopplung bietet sich die Möglichkeit, die komplexe Deaktivierungskinetik dieser Farbstoffe nach Photoanregung zu verändern.

Für die freien Farbstoffe lassen sich zwei Deaktivierungskanäle unterscheiden. Nach der Photoanregung kann das Merocyanin an der zentralen konjugierten Polymethinkette isomerisieren. Die Entstehung des daraus resultierenden verdrehten Moleküls konnte innerhalb weniger zehn Pikosekunden beobachtet werden. Die andere Möglichkeit die aufgenommene Energie wieder abzugeben besteht in der Bildung eines angeregten Triplettzustandes. Die Besetzung dieses Zustandes lässt sich innerhalb weniger Pikosekunden beobachten und geht somit signifikant schneller vonstatten als die Isomerisierung.

Durch Kopplung der Merocyanine an TiO₂-Halbleiterkolloide werden andere Deaktivierungskanäle wichtig. Mit einer Zeitkonstante von wenigen zehn Femtosekunden kommt es zu einem schnellen Ladungstransfer aus dem Farbstoff in den Halbleiter. Parallel zu dieser ultraschnellen Elektroneninjektion bildet sich, wie für das ungekoppelte System auch, der verdrehte Zustand. Die Bindung an den Halbleiter führt jedoch zu einer Beschleunigung der Torsionsbewegung, sodass sich die Geometrieänderung innerhalb weniger Pikosekunden beobachten lässt. Auch aus diesem

Zustand kommt es zur Elektroneninjektion aus dem Farbstoff in das Leitungsband des Halbleiters. Die Triplettbildung ist dagegen für das gekoppelte System nicht beobachtbar, was zu einer erhöhten Stabilität führt.

Neben der Bildung der ladungsgetrennten Zustände konnte mittels der Femtosekundspektroskopie auch die partielle Rückreaktion zu neutralen Systemen beobachtet werden. Die Reduktion des Merocyaninkations erfolgt innerhalb weniger 100 ps, ist aber nach einer Nanosekunde noch immer nicht vollständig abgeschlossen, sodass ein signifikanter Teil der Moleküle bzw. Kolloide geladen bleibt. Hier bietet sich Nanosekundspektroskopie im sichtbaren und nahen infraroten Spektralbereich an, die weitere Reaktionsdynamik zu charakterisieren.

Sämtliche Beobachtungen des Farbstoff-Halbleiter-Systems lassen sich in einem Reaktionsmodell zusammenfassen. Mit diesem lässt sich die Dynamik nach Photoanregung erklären, sowie die energetische Lage der beteiligten Zustände im Verhältnis zueinander betrachten. Ein bereits existierendes Reaktionsmodell des freien Farbstoffes konnte mittels der in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse auf den Bereich unterhalb von einer Nanosekunde erweitert werden.

Für weitergehende Untersuchungen des gekoppelten Systems ist es hilfreich, die genaue Art der Bindung zwischen Farbstoff und Halbleiterkolloiden zu kennen. Daher sollte das Ziel zukünftiger Arbeiten eine Charakterisierung der Wechselwirkung zwischen Farbstoff und Halbleiter sein. Mittels IR- oder Photoelektronenspektroskopie sollte es möglich sein, verschiedener Bindungsformen zu unterscheiden. Auch zeitaufgelöste IR-Spektroskopie kann zum weiteren Verständnis dieses Systems beitragen. Das im Halbleiter lokalisierte Elektron sollte sich ohne Überlagerung mit anderen Signalen im Spektralbereich des mittleren Infrarot beobachten lassen. Spektroskopie mit höchster Zeitauflösung kann die Elektroneninjektion verfolgen, während sich im Bereich weniger Nanosekunden die Rekombination identifizieren lassen sollte.

Die gewonnenen Erkenntnisse können ebenfalls dazu dienen, existierende theoretische Modelle für ähnliche Farbstoff-Halbleiter-Systeme auf Merocyanin-Halbleiter-Systeme zu übertragen. Verschiedene experimentell ermittelte Elektroneninjektionsdynamiken konnten durch theoretische Untersuchungen besser verstanden werden. Die vorausgehenden Experimente haben dabei signifikant zu einer Verbesserung der Modelle beigetragen und teilweise eine theoretische Beschreibung erst ermöglicht. Auch für die hier untersuchten Farbstoff-Halbleiter-Systeme existieren erste Ansätze einer Beschreibung der Ladungstransferdynamik, sodass davon ausgegangen werden

kann, dass die entsprechenden Modelle mittels der hier präsentierten Ergebnisse verfeinert werden können und so in Kürze auch für Merocyanin-Halbleiter-Systeme die Dynamik nach Photoanregung inklusive der Ladungstransferreaktion mittels theoretischer Beschreibung genauer verstanden werden kann.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse dieser Arbeit zum einen dazu dienen, natürliche Ladungstransferreaktionen zu verstehen. Durch die Aufklärung der Primärdynamik von Proteorhodopsin konnte ein weiterer Baustein zum Verständnis dieses erst kürzlich entdeckten und für die Energiebilanz der Meere wichtigen Proteins hinzugefügt werden. Zum anderen tragen die Resultate dieser Arbeit auch zum Verständnis eines künstlichen Photosynthesystems (Grätzelzelle) bei und können zur Effizienzsteigerung sowie zur Optimierung genutzt werden. Die durch die Kopplung beeinflussbare Isomerisierungskinetik in Kombination mit isomerisierungsabhängiger Elektroneninjektion kann außerdem zu einer Anwendung der Farbstoff-Halbleiter-Systeme zum lichtinduzierten, reversiblen Verändern makroskopischer Eigenschaften führen.

Literaturverzeichnis

- [1] G. Renger. Photosynthese. In W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl, und H. Ziegler, Hrsg., *Biophysik*. Springer Verlag, 1978.
- [2] J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, und H. Michel. Structure of the Protein Subunits in the Photosynthetic Reaction Center of *Rhodospseudomonas-Viridis* at 3a Resolution. *Nature*, 318(6047):618–624, 1985.
- [3] J. P. Allen, G. Feher, T. O. Yeates, H. Komiya, und D. C. Rees. Structure of the Reaction Center from *Rhodobacter-Sphaeroides* R-26 - the Cofactors .1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 84(16):5730–5734, 1987.
- [4] U. Ermler, G. Fritzsche, S. K. Buchanan, und H. Michel. Structure of the Photosynthetic Reaction-Center from *Rhodobacter-Sphaeroides* at 2.65-Angstrom Resolution - Cofactors and Protein-Cofactor Interactions. *Structure*, 2(10):925–936, 1994.
- [5] M. H. B. Stowell, T. M. McPhillips, D. C. Rees, S. M. Soltis, E. Abresch, und G. Feher. Light-induced structural changes in photosynthetic reaction center: Implications for mechanism of electron-proton transfer. *Science*, 276(5313):812–816, 1997.
- [6] A.R. Holzwarth. Die primären Prozesse der Photosynthese. In Donat-Peter Häder, Hrsg., *Photosynthese*, Seiten 11–20. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1999.
- [7] D. Oesterhelt und W. Stoeckenius. Rhodopsin-Like Protein from Purple Membrane of *Halobacterium-Halobium*. *Nature-New Biol*, 233(39):149–, 1971.
- [8] D. Oesterhelt und W. Stoeckenius. Functions of a New Photoreceptor Membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 70(10):2853–2857, 1973.
- [9] T. Nishikawa, M. Murakami, und T. Kouyama. Crystal structure of the 13-cis isomer of bacteriorhodopsin in the dark-adapted state. *J. Mol. Biol.*, 352(2):319–328, 2005.

- [10] K. Fujimoto, J. Y. Hasegawa, S. Hayashi, S. Kato, and H. Nakatsuji. Mechanism of color tuning in retinal protein: SAC-CI and QM/MM study. *Chem. Phys. Lett.*, 414(1-3):239–242, 2005.
- [11] T. Sasaki, M. Sonoyama, M. Demura, and S. Mitaku. Photobleaching of bacteriorhodopsin solubilized with Triton X-100. *Photochem. Photobiol.*, 81(5):1131–1137, 2005.
- [12] W. R. Briggs und J. L. Spudich, Hrsg. *Handbook of Photosensory Receptors*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2005.
- [13] O. Béjà, L. Aravind, E. V. Koonin, M. T. Suzuki, A. Hadd, L. P. Nguyen, S. Jovanovich, C. M. Gates, R. A. Feldman, J. L. Spudich, E. N. Spudich, und E. F. DeLong. Bacterial rhodopsin: Evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science*, 289(5486):1902–1906, 2000.
- [14] O. Béjà, E. N. Spudich, J. L. Spudich, M. Leclerc, und E. F. DeLong. Proteorhodopsin phototrophy in the ocean. *Nature*, 411(6839):786–789, 2001.
- [15] S. J. Giovannoni, L. Bibbs, J. C. Cho, M. D. Stapels, R. Desiderio, K. L. Vergin, M. S. Rappe, S. Laney, L. J. Wilhelm, H. J. Tripp, E. J. Mathur, und D. F. Barofsky. Proteorhodopsin in the ubiquitous marine bacterium SAR11. *Nature*, 438(7064):82–85, 2005.
- [16] G. Sabehi, A. Loy, K. H. Jung, R. Partha, J. L. Spudich, T. Isaacson, J. Hirschberg, M. Wagner, und O. Béjà. New insights into metabolic properties of marine bacteria encoding proteorhodopsins. *PLoS Biol.*, 3(8):1409–1417, 2005.
- [17] T. Friedrich, S. Geibel, R. Kalmbach, I. Chizhov, K. Ataka, J. Heberle, M. Engelhard, und E. Bamberg. Proteorhodopsin is a light-driven proton pump with variable vectoriality. *J. Mol. Biol.*, 321(5):821–838, 2002.
- [18] R. A. Mathies, C. H. B. Cruz, W. T. Pollard, und C. V. Shank. Direct Observation of the Femtosecond Excited-State Cis-Trans Isomerization in Bacteriorhodopsin. *Science*, 240(4853):777–779, 1988.
- [19] J. Dobler, W. Zinth, W. Kaiser, und D. Oesterhelt. Excited-State Reaction Dynamics of Bacteriorhodopsin Studied by Femtosecond Spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.*, 144(2):215–220, 1988.
- [20] B. O’Regan und M. Grätzel. A Low-Cost, High-Efficiency Solar-Cell Based on Dye-Sensitized Colloidal TiO₂ Films. *Nature*, 353(6346):737–740, 1991.
- [21] R. Ernstorfer, S. Felber, W. Storck, E. Galoppini, Q. Wei, und F. Willig. Distance dependence of heterogeneous electron transfer probed in ultra-high

- vacuum with femtosecond transient absorption. *Res. Chem. Intermed.*, 31(7-8):643–647, 2005.
- [22] M. Helbig, A. Ruseckas, M. M. L. Grage, E. Birckner, S. Rentsch, und V. Sundstrom. Resolving the radical cation formation from the lowest-excited singlet (S-1) state of terthiophene in a TiO₂-SiO₂ hybrid polymer matrix. *Chem. Phys. Lett.*, 302(5-6):587–594, 1999.
- [23] M. Hilgendorff und V. Sundstrom. Ultrafast electron injection and recombination dynamics of dye sensitised TiO₂ particles. *Chem. Phys. Lett.*, 287(5-6):709–713, 1998.
- [24] R. Huber, J. E. Moser, M. Grätzel, und J. Wachtveitl. Real-time observation of photoinduced adiabatic electron transfer in strongly coupled dye/semiconductor colloidal systems with a 6 fs time constant. *J. Phys. Chem. B*, 106(25):6494–6499, 2002.
- [25] C. J. Chen, P. K. A. Wai, und C. R. Menyuk. Soliton Fiber Ring Laser. *Opt. Lett.*, 17(6):417–419, 1992.
- [26] T.-M. Voigt. *Zur Dynamik von Erbium-Faserlasern: Vom Einmodenbetrieb bis zu Pulsstrukturen*. Dissertation, Universität Rostock, 2005.
- [27] C. Rullière. *Femtosecond Laser Pulses: Principles and Experiments*. Springer, 1998.
- [28] E. T. J. Nibbering, O. Duhr, und G. Korn. Generation of intense tunable 20-fs pulses near 400 nm by use of a gas-filled hollow waveguide. *Opt. Lett.*, 22(17):1335–1337, 1997.
- [29] M. Nisoli, S. DeSilvestri, O. Svelto, R. Szipocs, K. Ferencz, C. Spielmann, S. Sartania, und F. Krausz. Compression of high-energy laser pulses below 5 fs. *Opt. Lett.*, 22(8):522–524, 1997.
- [30] W. H. Knox, R. L. Fork, M. C. Downer, R. H. Stolen, C. V. Shank, und J. A. Valdmanis. Optical Pulse-Compression to 8 fs at a 5-Khz Repetition Rate. *Appl. Phys. Lett.*, 46(12):1120–1121, 1985.
- [31] J. K. Ranka, R. S. Windeler, und A. J. Stentz. Visible continuum generation in air-silica microstructure optical fibers with anomalous dispersion at 800 nm. *Opt. Lett.*, 25(1):25–27, 2000.
- [32] J. K. Ranka, R. S. Windeler, und A. J. Stentz. Optical properties of high-delta air-silica microstructure optical fibers. *Opt. Lett.*, 25(11):796–798, 2000.

- [33] R. L. Fork, C. V. Shank, C. Hirlimann, R. Yen, und W. J. Tomlinson. Femtosecond White-Light Continuum Pulses. *Opt. Lett.*, 8(1):1–3, 1983.
- [34] M. K. Reed, M. K. Steinershepard, M. S. Armas, und D. K. Negus. Microjoule-Energy Ultrafast Optical Parametric Amplifiers. *J. Opt. Soc. Am. B*, 12(11):2229–2236, 1995.
- [35] A. Brodeur und S. L. Chin. Band-gap dependence of the ultrafast white-light continuum. *Phys. Rev. Lett.*, 80(20):4406–4409, 1998.
- [36] A. Brodeur und S. L. Chin. Ultrafast white-light continuum generation and self-focusing in transparent condensed media. *J. Opt. Soc. Am. B*, 16(4):637–650, 1999.
- [37] N. Akozbek, A. Becker, und S. L. Chin. Propagation and filamentation of femtosecond laser pulses in optical media. *Laser Phys.*, 15(4):607–615, 2005.
- [38] M. Kolesik, G. Katona, J. V. Moloney, und E. M. Wright. Theory and simulation of supercontinuum generation in transparent bulk media. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.*, 77(2-3):185–195, 2003.
- [39] M. Kolesik, G. Katona, J. V. Moloney, und E. M. Wright. Physical factors limiting the spectral extent and band gap dependence of supercontinuum generation. *Phys. Rev. Lett.*, 91(4), 2003.
- [40] A. Srivastava und D. Goswami. Control of supercontinuum generation with polarization of incident laser pulses. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.*, 77(2-3):325–328, 2003.
- [41] S. Spoerlein. *Femtosekunden-Spektroskopie schnellster Strukturänderungen in Peptid-Chromophor-Komplexen*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2001.
- [42] H. Satzger. *Untersuchung initialer Schritte der Peptidfaltung mit Ultrakurzzeitspektroskopie*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2004.
- [43] R. Huber, H. Satzger, W. Zinth, und J. Wachtveitl. Noncollinear optical parametric amplifiers with output parameters improved by the application of a white light continuum generated in CaF₂. *Opt. Comm.*, 194(4-6):443–448, 2001.
- [44] Bergmann und Schaefer. *Lehrbuch der Experimentalphysik, Optik, Bd. 3. 9. Auflage*, 1993.

- [45] J. E. Midwinter und J. Warner. The effects of phase matching method and of uniaxial crystal symmetry on polar distribution of second-order non-linear optical polarization. *Brit J Appl Phys*, 16(8):1135–1142, 1965.
- [46] T. Wilhelm. *Spektroskopie auf der 10 fs-Zeitskala: Abstimmbare, sichtbare Lichtimpulse durch nichtkollineare parametrische Verstärkung und Untersuchung der S_1 -Dynamik von Azulen*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1998.
- [47] E. Riedle, M. Beutter, S. Lochbrunner, J. Piel, S. Schenkl, S. Spörlein, und W. Zinth. Generation of 10 to 50 fs pulses tunable through all of the visible and the NIR. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.*, 71(3):457–465, 2000.
- [48] I. N. Ross, P. Matousek, M. Towrie, A. J. Langley, und J. L. Collier. The prospects for ultrashort pulse duration and ultrahigh intensity using optical parametric chirped pulse amplifiers. *Opt. Comm.*, 144(1-3):125–133, 1997.
- [49] T. Wilhelm, J. Piel, und E. Riedle. Sub-20-fs pulses tunable across the visible from a blue-pumped single-pass noncollinear parametric converter. *Opt. Lett.*, 22(19):1494–1496, 1997.
- [50] S. Reisner und M. Gutmann. Numerical treatment of UV-pumped, white-light-seeded single-pass noncollinear parametric amplifiers. *J. Opt. Soc. Am. B*, 16(10):1801–1813, 1999.
- [51] G. Cerullo, M. Nisoli, und S. De Silvestri. Generation of 11 fs pulses tunable across the visible by optical parametric amplification. *Appl. Phys. Lett.*, 71(25):3616–3618, 1997.
- [52] G. Cerullo, M. Nisoli, S. Stagira, und S. De Silvestri. Sub-8-fs pulses from an ultrabroadband optical parametric amplifier in the visible. *Opt. Lett.*, 23(16):1283–1285, 1998.
- [53] G. Cerullo, M. Nisoli, S. Stagira, S. De Silvestri, G. Tempea, F. Krausz, und K. Ferencz. Mirror-dispersion-controlled sub-10-fs optical parametric amplifier in the visible. *Opt. Lett.*, 24(21):1529–1531, 1999.
- [54] G. M. Gale, M. Cavallari, T. J. Driscoll, und F. Hache. Sub-20-fs tunable pulses in the visible from an 82-MHz optical parametric oscillator. *Opt. Lett.*, 20(14):1562–1564, 1995.
- [55] G. M. Gale, M. Cavallari, und F. Hache. Femtosecond visible optical parametric oscillator. *J. Opt. Soc. Am. B*, 15(2):702–714, 1998.

- [56] A. Shirakawa, I. Sakane, M. Takasaka, und T. Kobayashi. Sub-5-fs visible pulse generation by pulse-front-matched noncollinear optical parametric amplification. *Appl. Phys. Lett.*, 74(16):2268–2270, 1999.
- [57] A. Shirakawa, I. Sakane, und T. Kobayashi. Pulse-front-matched optical parametric amplification for sub-10-fs pulse generation tunable in the visible and near infrared. *Opt. Lett.*, 23(16):1292–1294, 1998.
- [58] A. Shirakawa und T. Kobayashi. Noncollinearly phase-matched femtosecond optical parametric amplification with a 2000 cm^{-1} bandwidth. *Appl. Phys. Lett.*, 72(2):147–149, 1998.
- [59] J. Piel, M. Beutter, und E. Riedle. 20-50-fs pulses tunable across the near infrared from a blue-pumped noncollinear parametric amplifier. *Opt. Lett.*, 25(3):180–182, 2000.
- [60] R. Szipocs, K. Ferencz, C. Spielmann, und F. Krausz. Chirped Multilayer Coatings for Broad-Band Dispersion Control in Femtosecond Lasers. *Opt. Lett.*, 19(3):201–203, 1994.
- [61] M. Böhm. *Einfluß der Dispersion auf die nichtlineare Ausbreitung von Lichtimpulsen*. Dissertation, Universität Rostock, 2003.
- [62] R. Huber, T. Köhler, M. O. Lenz, E. Bamberg, R. Kalmbach, M. Engelhard, und J. Wachtveitl. pH-dependent photoisomerization of retinal in proteorhodopsin. *Biochemistry*, 44(6):1800–1806, 2005.
- [63] H. Huber, M. Meyer, T. Nägele, I. Hartl, H. Scheer, W. Zinth, und J. Wachtveitl. Primary Photosynthesis in Reaction Centers Containing 4 Different Types of Electron Acceptors at Site H-A. *Chem. Phys.*, 197(3):297–305, 1995.
- [64] T. Nägele, R. Hoche, W. Zinth, und J. Wachtveitl. Femtosecond photoisomerization of cis-azobenzene. *Chem. Phys. Lett.*, 272(5-6):489–495, 1997.
- [65] R. Huber. *Elektronentransfer an Farbstoff-Halbleiter Grenzflächen*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2002.
- [66] S. Rehm, M.O. Lenz, S. Mensch, H. Schwalbe, und J. Wachtveitl. Ultrafast spectroscopy of a photoswitchable 30-amino acid de novo synthesized peptide. *Chem. Phys.*, in press, 2005.
- [67] N. P. Ernsting, S. A. Kovalenko, T. Senyushkina, J. Saam, und V. Farztdinov. Wave-packet-assisted decomposition of femtosecond transient ultraviolet-visible absorption spectra: Application to excited-state intramolecular proton transfer in solution. *J. Phys. Chem. A*, 105(14):3443–3453, 2001.

- [68] S. A. Kovalenko, A. L. Dobryakov, J. Ruthmann, and N. P. Ernsting. Femtosecond spectroscopy of condensed phases with chirped supercontinuum probing. *Phys. Rev. A*, 59(3):2369–2384, 1999.
- [69] S. A. Kovalenko, N. P. Ernsting, and J. Ruthmann. Femtosecond hole-burning spectroscopy of the dye DCM in solution: The transition from the locally excited to a charge-transfer state. *Chem. Phys. Lett.*, 258(3-4):445–454, 1996.
- [70] M. Lorenc, M. Ziolk, R. Naskrecki, J. Karolczak, J. Kubicki, and A. Maciejewski. Artifacts in femtosecond transient absorption spectroscopy. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.*, 74(1):19–27, 2002.
- [71] H. Satzger und W. Zinth. Visualization of transient absorption dynamics - towards a qualitative view of complex reaction kinetics. *Chem. Phys.*, 295(3):287–295, 2003.
- [72] B. Schmidt. *Femtosekunden-Fluoreszenzspektroskopie photoisomerisierender Moleküle*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2004.
- [73] B. Schmidt, S. Laimgruber, W. Zinth, and P. Gilch. A broadband Kerr shutter for femtosecond fluorescence spectroscopy. *Appl Phys B-Lasers O*, 76(8):809–814, 2003.
- [74] B. Schmidt, C. Sobotta, B. Heinz, S. Laimgruber, M. Braun, and P. Gilch. Excited-state dynamics of bacteriorhodopsin probed by broadband femtosecond fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, 1706(1-2):165–173, 2005.
- [75] J. R. de la Torre, L. M. Christianson, O. Béjà, M. T. Suzuki, D. M. Karl, J. Heidelberg, and E. F. DeLong. Proteorhodopsin genes are distributed among divergent marine bacterial taxa. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100(22):12830–12835, 2003.
- [76] G. Sabehi, R. Massana, J. P. Bielawski, M. Rosenberg, E. F. DeLong, and O. Béjà. Novel proteorhodopsin variants from the Mediterranean and Red Seas. *Environ. Microbiol.*, 5(10):842–849, 2003.
- [77] J. C. Venter, K. Remington, J. F. Heidelberg, A. L. Halpern, D. Rusch, J. A. Eisen, D. Y. Wu, I. Paulsen, K. E. Nelson, W. Nelson, D. E. Fouts, S. Levy, A. H. Knap, M. W. Lomas, K. Nealson, O. White, J. Peterson, J. Hoffman, R. Parsons, H. Baden-Tillson, C. Pfannkoch, Y. H. Rogers, and H. O. Smith. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 304(5667):66–74, 2004.

- [78] R.A. Krebs, U. Alexiev, R. Partha, A. DeVita, und M.S. Braiman. Detection of fast light-activated H^+ release and M intermediate formation from proteorhodopsin. *BMC Physiol.*, 2(1):5–13, 2002.
- [79] A. K. Dioumaev, L. S. Brown, J. Shih, E. N. Spudich, J. L. Spudich, und J. K. Lanyi. Proton transfers in the photochemical reaction cycle of proteorhodopsin. *Biochemistry*, 41(17):5348–5358, 2002.
- [80] G. Varo, L.S. Brown, M. Lakatos, und J.K. Lanyi. Characterization of the photochemical reaction cycle of proteorhodopsin. *Biophys. J.*, 84(2):1202–1207, 2003.
- [81] M. Lakatos, J.K. Lanyi, J. Szakacs, und G. Varo. The Photochemical Reaction Cycle of Proteorhodopsin at Low pH. *Biophys. J.*, 84(5):3252–3256, 2003.
- [82] U. Haupts, J. Tittor, und D. Oesterhelt. Closing in on bacteriorhodopsin: Progress in understanding the molecule. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 28:367–399, 1999.
- [83] I. Lutz, A. Sieg, A. A. Wegener, M. Engelhard, I. Boche, M. Otsuka, D. Oesterhelt, J. Wachtveitl, und W. Zinth. Primary reactions of sensory rhodopsins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 98(3):962–967, 2001.
- [84] R. A. Krebs, D. Dunmire, R. Partha, und M. S. Braiman. Resonance Raman characterization of proteorhodopsin’s chromophore environment. *J. Phys. Chem. B*, 107(31):7877–7883, 2003.
- [85] A. K. Dioumaev, H. T. Richter, L. S. Brown, M. Tanio, S. Tuzi, H. Saito, Y. Kimura, R. Needleman, und J. K. Lanyi. Existence of a proton transfer chain in bacteriorhodopsin: Participation of Glu-194 in the release of protons to the extracellular surface. *Biochemistry*, 37(8):2496–2506, 1998.
- [86] S. P. Balashov, E. S. Imasheva, T. G. Ebrey, N. Chen, D. R. Menick, und R. K. Crouch. Glutamate-194 to cysteine mutation inhibits fast light-induced proton release in bacteriorhodopsin. *Biochemistry*, 36(29):8671–8676, 1997.
- [87] L. S. Brown, J. Sasaki, H. Kandori, A. Maeda, R. Needleman, und J. K. Lanyi. Glutamic-Acid-204 is the Terminal Proton Release Group at the Extracellular Surface of Bacteriorhodopsin. *J. Biol. Chem.*, 270(45):27122–27126, 1995.
- [88] A.K. Dioumaev, J.M. Wang, Z. Balint, G. Varo, und J.K. Lanyi. Proton Transport by Proteorhodopsin requires that the Retinal Schiff Base Counterion Asp-97 be anionic. *Biochemistry*, 42(21):6582–6587, 2003.

-
- [89] E. S. Imasheva, K. Shimono, S. P. Balashov, J. M. Wang, U. Zadok, M. Sheves, N. Kamo, und J. K. Lanyi. Formation of a long-lived photoproduct with a deprotonated Schiff base in proteorhodopsin, and its enhancement by mutation of Asp227. *Biochemistry*, 44(32):10828–10838, 2005.
- [90] M. Lorch, S. Shastri, I. Weber, und C. Glaubitz. Photocycle of Proteorhodopsin investigated by solid state NMR. *GDCh Magnetic Resonance Division 27th Discussion Meeting*, 2005.
- [91] C. Glaubitz. persönliche Mitteilung, 2005.
- [92] V. Bergo, J. J. Amsden, E. N. Spudich, J. L. Spudich, und K. J. Rothschild. Structural changes in the photoactive site of proteorhodopsin during the primary photoreaction. *Biochemistry*, 43(28):9075–9083, 2004.
- [93] B. R. Kelemen, M. Du, und R. B. Jensen. Proteorhodopsin in living color: diversity of spectral properties within living bacterial cells. *Biochim. Biophys. Acta - Biomemb.*, 1618(1):25–32, 2003.
- [94] R. Partha, R. Krebs, T. L. Caterino, und M. S. Braiman. Weakened coupling of conserved arginine to the proteorhodopsin chromophore and its counterions implies structural differences from bacteriorhodopsin. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, 1708(1):6–12, 2005.
- [95] S. J. Strickler und R. A. Berg. Relationship between Absorption Intensity and Fluorescence Lifetime of Molecules. *J. Chem. Phys.*, 37(4):814–822, 1962.
- [96] G. G. Kochendoerfer und R. A. Mathies. Spontaneous emission study of the femtosecond isomerization dynamics of rhodopsin. *J. Phys. Chem.*, 100(34):14526–14532, 1996.
- [97] H. Inoue, M. Hida, N. Nakashima, und K. Yoshihara. Picosecond Fluorescence Lifetimes of Anthraquinone Derivatives - Radiationless Deactivation Via Intramolecular and Intermolecular Hydrogen-Bonds. *J. Phys. Chem.*, 86(16):3184–3188, 1982.
- [98] Li Song, El-Sayed M. A., und J. K. Lanyi. Protein Catalysis of the Retinal Subpicosecond Photoisomerisation in the Primary Process of Bacteriorhodopsin Photosynthesis. *Science*, 261:891–894, 1993.
- [99] K. C. Hasson, F. Gai, und P. A. Anfinrud. The photoisomerization of retinal in bacteriorhodopsin: Experimental evidence for a three-state model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 93(26):15124–15129, 1996.

- [100] P. Hamm, M. Zurek, T. Roschinger, H. Patzelt, D. Oesterhelt, and W. Zinth. Femtosecond spectroscopy of the photoisomerisation of the protonated Schiff base of all-trans retinal. *Chem. Phys. Lett.*, 263(5):613–621, 1996.
- [101] B. Hou, N. Friedman, S. Ruhman, M. Sheves, and M. Ottolenghi. Ultrafast spectroscopy of the protonated Schiff bases of free and C-13=C-14 locked retinals. *J. Phys. Chem. B*, 105(29):7042–7048, 2001.
- [102] D. Oesterhelt. The structure and mechanism of the family of retinal proteins from halophilic archaea. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 8(4):489–500, 1998.
- [103] J. Herbst, K. Heyne, and R. Diller. Femtosecond infrared spectroscopy of bacteriorhodopsin chromophore isomerization. *Science*, 297(5582):822–825, 2002.
- [104] R. R. Birge und L. M. Hubbard. Molecular-Dynamics of Cis-Trans Isomerization in Rhodopsin. *J. Am. Chem. Soc.*, 102(7):2195–2205, 1980.
- [105] M. Verhoefen. *Kurzzeitspektroskopische Charakterisierung eines spezifisch mutierten sensorischen Rhodopsins*. Diplomarbeit, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, 2005.
- [106] R. Gonzalez-Luque, M. Garavelli, F. Bernardi, M. Merchan, M. A. Robb, and M. Olivucci. Computational evidence in favor of a two-state, two-mode model of the retinal chromophore photoisomerization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97(17):9379–9384, 2000.
- [107] A. Warshel und Z. T. Chu. Nature of the surface crossing process in bacteriorhodopsin: Computer simulations of the quantum dynamics of the primary photochemical event. *J. Phys. Chem. B*, 105(40):9857–9871, 2001.
- [108] S. Ruhman, B. X. Hou, N. Friedman, M. Ottolenghi, and M. Sheves. Following evolution of bacteriorhodopsin in its reactive excited state via stimulated emission pumping. *J. Am. Chem. Soc.*, 124(30):8854–8858, 2002.
- [109] H. Abramczyk. Femtosecond primary events in bacteriorhodopsin and its retinal modified analogs: Revision of commonly accepted interpretation of electronic spectra of transient intermediates in the bacteriorhodopsin photocycle. *J. Chem. Phys.*, 120(23):11120–11132, 2004.
- [110] <http://www.nobel.se/chemistry/laureates/>.
- [111] H. Taube. Electron-Transfer between Metal-Complexes - a Retrospective View (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Edit*, 23(5):329–339, 1984.

-
- [112] R. A. Marcus. Electron transfer reactions in chemistry: Theory and experiment (Nobel Lecture). *Angew. Chem., Int. Ed.*, 32(8):1111–1121, 1993.
- [113] J. Hopfield. Phenomenes electrique au niveau des membrane biologique. *Proc. 29th Int. Congr. Societe Chimie Physique*, 1976.
- [114] J. Jortner. Temperature Dependent Activation Energy for Electron Transfer between Biological Molecules. *J. Chem. Phys.*, 64:4860, 1976.
- [115] T.H. James. *The Theory of the Photographic Process*. MacMillan, New York, 1966.
- [116] A. A. Ajmera, S. B. Sawant, V. G. Pangarkar, und A. A. C. M. Beenackers. Solar-assisted photocatalytic degradation of benzoic acid using titanium dioxide as a photocatalyst. *Chem. Eng. Technol.*, 25(2):173–180, 2002.
- [117] M. R. Dhananjeyan, V. Kandavelu, und R. Renganathan. An investigation of the effects of Cu^{2+} and heat treatment on TiO_2 photooxidation of certain pyrimidines. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 158(2):577–582, 2000.
- [118] Z. Ding, G. Q. Lu, und P. F. Greenfield. Role of the crystallite phase of TiO_2 in heterogeneous photocatalysis for phenol oxidation in water. *J. Phys. Chem. B*, 104(19):4815–4820, 2000.
- [119] S. Wen, J. C. Zhao, G. Y. Sheng, J. M. Fu, und P. A. Peng. Photocatalytic reactions of phenanthrene at TiO_2 /water interfaces. *Chemosphere*, 46(6):871–877, 2002.
- [120] M. Muneer und D. Bahnemann. Semiconductor-mediated photocatalyzed degradation of two selected pesticide derivatives, terbacil and 2,4,5-tribromoimidazole, in aqueous suspension. *Appl. Catal. B-Environ*, 36(2):95–111, 2002.
- [121] D. Robert, S. Parra, C. Pulgarin, A. Krzton, und J. V. Weber. Chemisorption of phenols and acids on TiO_2 surface. *Appl. Surf. Sci.*, 167(1-2):51–58, 2000.
- [122] I. K. Konstantinou, V. A. Sakkas, und T. A. Albanis. Photocatalytic degradation of the herbicides propanil and molinate over aqueous TiO_2 suspensions: identification of intermediates and the reaction pathway. *Appl. Catal. B-Environ*, 34(3):227–239, 2001.
- [123] C. M. So, M. Y. Cheng, J. C. Yu, und P. K. Wong. Degradation of azo dye Procion Red MX-5B by photocatalytic oxidation. *Chemosphere*, 46(6):905–912, 2002.

- [124] T. C. An, X. H. Zhu, and Y. Xiong. Feasibility study of photoelectrochemical degradation of methylene blue with three-dimensional electrode-photocatalytic reactor. *Chemosphere*, 46(6):897–903, 2002.
- [125] N. San, A. Hatipoglu, G. Kocturk, and Z. Cinar. Photocatalytic degradation of 4-nitrophenol in aqueous TiO₂ suspensions: Theoretical prediction of the intermediates. *J. Photochem. Photobiol. A*, 146(3):189–197, 2002.
- [126] X. Z. Li, H. L. Liu, F. B. Li, and C. L. Mak. Photoelectrocatalytic oxidation of rhodamine B in aqueous solution using Ti/TiO₂ mesh photoelectrodes. *J. Environ. Sci. Health, Part A*, 37(1):55–69, 2002.
- [127] G. Colon, M. C. Hidalgo, and J. A. Navio. Influence of carboxylic acid on the photocatalytic reduction of Cr(VI) using commercial TiO₂. *Langmuir*, 17(22):7174–7177, 2001.
- [128] G. A. Epling und C. Lin. Investigation of retardation effects on the titanium dioxide photodegradation system. *Chemosphere*, 46(6):937–944, 2002.
- [129] G. M. Liu, J. C. Zhao, and H. Hidaka. ESR spin-trapping detection of radical intermediates in the TiO₂-assisted photo-oxidation of sulforhodamine B under visible irradiation. *J. Photochem. Photobiol. A*, 133(1-2):83–88, 2000.
- [130] O. Enea, J. Moser, und M. Grätzel. Achievement of Incident Photon to Electric-Current Conversion Yields Exceeding 80-Percent in the Spectral Sensitization of Titanium-Dioxide by Coumarin. *J. Electroanal. Chem.*, 259(1-2):59–65, 1989.
- [131] M. K. Nazeeruddin, A. Kay, I. Rodicio, R. Humphrybaker, E. Muller, P. Liska, N. Vlachopoulos, und M. Grätzel. Conversion of Light to Electricity by Cis-X₂bis(2,2'-Bipyridyl-4,4'-Dicarboxylate)Ruthenium(II) Charge-Transfer Sensitizers (X = Cl-, Br-, I-, Cn-, and Scn-) on Nanocrystalline TiO₂ Electrodes. *J. Am. Chem. Soc.*, 115(14):6382–6390, 1993.
- [132] M. K. Nazeeruddin, P. Liska, J. Moser, N. Vlachopoulos, und M. Grätzel. Conversion of Light into Electricity with Trinuclear Ruthenium Complexes Adsorbed on Textured TiO₂ Films. *Helv. Chim. Acta*, 73(6):1788–1803, 1990.
- [133] U. Bach, D. Lupo, P. Comte, J. E. Moser, F. Weissortel, J. Salbeck, H. Spreitzer, und M. Grätzel. Solid-state dye-sensitized mesoporous TiO₂ solar cells with high photon-to-electron conversion efficiencies. *Nature*, 395(6702):583–585, 1998.

- [134] B. O'Regan, J. Moser, M. Anderson, und M. Grätzel. Vectorial Electron Injection into Transparent Semiconductor Membranes and Electric-Field Effects on the Dynamics of Light-Induced Charge Separation. *J. Phys. Chem.*, 94(24):8720–8726, 1990.
- [135] B. O'Regan und D. T. Schwartz. Large enhancement in photocurrent efficiency caused by UV illumination of the dye-sensitized heterojunction TiO₂/RuLL ' NCS/CuSCN: Initiation and potential mechanisms. *Chem. Mater.*, 10(6):1501–1509, 1998.
- [136] A. Hagfeldt, U. Bjorksten, und M. Grätzel. Photocapacitance of nanocrystalline oxide semiconductor films: Band-edge movement in mesoporous TiO₂ electrodes during UV illumination. *J. Phys. Chem.*, 100(20):8045–8048, 1996.
- [137] L. Gundlach, S. Felber, W. Storck, E. Galoppini, Q. Wei, und F. Willig. Femtosecond two-photon photoemission probing electron injection from the excited singlet state of perylene attached to a long rigid tripod anchor-cum-spacer on rutile TiO₂(110). *Res. Chem. Intermed.*, 31(1-3):39–46, 2005.
- [138] P. Huppmann. *Femtosekundenspektroskopie an photosynthetischen Systemen: Elektronentransfer in Purpurbakterien und Isomerisierung des Retinals in Bakteriorhodopsin*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2000.
- [139] W. Schmickler. Effect of Quantum Vibrations on Electrochemical Outer Sphere Redox Reactions. *Electrochim. Acta*, 21(3):161–168, 1976.
- [140] R. Eichberger und F. Willig. Ultrafast Electron Injection from Excited Dye Molecules into Semiconductor Electrodes. *Chem. Phys.*, 141(1):159–173, 1990.
- [141] J. M. Lanzafame, R. J. D. Miller, A. A. Muentner, und B. A. Parkinson. Ultrafast Charge-Transfer Dynamics at SnS₂ Surfaces. *J. Phys. Chem.*, 96(7):2820–2826, 1992.
- [142] L. G. C. Rego und V. S. Batista. Quantum dynamics simulations of interfacial electron transfer in sensitized TiO₂ semiconductors. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(26):7989–7997, 2003.
- [143] W. R. Duncan, W. M. Stier, und O. V. Prezhdo. Ab initio nonadiabatic molecular dynamics of the ultrafast electron injection across the alizarin-TiO₂ interface. *J. Am. Chem. Soc.*, 127(21):7941–7951, 2005.
- [144] L. G. C. Rego, S. G. Abuabara, und V. S. Batista. Model study of coherent quantum dynamics of hole states in functionalized semiconductor nanostructures. *J. Chem. Phys.*, 122(15):154709, 2005.

- [145] D. M. Newns. Self-Consistent Model of Hydrogen Chemisorption. *Phys Rev*, 178(3):1123–, 1969.
- [146] S. Ramakrishna, F. Willig, und V. May. Photoinduced ultrafast electron injection from a surface attached molecule: Control of electronic and vibronic distributions via vibrational wave packets. *Phys Rev B*, 62(24):R16330–R16333, 2000.
- [147] S. Ramakrishna und F. Willig. Pump-probe spectroscopy of ultrafast electron injection from the excited state of an anchored chromophore to a semiconductor surface in UHV: A theoretical model. *J. Phys. Chem. B*, 104(1):68–77, 2000.
- [148] M. Thoss, I. Kondov, und H. B. Wang. Theoretical study of ultrafast heterogeneous electron transfer reactions at dye-semiconductor interfaces. *Chem. Phys.*, 304(1-2):169–181, 2004.
- [149] C. H. G. Williams. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, 21:377–, 1856.
- [150] H. W. Vogel. *Ber.*, 6:1302–, 1873.
- [151] A. H. Herz, R. P. Danner, und G. Janusoni. Adsorption of Dyes and Their Surface Spectra. *Adv. Chem. Ser.*, (79):173–, 1968.
- [152] T. Tani und S. I. Kikuchi. Calculation of Electronic Energy Levels of Various Photographic Sensitizing and Desensitizing Dyes in Emulsions. *Photogr. Sci. Eng.*, 11(3):129–, 1967.
- [153] A. H. Herz. Aggregation of Sensitizing Dyes in Solution and Their Adsorption onto Silver-Halides. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 8(4):237–298, 1977.
- [154] I. H. Leubner. Quantitative Correlations between Sensitization by Dyes and Their Redox Potentials .3. Unsensitized Fine-Grain Agbrl Emulsion. *Photogr. Sci. Eng.*, 24(3):138–143, 1980.
- [155] J. W. Mitchell. Spectral Sensitization and Desensitization. *J. Imaging Sci.*, 30(3):91–101, 1986.
- [156] D. V. Sviridov und A. I. Kulak. Photosensitization of Semiconductor Electrode by Partially Aggregated Cyanine Dyes. *New J. Chem.*, 15(7):539–544, 1991.
- [157] I. Kondov. persönliche Mitteilung, 2005.
- [158] H. Meier und A. Haus. Zum Problem Organischer Photodioden. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 72(17):631–631, 1960.

- [159] H. Meier und W. Albrecht. Zum Problem Der PN-Übergänge Zwischen Organischen Und Anorganischen Photoleitern. *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.*, 68(8-9):898–, 1964.
- [160] H. Meier und W. Albrecht. Zum Problem Der PN-Übergänge Zwischen Organischen Und Anorganischen Photoleitern. *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.*, 69(2):160–, 1965.
- [161] K. Kudo und T. Moriizumi. Photoelectric P-N-Junction Cells Using Organic-Dyes. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 20(7):L553–L556, 1981.
- [162] Y. Harima, K. Yamashita, und H. Suzuki. Spectral Sensitization in an Organic P-N-Junction Photovoltaic Cell. *Appl. Phys. Lett.*, 45(10):1144–1145, 1984.
- [163] A. K. Ghosh und T. Feng. Merocyanine Organic Solar-Cells. *J. Appl. Phys.*, 49(12):5982–5989, 1978.
- [164] T. Moriizumi und K. Kudo. Merocyanine-dye photovoltaic cell on a plastic film. *Appl. Phys. Lett.*, 38(2):85–86, 1981.
- [165] T. Skotheim, J. M. Yang, J. Otvos, und M. P. Klein. Photo-Voltaic Properties of Au Merocyanine TiO₂ Sandwich Cells 1: Dark Electrical-Properties and Transient Effects. *J. Chem. Phys.*, 77(12):6144–6150, 1982.
- [166] D. L. Morel, E. L. Stogryn, A. K. Ghosh, T. Feng, P. E. Purwin, R. F. Shaw, C. Fishman, G. R. Bird, und A. P. Piechowski. Organic Photovoltaic Cells - Correlations between Cell Performance and Molecular-Structure. *J. Phys. Chem.*, 88(5):923–933, 1984.
- [167] A. Kay. *Solar cells based on dye-sensitized nanocrystalline TiO₂ electrodes*. Dissertation, École Polytechnique Fédéral de Lausanne, 1994.
- [168] D. J. Williams. Organic Polymeric and Non-Polymeric Materials with Large Optical Nonlinearities. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 23(9):690–703, 1984.
- [169] E. Buncel und S. Rajagopal. Solvatochromism and Solvent Polarity Scales. *Acc. Chem. Res.*, 23(7):226–231, 1990.
- [170] L. M. Loew, S. Scully, L. Simpson, und A. S. Waggoner. Evidence for a Charge-Shift Electrochromic Mechanism in a Probe of Membrane-Potential. *Nature*, 281(5731):497–499, 1979.
- [171] A. Grinvald, R. D. Frostig, E. Lieke, und R. Hildesheim. Optical Imaging of Neuronal-Activity. *Physiol. Rev.*, 68(4):1285–1366, 1988.

- [172] F.A. Nüesch. *From Monomers to the Solid State. A Photophysical Investigation of a Merocyanine Dye*. Dissertation, École Polytechnique Fédéral de Lausanne, 1995.
- [173] A. Dreuw. persönliche Mitteilung, 2005.
- [174] J. Davila und A. Harriman. Photoreactions of Macrocyclic Dyes Bound to Human-Serum-Albumin. *Photochem. Photobiol.*, 51(1):9–19, 1990.
- [175] A. Harriman. (Photo)Isomerization Dynamics of Merocyanine Dyes in Solution. *J. Photochem. Photobiol. A*, 65(1-2):79–93, 1992.
- [176] A. C. Benniston und A. Harriman. Photoisomerization of a sterically constrained merocyanine dye. *J. Chem. Soc. Faraday T.*, 94(13):1841–1847, 1998.
- [177] F. Nüesch, J. E. Moser, V. Shklover, und M. Grätzel. Merocyanine aggregation in mesoporous networks. *J. Am. Chem. Soc.*, 118(23):5420–5431, 1996.
- [178] J. Olmsted. Calorimetric Determinations of Absolute Fluorescence Quantum Yields. *J. Phys. Chem.*, 83(20):2581–2584, 1979.
- [179] J. Moser und M. Grätzel. Light-Induced Electron-Transfer in Colloidal Semiconductor Dispersions - Single Vs Dielectronic Reduction of Acceptors by Conduction-Band Electrons. *J. Am. Chem. Soc.*, 105(22):6547–6555, 1983.
- [180] <http://ruby.colorado.edu/smyth/min/tio2.html>.
- [181] H. Zimmermann und R. Boyn. Donor-Type Tm Centers in ZnS Crystals. *Phys. Status Solidi B*, 139(2):533–545, 1987.
- [182] K. Kilsa, E. I. Mayo, N. S. Lewis, J. R. Winkler, und H. B. Gray. Anchoring group and ligand effects on TiO₂ binding properties of photoelectrochemical solar cell dyes. *Abstr Pap Am Chem S*, 225:U167–U168, 2003.
- [183] K. S. Finnie, J. R. Bartlett, und J. L. Woolfrey. Vibrational spectroscopic study of the coordination of (2,2'-bipyridyl-4,4'-dicarboxylic acid)ruthenium(II) complexes to the surface of nanocrystalline titania. *Langmuir*, 14(10):2744–2749, 1998.
- [184] A. Vittadini, A. Selloni, F. P. Rotzinger, und M. Grätzel. Structure and energetics of water adsorbed at TiO₂ anatase (101) and (001) surfaces. *Phys. Rev. Lett.*, 81(14):2954–2957, 1998.
- [185] A. Vittadini, A. Selloni, F. P. Rotzinger, und M. Grätzel. Formic acid adsorption on dry and hydrated TiO₂ anatase (101) surfaces by DFT calculations. *J. Phys. Chem. B*, 104(6):1300–1306, 2000.

- [186] P. Persson und S. Lunell. Binding of bi-isonicotinic acid to anatase TiO₂ (101). *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 63(2):139–148, 2000.
- [187] J. E. Moser und M. Grätzel. Observation of Temperature Independent Heterogeneous Electron-Transfer Reactions in the Inverted Marcus Region. *Chem. Phys.*, 176(2-3):493–500, 1993.
- [188] D. Duonghong, J. Ramsden, und M. Grätzel. Dynamics of Interfacial Electron-Transfer Processes in Colloidal Semiconductor Systems. *J. Am. Chem. Soc.*, 104(11):2977–2985, 1982.
- [189] A. C. Benniston, K. S. Gulliya, und A. Harriman. Spin-orbital coupling effects on the photophysical properties and photocytotoxicity of merocyanine dyes. *J. Chem. Soc. Faraday T.*, 93(15):2491–2501, 1997.
- [190] A. C. Benniston, A. Harriman, und C. McAvoy. Photoisomerization of sterically hindered merocyanine dyes. *J. Chem. Soc. Faraday T.*, 93(20):3653–3662, 1997.
- [191] J. Widengren und C. A. M. Seidel. Manipulation and characterization of photo-induced transient states of Merocyanine 540 by fluorescence correlation spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2(15):3435–3441, 2000.
- [192] A. Mishra, R. K. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, und G. B. Behera. Cyanines during the 1990s: A review. *Chem. Rev.*, 100(6):1973–2011, 2000.
- [193] M. A. El-Sayed. Spin-Orbit Coupling and Radiationless Processes in Nitrogen Heterocyclics. *J. Chem. Phys.*, 38(12):2834–, 1963.
- [194] J. E. Moser. Daten zur Verfügung gestellt, 2002.

*„Der Undank ist immer eine Art Schwäche.
Ich habe nie gesehen, dass tüchtige Menschen
undankbar gewesen wären.“
J.W.G.*

Danksagung

Wie meinte einmal ein schlauer und leicht zynischer Postdoc zu mir: „Die einzige Sache an der die Leser deiner Arbeit wirklich interessiert sind ist die Danksagung. Also vergiss nicht, dich bei allen und jedem zu bedanken.“ Nun dann ...

Mein Dank gilt zunächst **Prof. Josef Wachtveitl** für die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Gruppe anzufertigen, sowie für seine gute Betreuung während meiner ganzen Doktorandenzeit. Durch seine offene und freundliche Art habe ich die Entscheidung nach Frankfurt zu kommen nicht nur wissenschaftlich nie bereut. Gedankt sei ihm auch für die fachlichen Diskussionen, die vielen Freiheiten bei der Durchführung dieser Arbeit sowie für sein Verständnis.

Weiterhin sei **Dr. Robert Huber** gedankt. Ohne ständige Telefonate mit ihm in München und seine großzügige Vorabplanung des Labors in Frankfurt („Stückzahl eins existiert nicht“) hätte der Aufbau sicher deutlich länger gedauert. Danken möchte ich ihm auch für viele fruchtbare Diskussionen wissenschaftlicher und nicht wissenschaftlicher Natur sowie seine Hilfe beim Aufbau während seiner Frankfurter Zeit.

Auch 'cand. Dr. leider nur phil. nat.' **Karsten Neumann** möchte ich an dieser Stelle für die vielen ausgiebigen fachlichen Diskussionen und privaten Unterhaltungen danken. Am Ende blieb doch meist jeder von uns bei seiner Meinung, ließ sich keineswegs überzeugen und machte meistens was er wollte. Ich bin gespannt, ob ich die ersten *wirklichen* Messungen auf der dunklen Seite noch in Frankfurt miterlebe.

Dr. Rolf Kalmbach und **Prof. Martin Engelhard** bin ich zu Dank verpflichtet für die Zusammenarbeit und das Zur-Verfügung-Stellen von Proben im Rahmen des Retinalproteinprojektes. Sofern über Probenmengen gesprochen wird liegen definitiv noch Welten zwischen Physikern und Biochemikern.

Bedanken möchte ich mich auch bei **Dr. Bernhard Schmidt** und **Dr. Peter Gilch** für die zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen im Rahmen des Retinalproteinprojektes.

Außerdem möchte ich mich noch bei **Thomas Köhler** für die Zusammenarbeit an den Proteorhodopsinen bedanken.

Mein Dank geht weiterhin an **Prof. Jacques Moser** und **Prof. Michael Grätzel** für die Bereitstellung der Proben für das Halbleiterprojekt in fast schon industriüblichen Mengen.

Ivan Kondov möchte ich für die fruchtbare Zusammenarbeit bei der Untersuchung der verworrenen Pfade des Merocyanins danken.

Stephan Rehm und **Prof. Harald Schwalbe** sei gedankt für die Zusammenarbeit im Rahmen des Azopeptidprojektes, dass trotz guter Ergebnisse keinen Einzug in diese Arbeit gefunden hat. Außerdem danke ich Stephan für die kurzfristigen, mal schnell zur Kontrolle durchgeführten NMR-Messungen.

Auch **Dr. Victor Matylitsky** bin ich zu Dank verpflichtet für die Zusammenarbeit bei den Alizarin-Halbleiter-Systemen.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Mitgliedern des BMO in München, namentlich **Tobias Schrader**, **Christopher Root** und **Arne Sieg**, für die freundliche Unterstützung und ständige Bereitschaft meine Fragen zu beantworten, gerade während meiner Anfangszeit und meines Messaufenthaltes in München. Gedankt sei auch **Dr. Helmut Satzger**, der mir während dieser Zeit sowohl seine Anlage als auch seine Wohnung vertrauensvoll überließ.

Danken möchte ich ebenfalls **Dr. Rainer Hegger**, der während meiner gesamten Zeit *der* Ansprechpartner bei Computerproblemen war und immer helfen konnte. Außerdem war er als Mitglied der Kaffeerunden immer für anspruchsvollere Diskussionen zu begeistern.

Dank geht auch an **Prof. Gerhard Stock** in dessen Räumen ich zu Beginn meiner Zeit in Frankfurt untergekommen bin. Die Integration in seiner Gruppe war sehr angenehm und hat zum Wohlfühlen in Frankfurt von Anfang an sehr viel beigetragen.

Danken möchte ich ebenfalls zwei ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Stock. Mit **Dr. Birgit Strodel** und **Dr. Stephan Dilthey** war es eine Freude in zahlreichen Kaffee- und Teerunden über alles zu diskutieren, sich gegenseitig aufzumuntern und festzustellen, dass jeder die gleichen, mitunter zahlreichen Tiefpunkte in seiner Promotionszeit durchmacht.

Weiterhin möchte ich noch **Lisa Lorenz** danken, die in der Endphase dieser Arbeit den „Außenposten“ Biophysik mit aufrecht erhalten hat. So bin ich mir dort nicht vollständig abgespalten vom restlichen AK Wachtveitl vorgekommen.

Dr. Peter Pickel danke ich für den Versuch einer fairen Einteilung der zu verteilenden Lehrverpflichtungen, sowie zum Beitragen zum angenehmen Arbeitsklima.

Zu großen Dank bin ich auch den **Mitarbeiter der mechanischen Werkstatt** verpflichtet. Ohne ihre *professionellen* Ausführungen meiner *vagen* Vorstellungen wäre ich verloren gewesen.

Mein Dank geht ebenfalls an **Claudia v. Sulecki Madic** im Sekretariat Wachtveitl/Stock für die freundliche und zügige Unterstützung bei den Problemen des Universitätsalltags.

Zusätzlich möchte ich mich bei allen noch nicht genannten Mitgliedern der Arbeitsgruppen Wachtveitl, Stock und Dreuw bedanken, die zu dem angenehmen Arbeitsklima beigetragen haben. Neben vielen anderen sind dies vor allem **Dr. Andreas Dreuw, Michael Wormit, Jan-Hendrick Starcke, Jürgen Plötner, Ute Förster, Mirka Verhoefen, Sergiu Amarie** und **Meike Köhler**.

Auch den **Mitgliedern der Arbeitskreise Mäntele, Hauser und Hellwig** im IfB sei gedankt, die mich in der Endphase dieser Arbeit in der Biophysik aufgenommen haben und mit denen es eine Freude war Mittag zu essen. In diesem Zusammenhang geht gesonderter Dank an **Ernst Winter** für die Malerarbeiten in dem Büro, in dem ich die letzten Monate meiner Promotionszeit verbracht habe.

Für das Korrekturlesen nach der, wie ich finde gewöhnungsbedürftigen neuen Rechtschreibung, sowie für zahlreiche wertvolle Verbesserungsvorschläge bedanke ich mich bei **Lisa Lorenz, Carsten Krejtschi, Karsten Neumann, Dr. Andreas Dreuw** und **Prof. Josef Wachtveitl**.

Auch bei **Anke**, **Alex**, **Lisa B.** und **Sylvia**, die indirekt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, weil sie in einer schwierigen Phase einfach da waren, möchte ich mich bedanken.

Nicht zuletzt gilt mein Dank auch **meiner Familie** die mich während der ganzen Zeit unterstützt hat und mir immer das Gefühl gibt, dass *alles* irgendwie zu schaffen ist.

Publikationen

- M.O. Lenz und J. Wachtveitl
Electron transfer and triplet state formation in merocyanine/TiO₂ systems
in preparation, 2006
- V.V. Matylitsky, M.O. Lenz und J. Wachtveitl
Observation of pH-dependence of the back-electron transfer dynamics in alizarin-TiO₂ systems: importance of trap states
Journal of Physical Chemistry B, in Druck, 2006
- M.O. Lenz, R. Huber, B. Schmidt, P. Gilch, E. Bamberg, R. Kalmbach, M. Engelhard und J. Wachtveitl
First Steps of Photoisomerization of Proteorhodopsin
Biophysical Journal, in Druck, 2006
- S. Rehm, M.O. Lenz, S. Mensch, H. Schwalbe und J. Wachtveitl
Ultrafast Spectroscopy of a Photoswitchable 30-amino acid de novo synthesized peptide
Chemical Physics, in Druck, 2006
- R. Huber, T. Köhler, M.O. Lenz, E. Bamberg, R. Kalmbach, M. Engelhard und J. Wachtveitl
pH-Dependent Photoisomerization of Retinal in Proteorhodopsin
Biochemistry, 44(6): 1800-1806, 2005
- T. Voigt, M.O. Lenz, F. Mitschke, E. Roldán und G.J. de Valcárcel
Experimental investigation of Risken-Nummedal-Graham-Haken laser instability in fiber ring lasers
Applied Physics A, 79: 175-183, 2004
- T.-M. Voigt, M.O. Lenz und F. Mitschke
Risken-Nummedal-Graham-Haken instability finally confirmed experimentally
Proceedings of SPIE, 4429: 112-115, 2001

Lebenslauf

Name: Martin Oliver Lenz
Geburtsdatum: 30. August 1974
Geburtsort: Lübeck
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

08/85 – 07/94	Schulbildung Trave-Gymnasium Lübeck
07/94 – 06/95	Wehrdienst Tastfunker, Marinefernmeldegruppe 31
10/95 – 08/98	Studium Universität Rostock Studiengang: Physik (Diplom)
08/98 – 06/99	University of Georgia, Athens, USA Studiengang: Master of Physics Spektroskopische Untersuchungen an inorganischen Halbleitern bei tiefen Temperaturen, Prof. U. Happek
07/99 – 03/01	Universität Rostock Studiengang: Physik, Abschluss: Diplom, Note: sehr gut Diplomarbeit: Risiken-Nummedal-Graham-Haken-Instabilität in einem Erbium-Faserlaser, Prof. F. Mitschke
seit 10/01	Doktorand am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Universität Frankfurt, Thema: Kurzzeitspektroskopische Untersuchungen photoinduzierter Ladungstransferreaktionen, Prof. J. Wachtveitl

