

Wechselwirkung zwischen Licht und Materie

In den folgenden Kapiteln wird auf einige optische Spektroskopien eingegangen. Dazu sollen zuerst verschiedene Aspekte der Wechselwirkung von Licht und Materie betrachtet werden. Licht wird klassisch als elektromagnetische Welle beschrieben. Abb. 1 zeigt eine ebene elektromagnetische Welle der Frequenz ω , bei der das elektrische Feld in x - und das magnetische Feld in y -Richtung schwingt. Die Welle breitet sich in z -Richtung aus.

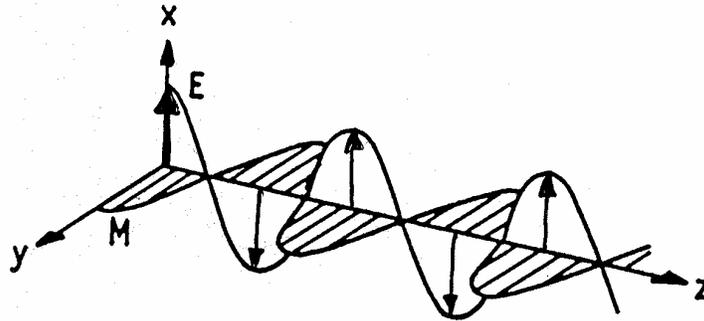


Abb. 1: Darstellung einer elektromagnetischen Welle.

Für das elektrische Feld gilt

$$\vec{E}_x(z, t) = \hat{x} E_0 \cdot \cos(kz - \omega t) ,$$

mit der Wellenzahl $k = 2\pi/\lambda$, der Frequenz $\omega = 2\pi/T$ und der Amplitude des elektrischen Feldes E_0 . Elektromagnetische Wellen sind transversale Wellen; sie lassen sich polarisieren. In Abb. 2 sind die Projektionen der E -Vektoren einer unpolarisierten, einer in x -(y -)Richtung polarisierten und einer partiell polarisierten elektromagnetischen Welle auf die Ebene senkrecht zur Ausbreitungsrichtung zu sehen.

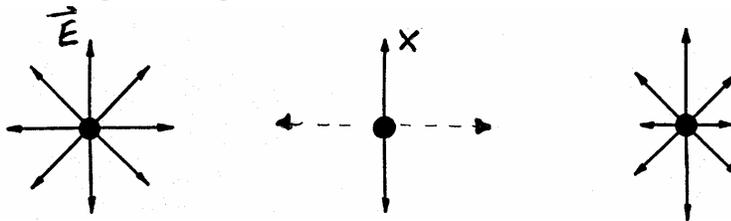


Abb. 2: Polarisation einer ebenen elektromagnetischen Welle. Links: unpolarisiert; Mitte: linear in x -(y -)Richtung polarisiert, rechts: partiell polarisiert.

Des Weiteren kann auch zirkuläre Polarisation auftreten. Hier beschreibt der elektrische Feldvektor eine spiralförmige Bewegung im Raum. Diese Situation kann als Überlagerung von zwei linear polarisierten ebenen Wellen beschrieben werden, deren Polarisationsrichtungen senkrecht zueinander stehen und zwischen denen ein Phasenunterschied von 90° besteht (Abb. 3). Mathematisch kann die rechtszirkuläre Welle also mit

$$\vec{E}_R(z_0, t) = \frac{1}{2} (\hat{x} E_0 \cos \omega t - \hat{y} E_0 \sin \omega t)$$

und die linkszirkuläre Welle mit

$$\vec{E}_L(z_0, t) = \frac{1}{2} (\hat{x} E_0 \cos \omega t + \hat{y} E_0 \sin \omega t)$$

dargestellt werden.

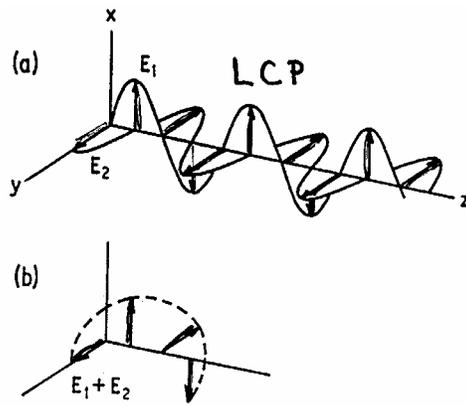


Abb. 3: Darstellung einer zirkular polarisierten Welle (b) mit zwei senkrecht zu einander linear polarisierten Wellen mit 90° Phasenunterschied (a).

Aus der Quantenmechanik folgt, dass Licht als aus Teilchen (Photonen) bestehend beschrieben werden kann. Die Energie E und der Betrag des Impulses p des Photons sind gegeben durch

$$E = h\nu = \hbar\omega \quad \text{und} \quad p = \frac{E}{c} = \frac{h}{\lambda}.$$

Das Spektrum der elektromagnetischen Wellen erstreckt sich über viele Größenordnungen (Tab. 1).

Tab. 1: Elektromagnetische Strahlung verschiedener Energien.

Name and (Approx.) Range of Radiation	Energy per Photon (J)	Frequency ν (Hz)	Wavelength λ (m)	Common Units of Length for Comparison
Electrons	10^{-11}	10^{22}	10^{-13}	picometer (pm)
	10^{-12}	10^{21}	10^{-12}	
	10^{-13}	10^{20}	10^{-11}	
γ -rays	10^{-14}	10^{19}	10^{-10}	nanometer (nm)
	10^{-15}	10^{18}	10^{-9}	
X-rays (Neutrons)	10^{-16}	10^{17}	10^{-8}	micrometer (μm)
	10^{-17}	10^{16}	10^{-7}	
u.v.	10^{-18}	10^{15}	10^{-6}	micrometer (μm)
	10^{-19}	10^{14}	10^{-5}	
Visible light	10^{-20}	10^{13}	10^{-4}	millimeter (mm)
	10^{-21}	10^{12}	10^{-3}	
Infrared	10^{-22}	10^{11}	10^{-2}	millimeter (mm)
	10^{-23}	10^{10}	10^{-1}	
Microwaves	10^{-24}	10^9	1	meter (m)
	10^{-25}	10^8	10^1	
Radio frequencies	10^{-26}	10^7	10^2	kilometer (km)
	10^{-27}	10^6	10^3	
	10^{-28}	10^5	10^4	
	10^{-29}	10^4	10^5	
	10^{-30}	10^3	10^6	

In früheren Kapiteln wurde schon auf elektromagnetische Strahlung mit verschiedenen Energien eingegangen (z.B. γ -Strahlen (Mößbauereffekt), Röntgenstrahlen (Röntgenbeugung), Radiostahlen (NMR)). Im Folgenden wird insbesondere das infrarote bzw. sichtbare Spektrum betrachtet. In der Regel wird dabei die Energie der Photonen in Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ angegeben ($E \sim p \sim \tilde{\nu}$). Es gilt

$$\tilde{\nu} = \frac{k}{2\pi} = \lambda^{-1} \quad [\text{cm}^{-1}].$$

Zum Beispiel entspricht $\lambda = 10^{-6}$ m der Wellenzahl $\tilde{\nu} = 10^4$ cm^{-1} .

Wechselwirkungsprozesse

Betrachtet werden Moleküle mit den Zuständen i und j (Abb. 4).

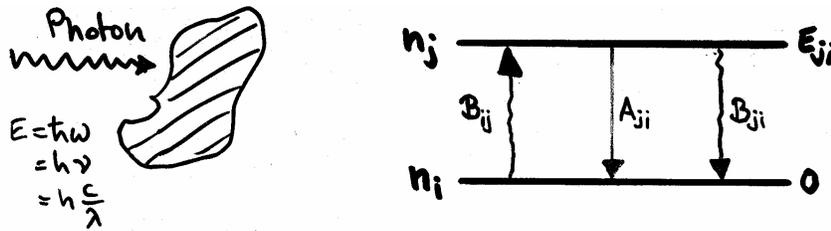


Abb. 4: Ein Photon trifft auf Materie, die die Zustände i und j besitzt.

Die Besetzungszahlen für die beiden Zustände mit Energieunterschied $E_{ji} = E_j - E_i$ sind n_i und n_j . Treten nun Photonen in Wechselwirkung mit dem Zwei-Zustands-System, so können drei Prozesse beobachtet werden: Zum einen kann ein Photon, dessen Energie gleich E_{ji} ist, absorbiert werden und ein Elektron des betrachteten Moleküls in den höheren Zustand j anregen (induzierte Absorption). Dieser Prozess wird mit dem Einsteinkoeffizienten B_{ij} beschrieben. Analog kann das Photon Moleküle im angeregten Zustand j veranlassen, unter Emission eines Photons mit gleicher Frequenz und Ausstrahlrichtung in den tieferen Zustand i überzugehen (induzierte Emission, B_{ji}). Schließlich kann ein angeregtes Molekül seine Anregungsenergie auch spontan, d.h. ohne äußeres Feld, durch Lichtemission abgeben (spontane Emission, A_{ji}). Die Einsteinkoeffizienten hängen miteinander zusammen. Für die Koeffizienten der induzierten Emission bzw. Absorption gilt

$$B_{ij} = B_{ji} .$$

Im thermischen Gleichgewicht sind die Zustände gemäß dem Boltzmann-Gesetz verteilt,

$$\frac{n_j}{n_i} = \exp\left(-E_{ji}/kT\right) .$$

Das Plancksche Strahlungsgesetz lautet für die spektrale Energiedichte

$$I(\omega_{ij}) = \frac{\omega_{ij}^2}{\pi^2 c^3} \frac{1}{e^{\hbar\omega_{ij}/kT} - 1} \hbar \omega_{ij} ,$$

wobei der erste Term die Zustandsdichte, der zweite den Bosefaktor und der letzte die Energie der Photonen beschreibt. Im thermischen Gleichgewicht gilt

$$I(\omega_{ij})B_{ij}n_i = I(\omega_{ij})B_{ji}n_j + A_{ji}n_j .$$

Daraus folgt

$$A_{ji} = \frac{\hbar\omega_{ij}^3}{\pi^2 c^3} B_{ij} .$$

Dies bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von spontaner Emission im Vergleich zur induzierten Emission mit größer werdender Übergangsfrequenz zwischen den Zuständen stark zunimmt.

Ein angeregtes Atom kann also seine Anregungsenergie in Form von elektromagnetischer Strahlung wieder abgeben (spontane Emission). Dies kann klassisch mit einem gedämpften harmonischen Oszillator beschrieben werden. Daraus folgt, dass die Amplitude der Schwingung exponentiell abnimmt. Für die Besetzungszahl im Niveau j bedeutet dies

$$n_j(t) = n_j(0) e^{-A_{ji}t} ,$$

wobei die Lebensdauer $\tau = A_{ji}^{-1}$ ist. Die Linienbreite Γ folgt aus der Heisenbergschen Unschärferelation $\Gamma\tau = \hbar$ zu

$$\Gamma = \hbar A_{ji} .$$

Als Linienform des Übergangs erhält man aus der Fouriertransformation der gedämpften Schwingung eine Lorentzfunktion,

$$I(\omega) = \frac{1}{(\omega - \omega_{ij})^2 + \left(\frac{\Gamma}{2}\right)^2} .$$

Im Experiment können weitere Linienverbreiterungseffekte auftreten durch molekulare Bewegungen (Dopplereffekt), Strukturheterogenität, Effekte von der Umgebung (Lösungsmittel).

Im Folgenden soll die induzierte Absorption näher betrachtet werden. Das elektromagnetische Feld wird als kleine Störung (erster Ordnung) der gegebenen Ladungsverteilung behandelt. Es wird ein Zweiniveausystem betrachtet (Abb. 5).

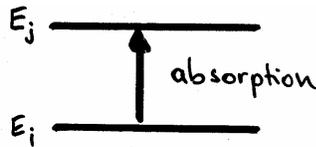


Abb. 5: Induzierte Absorption bei einem Zweiniveausystem.

Ohne äußeres Feld erhält man aus der zeitunabhängigen Schrödingergleichung die Eigenwerte E und Wellenfunktionen ψ der Zustände i und j ,

$$H \psi_i = E_i \psi_i , \quad H \psi_j = E_j \psi_j ,$$

wobei H der Hamiltonoperator ist. Wird nun das elektromagnetische Feld eingeschaltet, so kann dessen Einfluss mit dem zeitabhängigen Operator $V(t)$ beschrieben werden. Wird nur die elektrische Dipolwechselwirkung betrachtet, so folgt

$$V(t) = -\vec{\mu} \cdot \vec{E}_0 \cos \omega t = -\frac{1}{2} \vec{\mu} \cdot \vec{E}_0 (e^{i\omega t} + e^{-i\omega t})$$

mit dem Dipoloperator $\vec{\mu}$. Der Term mit positivem Exponenten beschreibt die Absorption, der mit negativem Exponenten die stimulierte Emission. Für den neuen Hamiltonoperator gilt

$$H' = H + V(t) .$$

Nach den Regeln der quantenmechanischen Störungsrechnung stellt sich die Lösung als Linearkombination der Lösungen für die beiden Zustände ohne Einwirkung des elektromagnetischen Feldes dar,

$$\Psi(t) = C_i(t) \psi_i(t) + C_j(t) \psi_j(t) ,$$

wobei die Koeffizienten C zeitabhängig sind. Wird dieser Ansatz in die zeitabhängige Schrödingergleichung eingesetzt, so ergibt sich

$$[H + V(t)] \psi(t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \psi(t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} [C_i(t) \psi_i e^{-iE_i t/\hbar} + C_j(t) \psi_j e^{-iE_j t/\hbar}] .$$

Daraus folgt nach Ausführung der Differentiation und Verwendung der zeitunabhängigen Schrödingergleichung

$$V(t)\Psi(t) = i\hbar \dot{C}_i \psi_i e^{-iE_i t/\hbar} + i\hbar \dot{C}_j \psi_j e^{-iE_j t/\hbar} .$$

Durch Multiplikation von der linken Seite mit ψ_j^* und Integration über die Ortskoordinaten folgt (unter Verwendung der bracket-Notation)

$$i\hbar \frac{\partial C_j}{\partial t} = \langle \psi_j | V | \psi_i \rangle C_i e^{i(E_j - E_i)t/\hbar} + \langle \psi_j | V | \psi_j \rangle C_j .$$

Mit den Anfangsbedingungen $C_i = 1$ und $C_j = 0$ folgt ($\Delta E = E_j - E_i$)

$$i\hbar \frac{\partial C_j}{\partial t} = \langle \psi_j | V | \psi_i \rangle e^{i\Delta E t/\hbar} .$$

Durch Integration von $t' = 0 \rightarrow t$ erhält man

$$\begin{aligned} C_j(t) &= \frac{-i}{2\hbar} \langle \psi_j | \bar{\mu} | \psi_i \rangle \bar{E}_0 \int_0^t e^{i(\Delta E - \hbar\omega)t'/\hbar} dt' \\ &= \frac{1}{2} \langle \psi_j | \bar{\mu} | \psi_i \rangle \bar{E}_0 \frac{1 - e^{i(\Delta E - \hbar\omega)t/\hbar}}{(\Delta E - \hbar\omega)} . \end{aligned}$$

Für das Betragsquadrat von C_j folgt

$$|C_j|^2 = \left| \langle \psi_j | \bar{\mu} | \psi_i \rangle \bar{E}_0 \right|^2 \cdot \frac{\sin^2[(\Delta E - \hbar\omega)t/2\hbar]}{(\Delta E - \hbar\omega)^2} .$$

Der Ausdruck innerhalb der 'brackets' stellt das sogenannte Übergangsmatrixelement dar, der rechte Ausdruck gleicht einer Spaltfunktion. Er ist groß, falls $\hbar\omega$ ungefähr gleich ΔE ist. Dies bedeutet, dass Absorption induziert wird, wenn diese Bedingung erfüllt ist. Für die Wahrscheinlichkeit für Absorption ergibt sich dann

$$\frac{dP_j}{dt} = \frac{d}{dt} \int_{-\infty}^{\infty} |C_j|^2 d\omega = \left| \langle \psi_j | \bar{\mu} | \psi_i \rangle \bar{E}_0 \right|^2 \cdot \frac{\pi}{2\hbar^2} .$$

Wird wieder der Einsteinkoeffizient für induzierte Absorption eingeführt,

$$\frac{dP_j}{dt} = B_{ij} I(\omega),$$

mit

$$I(\omega) = \frac{|E_0|^2}{8\pi},$$

so ergibt sich

$$B_{ij} = \left| \langle \psi_j | \bar{\mu} | \psi_i \rangle \bar{E}_0 \right|^2 \cdot \frac{4\pi^2}{\hbar^2} \frac{1}{|E_0|^2} .$$

Wird über alle Orientierungen des dreidimensionalen Raumes gemittelt, so erhält man

$$B_{ij} = \frac{4}{3} \frac{\pi^2}{\hbar^2} \left| \langle \psi_j | \bar{\mu} | \psi_i \rangle \right|^2 .$$

Somit hängt die Lichtabsorption von der Energiedichte $I(\omega)$ und Dipolstärke

$$D_{ij} = \left| \langle \psi_j | \vec{\mu} | \psi_i \rangle \right|^2$$

ab. Letztere ist mit dem Extinktionskoeffizienten ε_{ij} wie folgt verknüpft:

$$D_{ij} = 9.18 \cdot 10^{-3} \int \frac{\varepsilon_{ij}(\nu)}{\nu} d\nu, \text{ mit der Einheit Debye}^2 [\text{D}^2] \text{ (1 e\AA = 4.8 D).}$$

Für das Zustandekommen der verschiedenen Energiezustände gibt es mehrere Ursachen (Abb. 6). Im Gegensatz zu den elektronischen Zuständen sind die Energieabstände der Schwingungszustände in etwa äquidistant, da das Potential oft annähernd harmonisch ist. Rotationszustände sind ebenfalls äquidistant, spielen bei Biomolekülen in Lösung aber keine Rolle. Für freie Translationen ist das Energiespektrum kontinuierlich. Im thermischen Gleichgewicht sind die Energieniveaus nach Boltzmann besetzt,

$$\frac{n_j}{n_i} = e^{-\Delta E / kT}.$$

Elektronisch angeregte Zustände existieren bei Raumtemperatur nicht, da $\Delta E \gg kT \approx 200 \text{ cm}^{-1}$ ist. Lokale Atomschwingungen haben $\Delta E > 200 \text{ cm}^{-1}$ und sind bei 300 K im Grundzustand. Langwellige, kollektive Schwingungszustände sind dagegen thermisch angeregt.

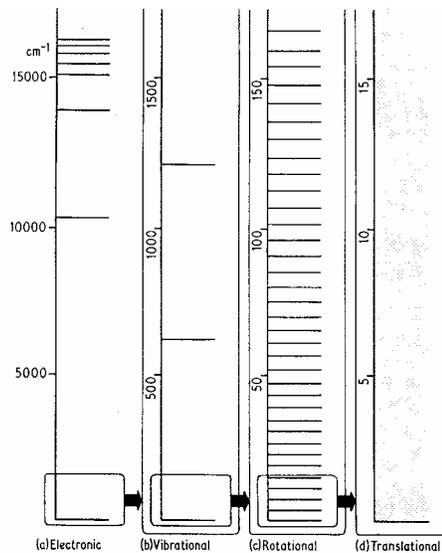


Abb. 6: Skizze der elektronischen, Vibrations-, Rotations-, und translatorischen Energiezustände.

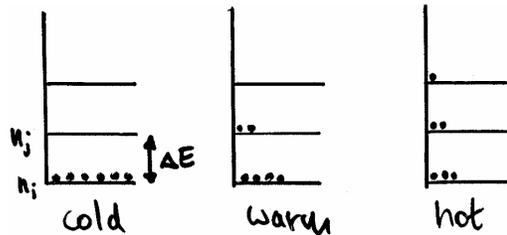


Abb. 7: Schema der Energieniveaubesetzung bei verschiedenen Temperaturen.

Elektronische Übergänge

Die meisten elektronischen Übergänge erfolgen aufgrund von elektrischer Dipolwechselwirkung. Wir haben gesehen, dass die Übergangswahrscheinlichkeit proportional zu

$$I \propto |\langle j | \vec{r} | i \rangle \cdot \vec{E}|^2$$

ist ($\vec{\mu} = e \vec{r}$). Das Übergangsmatrixelement in den eckigen Klammern beschreibt die Fähigkeit des Lichts, den Zustand i so zu verändern, dass er dem Zustand j gleicht.

Für Dipolübergänge gelten die Auswahlregeln

$$\Delta E = h\nu,$$

$$\Delta l = \pm 1.$$

Die zwei Regeln ergeben sich aus der Energie- und Drehimpulserhaltung bei der Photon-Molekülwechselwirkung. Das Photon ist ein Teilchen mit Spin 1. Sind die Auswahlregeln nicht erfüllt, so spricht man von 'verbotenen Übergängen', die vergleichsweise geringe Oszillatorenstärke aufweisen (Abb. 8).

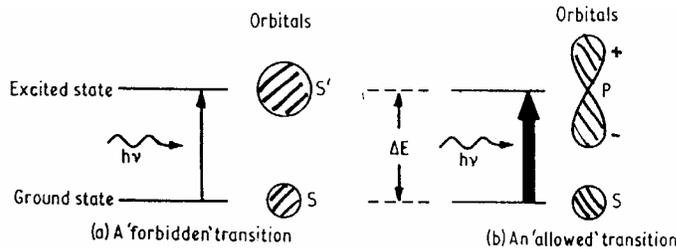


Abb. 8: Erlaubte und verbotene Übergänge.

Das freie Elektronenmodell

In Molekülen mit konjugierten Doppelbindungen können sich die Bindungselektronen quasi-frei über einen großen Bereich bewegen. Ein Beispiel dafür ist in Abb. 9 zu sehen.

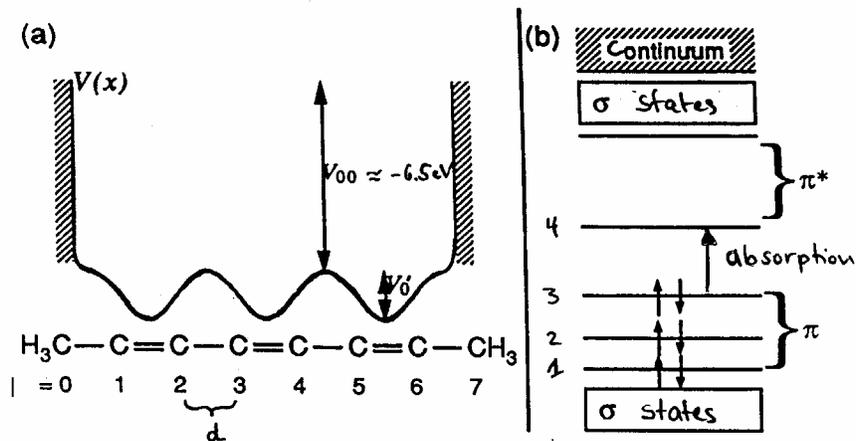


Abb. 9: Potential (a) und Termschema (b) einer Kette aus Kohlenstoffatomen.

Zur Berechnung des Energiespektrums des Moleküls kann näherungsweise ein Kastenpotential angenommen werden. Die Länge des Kastens ist $L = (2n+1)d$, wobei d der Abstand zwischen den Kohlenstoffatomen und n die Anzahl der Doppelbindungen ist. Man erhält aus der Schrödingergleichung mit den entsprechenden Randbedingungen folgende Wellenfunktion,

$$\psi_r(x) = \sqrt{\frac{2}{(2n-1)d}} \sin \frac{\pi r x}{(2n+1)d}.$$

Hier ist x die Ortskoordinate und r die Quantenzahl des Zustandes. Für die Energie der Zustände erhält man

$$E_r = \frac{h^2 r^2}{8md^2(2n+1)^2}.$$

Wird ein realistischeres Modell verwendet, das die verschiedenen Abstände zwischen Doppel- und Einfachbindung der C-Atome ($d(\text{C}=\text{C}) = 1.35 \text{ \AA}$, $d(\text{C}-\text{C}) = 1.46 \text{ \AA}$) und statt des konstanten Potentials am Boden des Kastenpotentials ein wellenförmiges Potential berücksichtigt, so erhält man aus Störungsrechnungen einen Korrekturterm für die Berechnung der Energie. Für das erste Absorptionsband (Übergang von Niveau 3 zu 4 im obigen Fall; allgemein: $r \rightarrow r+1$, $r = n$, da eine Doppelbindung einem gefüllten Niveau entspricht) erhält man

$$\Delta E = E_{n+1} - E_n = \frac{h^2}{8md^2} \frac{1}{2n+1} + 0.83 \left(1 - \frac{1}{2n}\right) V_0',$$

mit dem Korrekturpotential $V_0' = 2.45 \text{ eV}$ (der zweite Term beschreibt die Korrektur durch das wellenförmige Potential). Für größere n (längere Kohlenstoffkette) nimmt also die Übergangsenergie ab und damit die Absorptionswellenlänge zu. Abb. 10 zeigt dies für konjugierte Kohlenwasserstoff-Ketten.

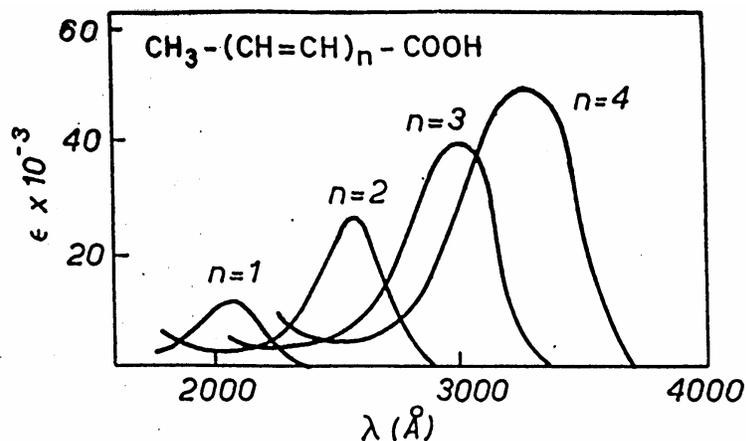


Abb. 10: Absorption von konjugierten Kohlenwasserstoff-Ketten.

In Abb. 11 sind die experimentellen Absorptionsmaxima in Abhängigkeit von n zu sehen. Ebenfalls eingetragen sind die theoretischen Werte, die mit dem wellenförmigen Potential und dem Hückelmodell berechnet wurden.

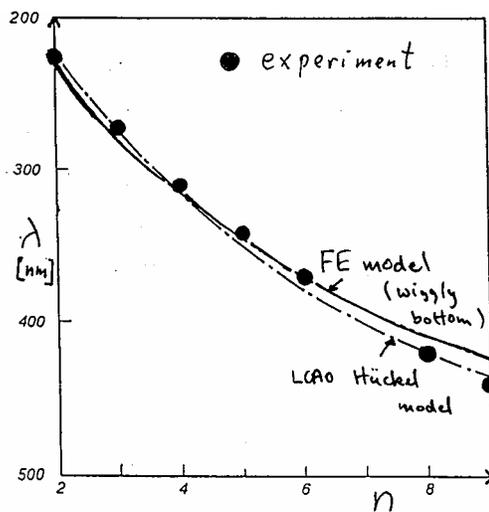


Abb. 11: Absorptionsmaximum in Abhängigkeit von n (Punkte). Ebenfalls eingezeichnet sind die theoretischen Werte unter Annahme eines Kastenpotentials mit wellenförmigem Potential des Bodens und unter Annahme der LCAO-Methode (Hückelmodell).

Elektronische Übergänge zwischen Molekülorbitalen

Die Lichtabsorption der Proteine bzw. Nukleinsäuren kann relativ komplex sein. Allgemein gilt, je delocalisierter ein Elektronensystem ist, desto größer ist die Wellenlänge des Übergangs. So verursachen die delocalisierten π -Orbitale im Häm das Soretband, das bei (Oxy)Hämoglobin sein Maximum zwischen 410 und 440 nm hat. Im nahen ultravioletten Bereich (< 400 nm) absorbieren kleine konjugierte Systeme wie Tyrosin, Tryptophan, Phenyl-alanin und Pyrrole. Im fernen ultravioletten Bereich (< 200 nm) treten die Absorptionen der Aminosäureseitenketten und des Peptidrückgrats auf. Im sichtbaren Bereich gibt es auch d-d Übergänge von Nebengruppenmetallionen, die verboten und daher verhältnismäßig schwach sind. Außerdem gibt es Ladungstransferübergänge. Sie treten z. B. beim Häm zwischen den Orbitalen auf, die in einem Zustand am Zentralatom (Metall) und im anderen Zustand im Porphyrin konzentriert sind. Diese treten beim Oxyhämoglobin im nahen Infrarot auf.

Im Folgenden soll die Lichtabsorption eines kleineren Moleküls (Formaldehyd) näher betrachtet werden. Im Prinzip können die elektronischen Zustände mit der Schrödingergleichung berechnet werden. Da dies sehr schwierig ist, werden Näherungsmethoden verwendet. Es sind viele Elektronen relativ lokalisiert bei einem Kern, so dass sich deren Orbitale nicht sehr von denen des isolierten Atoms unterscheiden. Abb. 12 zeigt ein Modell des Formaldehydmoleküls.

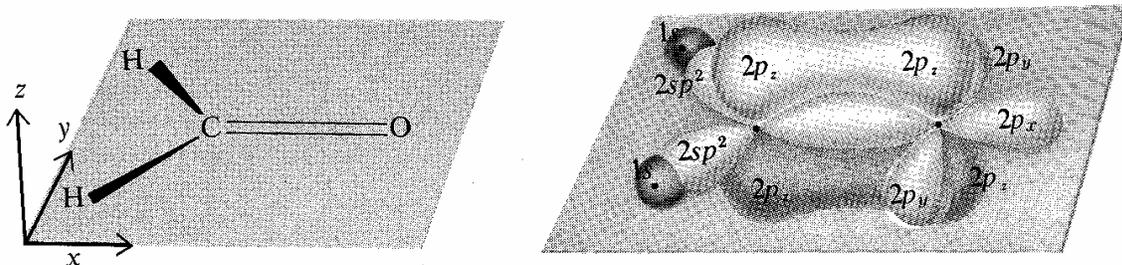
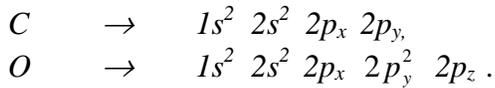
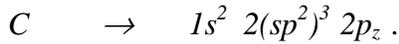


Abb. 12: Das Formaldehydmolekül und ein Schema der auftretenden Bindungen.

Die vier Atome des Formaldehydmoleküls haben insgesamt 16 Elektronen. Jedes Wasserstoffatom hat ein Elektron im $1s$ Atomorbital. Die sechs Elektronen des Kohlenstoffs und die 8 Elektronen des Sauerstoffs können wie folgt beschrieben werden,



Verbinden sich diese Atome zu Formaldehyd, so werden die Atomorbitale verändert. Da Formaldehyd einen Winkel von 120° zwischen den Kohlenstoffatomen aufweist, muss der Kohlenstoff folgendermaßen beschrieben werden



Das $2s$ -Orbital und zwei der $2p$ -Orbitale bilden zusammen ein $2sp^2$ -Hybridorbital. Zwei dieser Orbitale binden mit den $1s$ -Orbitalen der Wasserstoffatome. Das dritte geht eine Bindung mit dem $2p_x$ -Orbital des Sauerstoffs ein. Es handelt sich um eine σ -Bindung, da die Achse zwischen den Kernen in keiner Knotenebene des Orbitals enthalten ist. Ist sie in einer Knotenebene enthalten, wird von einer π -Bindung gesprochen. Des Weiteren wird eine π -Bindung von den p_z -Orbitalen des Sauerstoffs und des Kohlenstoffs gebildet. Die zwei verbleibenden Elektronen des Sauerstoffs befinden sich in dem p_y -Orbital. Dieses nicht-bindende Orbital (n-Orbital, 'lone pair') und das π -Orbital sind im elektronischen Grundzustand voll besetzt (Abb. 13).

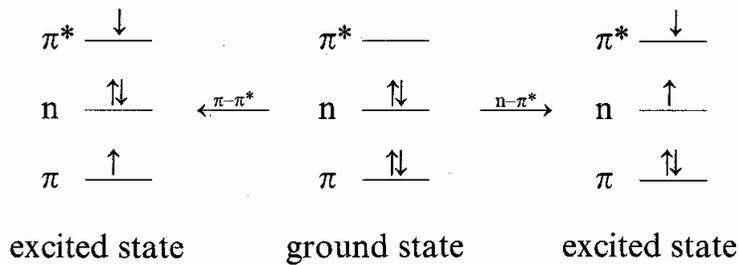


Abb. 13: Termschema des Formaldehyds.

Die π -Bindung der p_z -Orbitale des Sauerstoffs und des Kohlenstoffs wurden durch Linearkombination der Orbitale gebildet,

$$\psi_\pi = 2p_z(C) + 2p_z(O).$$

Die zweite mögliche Linearkombination ergibt

$$\psi_{\pi^*} = 2p_z(C) - 2p_z(O).$$

Dieses anti-bindende π^* Orbital hat eine höhere Energie als das bindende π -Orbital (Abb. 13). Die zwei elektronischen Energieübergänge mit den niedrigsten Energieunterschieden sind durch den Übergang eines Elektrons vom n -Orbital zum π^* -Orbital ($n \rightarrow \pi^*$ Übergang) bzw. eines Elektrons vom π -Orbital zum π^* -Orbital ($\pi \rightarrow \pi^*$ Übergang) gegeben. Zur Berechnung der Intensität des Übergangs muss das Übergangsdipolmoment betrachtet werden. Für obige Übergänge sind dies

$$\langle \psi_{\pi^*} | \vec{\mu} | \psi_\pi \rangle \quad \text{und} \quad \langle \psi_{\pi^*} | \vec{\mu} | \psi_n \rangle.$$

Diese Integrale können mit Hilfe von Symmetrieargumenten untersucht werden. Ist der Integrand ungerade, d.h. verändert sich nur das Vorzeichen bei Spiegelung an einer der drei Ebenen, die durch das kartesische Koordinatensystem gegeben sind, so verschwindet das Integral. Wir betrachten zuerst das Integral $\langle \psi_{\pi^*} | \mu | \psi_{\pi} \rangle$. π ist gerade bei Spiegelung an der yz -Ebene ($\pi(x) = \pi(-x)$), während π^* für diese Spiegelung ungerade ist ($\pi^*(x) = -\pi^*(-x)$) (Abb. 12 und Abb. 14).

Function:	Viewed along:		Symmetry reflected through:		
	x axis	y axis	xy	xz	yz
Molecular orbitals					
π			Odd	Even	Even
π^*			Odd	Even	Odd
n			Even	Odd	None
Dipole operators					
μ_x			Even	Even	Odd
μ_y			Even	Odd	Even
μ_z			Odd	Even	Even

Abb. 14: Symmetrie der Molekülorbitale und der Dipoloperatoren von Formaldehyd.

Daraus folgt, dass das Produkt $\pi\pi^*$ ungerade ist und somit die Integration Null ergibt. Die Integration in y - und z -Richtungen müssen nicht mehr betrachtet werden. Die Wellenfunktionen sind zueinander orthogonal. Genauso folgt $\langle \pi | n \rangle = \langle \pi^* | n \rangle = 0$.

Zur Auswertung von $\langle \psi_{\pi^*} | \mu | \psi_{\pi} \rangle$ ist es vorteilhaft, die drei kartesischen Komponenten des Dipoloperators getrennt zu betrachten. Daraus folgt (Abb. 14): $\langle \psi_{\pi^*} | \mu_x | \psi_{\pi} \rangle$ ist nicht Null, da das Produkt der Symmetrien von π , π^* und μ_x unter Spiegelung an der xy , yz oder xz -Ebene gerade ist. $\langle \psi_{\pi^*} | \mu_y | \psi_{\pi} \rangle$ ($\langle \psi_{\pi^*} | \mu_z | \psi_{\pi} \rangle$) ist Null, da die resultierende Symmetrie bei Spiegelung an der xz oder yz (xy oder yz) Ebene ungerade ist. Das bedeutet, dass der ($\pi \rightarrow \pi^*$)-Übergang erlaubt ist, da sein Übergangsdipolmoment nicht verschwindet. Allerdings kommt es nur zu einer Absorption, falls der elektrische Feldvektor des eingestrahlten Lichts eine Komponente in x -Richtung hat. Man sagt, dass der Übergang entlang der $C=O$ -Bindung polarisiert ist. In praxi kommt es auch bei anderen elektrischen Feldvektorroutungen zur Absorption, da keine reinen Orbitalzustände vorliegen.

Für den ($n \rightarrow \pi^*$)-Übergang gilt: $\langle \psi_{\pi^*} | \mu_x | \psi_n \rangle$ ist Null, da die Symmetrie bei Spiegelung an der xy oder xz -Ebene ungerade ist. $\langle \psi_{\pi^*} | \mu_y | \psi_n \rangle$ ($\langle \psi_{\pi^*} | \mu_z | \psi_n \rangle$) ist Null, da die resultierende Symmetrie bei Spiegelung an der xy (xz) Ebene ungerade ist. Dieser Übergang ist also nicht erlaubt, d.h. er ist aufgrund der Symmetrie verboten. Allerdings kann auch hier ein Übergang angeregt werden, die Absorption ist jedoch relativ gering (Abb. 15).

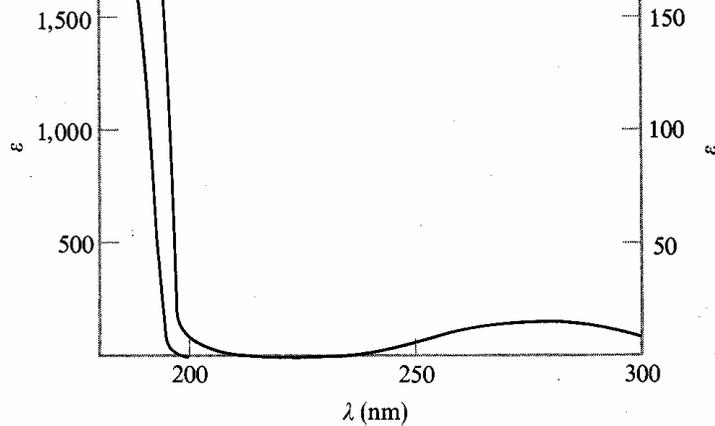


Abb. 15: Absorptionsspektrum von Aceton ($\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$) in n-Hexan.

Der ($n \rightarrow \pi^*$)-Übergang ist bei 280 nm, der ($\pi \rightarrow \pi^*$)-Übergang bei 180 nm zu sehen. Beachte die verschiedenen Extinktionsskalen für die zwei Übergänge. Das Spektrum von Formaldehyd sollte ähnlich dem von Aceton sein. Allerdings ist es schwieriger, ein Formaldehydspektrum in Lösung zu messen.

Kopplung von elektronischer und vibronischer Anregung

Tritt ein elektronischer Übergang vom (elektronischen und Schwingungs-) Grundniveau in ein angeregtes elektronisches Niveau auf, so ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass das Elektron nicht in den Schwingungsgrundzustand, sondern in einen höheren Schwingungszustand des angeregten elektronischen Zustands übergeht. Dieser Sachverhalt kann mit dem Franck-Condon-Prinzip erklärt werden. Da sich die Kerne relativ langsam im Vergleich zu den Elektronen bewegen, verharren sie während eines elektronischen Übergangs (~ 1 fs) praktisch am gleichen Ort ($\tau_{\text{vib}} \approx 10 - 100$ fs). Da im allgemeinen Fall die Abstände der Kerne im angeregten Niveau größer sind, werden Vibrationen angeregt. Dies ist in Abb. 16 anschaulich mit einer komprimierten Feder dargestellt.

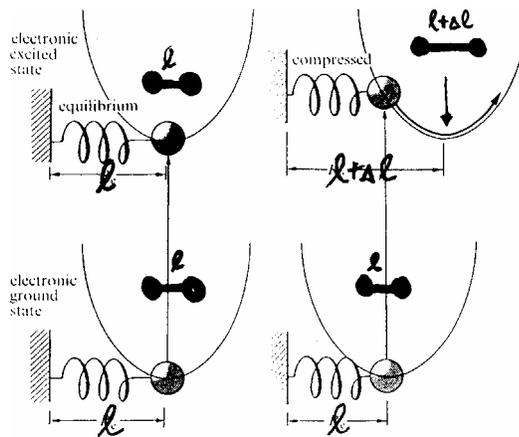


Abb. 16: Klassisches Bild des Franck-Condon-Prinzips.

Quantenmechanisch kann man die Übergangswahrscheinlichkeiten mit der Born-Oppenheimer-Näherung berechnen. Dabei nimmt man an, dass sich die Gesamtwellenfunktion Ψ in die Wellenfunktion der Kerne und Elektronen separieren lässt, da aufgrund der kleineren Masse die Elektronen instantan der Kernbewegung folgen,

$$\Psi(\vec{r}, \vec{R}) = \psi(\vec{r}; \vec{R}) \phi(\vec{R}) .$$

Hier ist ψ die Wellenfunktion der Elektronen und ϕ die der Kerne. Der Ort der Elektronen wird mit \vec{r} , der der Kerne mit \vec{R} bezeichnet. Für das Übergangsmatrix erhält man dann

$$\begin{aligned} \bar{\mu} &= -\langle j | e\vec{r} | i \rangle \\ &= -e \iint \psi_j^*(\vec{r}) \phi_j^*(\vec{R}) \vec{r} \psi_i(\vec{r}) \phi_i(\vec{R}) d^3\vec{r} d^3\vec{R} \\ &= -e \int \psi_j^*(\vec{r}) \vec{r} \psi_i(\vec{r}) d^3\vec{r} \cdot \int \phi_j^*(\vec{R}) \phi_i(\vec{R}) d^3\vec{R} . \end{aligned}$$

Der Überlapp der Kernwellenfunktionen (Franck-Condon-Faktor) beeinflusst also die Übergangswahrscheinlichkeit. Dies ist in Abb. 17 dargestellt.

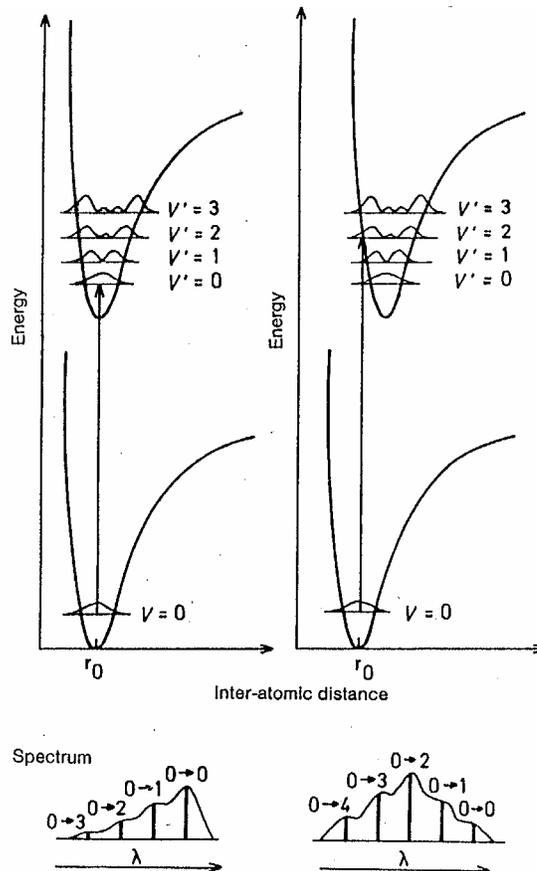


Abb. 17: Darstellung der Beziehung zwischen der Wahrscheinlichkeitsverteilung für den Kernabstand für verschiedene Vibrationszustände, der Wahrscheinlichkeit für einen Schwingungsübergang, der mit einem elektronischen Übergang verbunden ist, und dem Absorptionsspektrum eines zweiatomigen Moleküls.

Da die Kernabstände für den angeregten Atomzustand normalerweise größer sind (rechtes Bild), erhält man für die höheren Vibrationszustände einen größeren Überlapp der Wellenfunktionen. Beachte, dass die Aufenthaltswahrscheinlichkeit für ein harmonisches Potential für höhere Zustände am Rand des Potentials ansteigt. Damit kann das dargestellte Absorptionsspektrum erklärt werden (Abb. 17, unten). Im Fall der Abb. 17, rechts überlappt die Wellenfunktion im elektronischen Grundzustand (der Vibrationszustand ist hier ebenfalls Null) am stärksten mit der Wellenfunktion des zweiten Schwingungszustands des angeregten elektronischen Niveaus. Daher ist die Absorption für diesen Übergang am größten.

Neben den Schwingungszuständen treten bei kleineren Molekülen auch Rotationszustände auf. Abb. 18 illustriert dies für die zwei niedrigsten elektronischen Zustände. Das Molekül, das sich im Grundzustand befindet, kann nun durch Photonen geeigneter Frequenz nicht nur

in verschiedene Schwingungszustände, sondern auch in viele Rotationszustände des ersten angeregten elektronischen Niveaus übergehen. Man erhält ein Spektrum mit vielen schmalen Linien, falls keine weiteren Effekte vorliegen (Abb. 19, oben links). Experimentell erhält man oft ein breites Spektrum, da alle Übergänge durch verschiedene Effekte (Lebensdauer, Umgebungsheterogenität, Dopplereffekt) verbreitert sind (Abb. 19, Mitte). Am einfachsten ist die Annahme, dass nur ein elektronischer Übergang vorliegt (Abb. 19, unten links). Die rechte Spalte von Abb. 19 zeigt am Beispiel von Benzol, wie die Rotationsbanden mit steigender Viskosität des Lösungsmittels breiter werden.

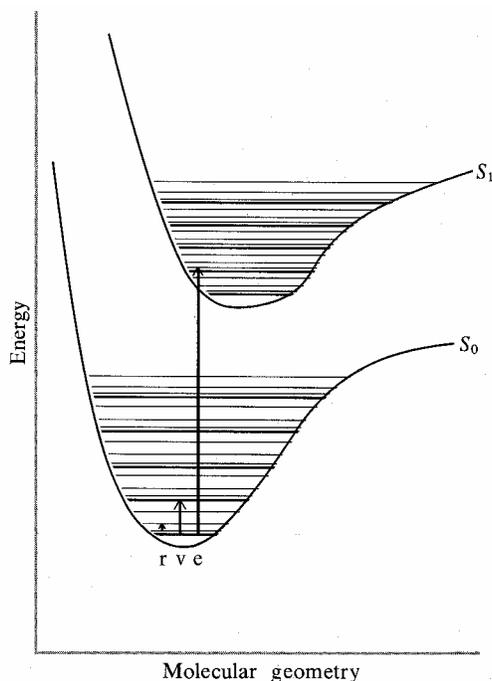


Abb. 18: Energiezustände eines kleinen Moleküls. Zu sehen sind die zwei niedrigsten elektronischen Zustände (S_0 und S_1) und ausgesuchte Schwingungs- (dicke Linien) und Rotationszustände (dünne Linien). Ein elektronischer (e), ein Schwingungs- (v) und ein Rotationsübergang (r) sind eingezeichnet.

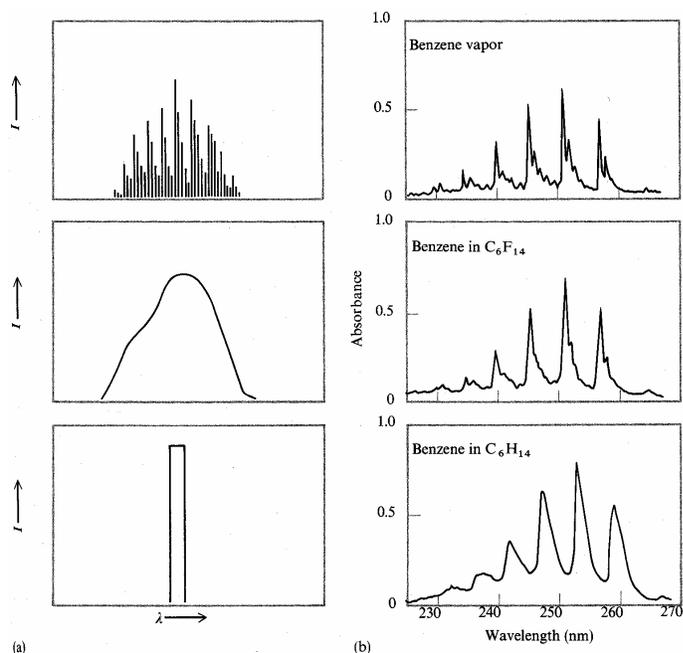


Abb. 19: Absorptionsspektren kleiner Moleküle. (a) Typische Spektren für kleine Moleküle in der Gasphase (oben) und in Lösung (Mitte). Oft wird ein einfaches Spektrum angenommen (unten). (b) Verbreiterungseffekte der Absorptionsspektren von Benzol aufgrund des Lösungsmittels.

Fluoreszenz und Phosphoreszenz

Ein Elektron eines Moleküls kann, nachdem es aufgrund der Absorption eines Photons auf ein höheres Energieniveau gebracht wurde, auf verschiedenen Wegen wieder in den Grundzustand zurückkehren (Abb. 20).

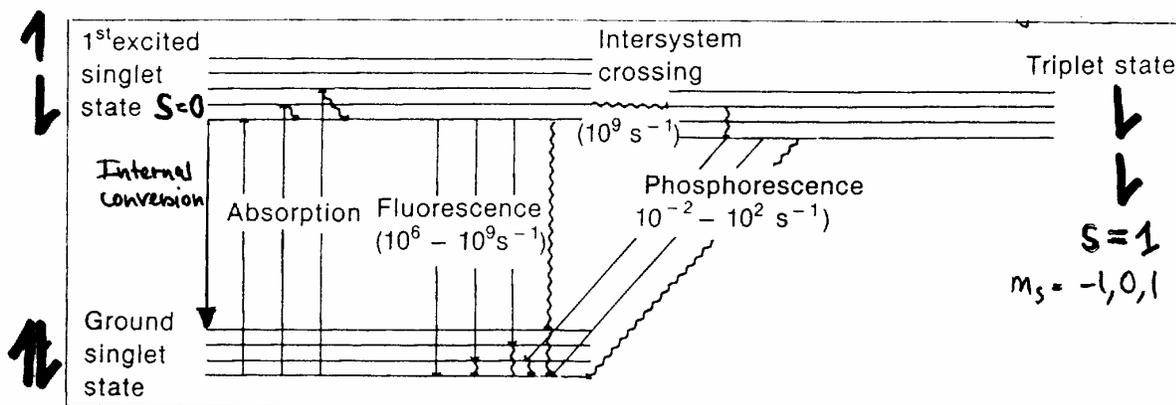
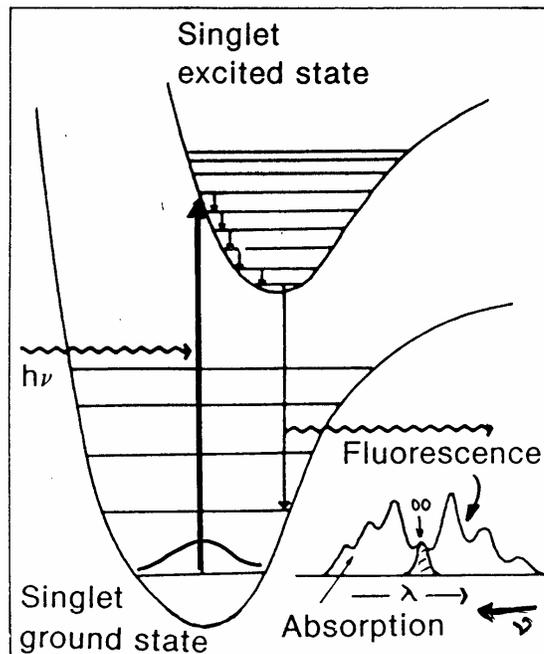


Abb. 20: Jablonski-Diagramm.

Das Elektron befinde sich im (elektronischen und Schwingungs-) Grundzustand. Es seien alle Elektronen gepaart, d.h. der Spin S sei Null (Singulett-Zustand). Dies ist für fast alle Moleküle im Grundzustand der Fall. Wird ein Photon mit geeigneter Frequenz eingestrahlt, so kann das Elektron auf verschiedene Schwingungsniveaus des ersten angeregten Zustand transferiert werden. Bei diesem Übergang verändert sich der Spin nicht ($S = 0$). Das Elektron wird rasch (einige Pikosekunden) in den Schwingungsgrundzustand des angeregten elektronischen Zustands übergehen. Dies erfolgt durch nichtlineare Kopplungen mit anderen

Schwingungsfreiheitsgraden und führt durch den Übergang von lokalen zu globalen Schwingungen zu einer Temperaturerhöhung der Umgebung. Für die Rückkehr in den elektronischen Grundzustand gibt es drei verschiedene Möglichkeiten. Bei der **inneren Konversion** geht das Elektron ohne Aussendung eines Photons in den Grundzustand. Die Energie wird in Schwingungsenergie umgewandelt. Im Falle der **Fluoreszenz** geht das Elektron durch spontane Emission eines Photons in einen der Schwingungszustände der elektronischen Grundniveaus über. Die Zerfallszeiten für diesen Prozess liegen typischerweise bei $10^{-9} - 10^{-6}$ s. Schließlich kann noch **Phosphoreszenz** auftreten. Das angeregte Elektron 'flippt' beim 'intersystem crossing' seinen Spin, so dass ein Triplet-Zustand ($S = 1$) vorliegt. Dadurch ergibt sich eine Energieabsenkung aufgrund der Hundtschen Regel. Da für den Übergang in den Grundzustand ($S = 0$) das Elektron (wiederum) seinen Spin verändern muss, ist dieser Zustand relativ langlebig: In kristallinen Festkörpern beobachtet man, dass das Elektron erst nach $10^{-2} - 10^2$ s unter Photonenemission in den Grundzustand zurückgeht. Bei Biomolekülen in wässriger Lösung ist die innere Konversion viel wahrscheinlicher, so dass man keine Lichtemission auf solch langen Zeitskalen beobachtet. Abb. 21 zeigt genauer die Energieübergänge bzw. das Spektrum bei der



Fluoreszenz.

Abb. 21: Fluoreszenz: Energieübergänge und resultierendes Spektrum.

Nach Anregung und anschließender Thermalisierung befindet sich das Elektron im Schwingungsgrundzustand des ersten angeregten elektronischen Niveaus. Aufgrund des größeren Abstandes der Kerne im angeregten elektronischen Niveau ist die Wahrscheinlichkeit am größten, dass das Elektron nicht in den Schwingungsgrundzustand, sondern in höhere Schwingungsniveaus des elektronischen Grundzustands zurückfällt. Die Energie des emittierten Photons ist somit geringer als die des absorbierten Photons. Haben die Potentiale des elektronischen Grundzustands und des ersten angeregten elektronischen Zustands die gleiche Form, so sind das Absorptionsspektrum und das Fluoreszenzspektrum spiegelbildlich zu dem 00-Übergang (dem Übergang von und zu den Schwingungsgrundzuständen der beiden elektronischen Niveaus).

Das entsprechende Diagramm für die Phosphoreszenz ist in Abb. 22 zu sehen. Im S_1 -Zustand kann es zu einem Spinflip und damit zu einem Tripletzustand kommen. Dort thermalisiert das Elektron bis zum Schwingungsgrundzustand. Da der Übergang zum Grundniveau verboten ist, ist beim Festkörper die Lebensdauer des angeregten Niveaus relativ lang, und es wird Phosphoreszenz beobachtet. In Flüssigkeiten ist sie kürzer, da strahlungslose Übergänge (z.B. über Stöße) wahrscheinlicher sind.

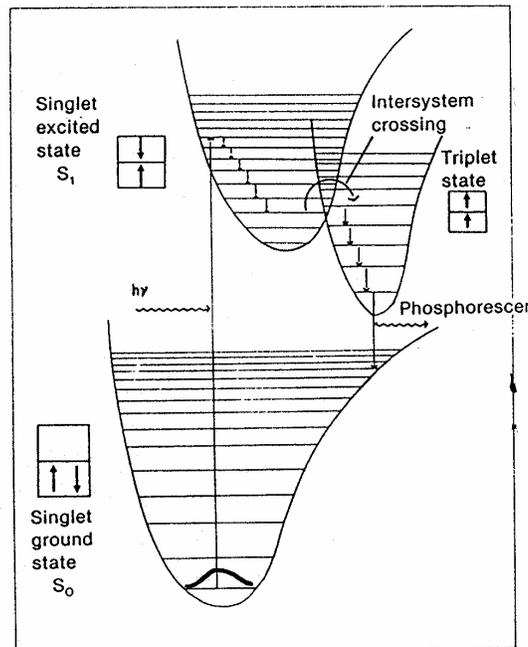


Abb. 22: Termschema bei der Phosphoreszenz.

Messung von Absorptionsspektren

Absorptionsspektren werden gewöhnlich mit einem Zweistrahlsspektrometer gemessen.

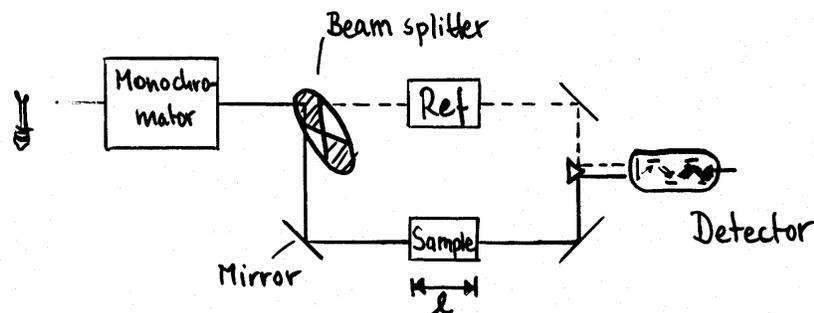


Abb. 23: Aufbau eines Zweistrahlsspektrometers.

Von einer breitbandigen Quelle wird mittels eines Monochromators der gewünschte Wellenlängenbereich erzeugt, wobei über die Schlitzbreite des Monochromators die Auflösung verändert werden kann. Da Biomoleküle in der Regel breite Absorptionsbanden zeigen, ist die Auflösung für diese Messungen nicht entscheidend. Mit Hilfe eines rotierenden Strahlteilers wird das Licht einerseits auf die Probe (Biomolekül mit Lösungsmittel) und andererseits auf eine Referenz, die in der Regel nur aus dem Lösungsmittel besteht, gelenkt. Durch die Rotation des Strahlteilers kann abwechselnd an der Probe und an der Referenz die transmittierte Intensität z.B. mit einem Photomultiplier detektiert werden. Für die durch die Probe mit Dicke l transmittierte Intensität I gilt das Lambert-Beersche Gesetz,

$$I(l) = I_0 10^{-\epsilon lc} .$$

Hier ist I_0 die eingestrahelte Intensität, c die Konzentration und ϵ der Extinktionskoeffizient. Für die optische Dichte erhält man

$$A = \log \frac{I_0}{I(l)} = \epsilon lc .$$

Mit Hilfe der gemessenen Absorptionsspektren lassen sich bei bekanntem ϵ Konzentrationen von Proben bestimmen. Des weiteren lassen sich strukturelle Informationen gewinnen, da bestimmte Proteine charakteristische Spektren aufweisen. Ebenso kann die Ionisation von Biomolekülen beobachtet werden, da diese je nach Ladungszustand verschiedene Absorptionsspektren haben können. Weitere Anwendungen sind Messungen zur chemischen Modifikation, zum Einfluss des Lösungsmittels, zu Konformationsumwandlungen, zum Studium der Faltung/Entfaltung und der Ligandenbindung (z.B. nach einer Photolyse).

Im Folgenden soll auf verschiedene Aspekte der Absorptionsspektren von Biomolekülen eingegangen werden. Das Absorptionsspektrum wird gewöhnlich von der Absorption einer bestimmten chemischen Gruppe dominiert. Solche Gruppen werden Chromophore genannt. Die Absorptionsbanden von Proteinen können in drei Klassen eingeteilt werden: die Absorption der Peptidbindung, die der Aminosäure-Seitenketten und die der prosthetischen Gruppen.

Bei der **Peptidbindung** sind die π -Elektronen über dem Stickstoff, dem Kohlenstoff und dem Sauerstoff in einem gewissen Ausmaß verteilt. Der Übergang mit der geringsten Energie ist der ($n \rightarrow \pi^*$)-Übergang. Dieser wird typischerweise bei einer Wellenlänge von 210 – 220 nm beobachtet. Abb. 24 zeigt das Absorptionsspektrum von Poly-L-Lysin in verschiedenen strukturellen Formationen; deren Spektren sind aufgrund von Excitoneffekten verschieden.

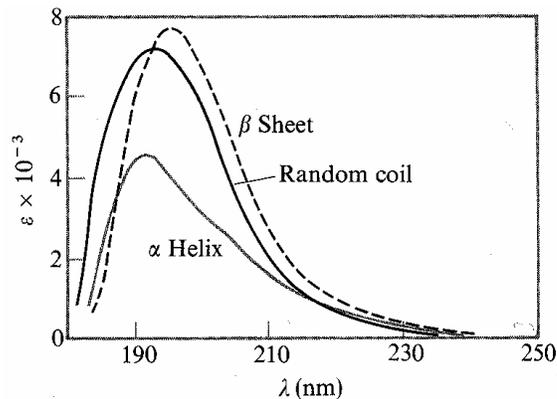


Abb. 24: Absorptionsspektrum im Ultravioletten von Poly-L-Lysin in wässriger Lösung: Knäuel: pH 6.0, 25° C; α -Helix pH 10.8, 25° C, β -Faltblatt pH 10.8, 52° C.

Im Falle der α -Helix kann der ($n \rightarrow \pi^*$)-Übergang als Schulter im Spektrum gesehen werden. Die größere Absorptionsbande mit dem Peak bei ungefähr 190 nm wird durch den ($\pi \rightarrow \pi^*$)-Übergang verursacht. Bei Formaldehyd ist, wie oben gezeigt, dieser Übergang entlang der C=O-Achse polarisiert. In einem Peptid liegt der Übergangsdipol nicht entlang einer speziellen Bindung, da auch das Stickstoffatom an der π -Bindung beteiligt ist. Die Lage des Übergangsdipols ist in Abb. 25 für Myristamid zu sehen.

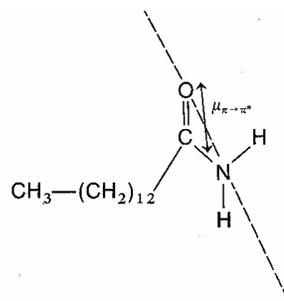


Abb. 25: Lage des Übergangsdipols des ($\pi \rightarrow \pi^*$) - Übergangs für Myristamid.

Einige Aminosäureseitenketten (u. a. Asp, Glu, Asn, Gln) absorbieren in demselben Spektralbereich wie der ($\pi \rightarrow \pi^*$)-Übergang der Peptide. Da in der Regel die Anzahl der Seitengruppen klein ist, ist es schwierig, diese Banden unter denen der Peptidgruppen zu messen. Einfacher ist es, Aminosäureseitengruppen zu untersuchen, die bei Wellenlängen größer als 230 nm absorbieren. Die Absorptionsspektren dieser (aromatischen) Aminosäuren (Phe, Tyr, Trp) sind in Abb. 26 zu sehen.

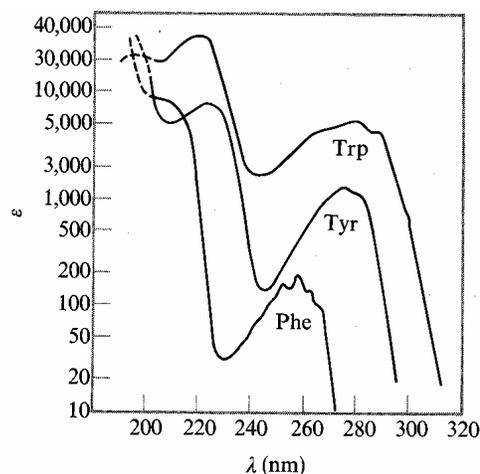


Abb. 26: Absorptionsspektren der aromatischen Aminosäuren Trp, Tyr, Phe.

Das Tryptophan zeigt die größte Absorption in dem betrachteten Spektralbereich. Allerdings kommt diese Aminosäure relativ selten vor, und daher liefert auch das Tyrosin einen signifikanten Beitrag zum Absorptionsspektrum. Es muss auch beachtet werden, dass die Absorption von Trp und Tyr, im Gegensatz zur Peptidgruppe, vom pH-Wert abhängt.

Lösungsmittleffekte

Die Absorptionsspektren vieler Chromophore sind vom Lösungsmittel abhängig. Diese Abhängigkeit kann sich als Veränderung der Intensität, der Bandbreite und der Wellenlänge des Absorptionspeaks bemerkbar machen. Die quantitative Analyse des Effekts des Lösungsmittels ist schwierig. Dabei muss berücksichtigt werden, dass während der Anregungszeit von 10^{-15} Sekunden keine Veränderung der Konformation auftritt. Allerdings treten Polarisierungen der Elektronensysteme auf. Allgemein findet man, dass die Anwesenheit des Lösungsmittels die Energiezustände erniedrigt, da die Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel derart ist, dass energieabsenkende Orientierungen der Lösungsmittelmoleküle wahrscheinlicher sind. Um eine Verschiebung eines Absorptionsbandes zu bekommen, muss allerdings die Energieabsenkung für die beteiligten Niveaus unterschiedlich groß sein. Man

findet, dass der Zustand mit dem größten Dipolmoment die größte Energieabsenkung durch ein polares Lösungsmittel erfährt. Da dieser Zustand fast immer der angeregte Zustand ist, erfährt der ($\pi \rightarrow \pi^*$)-Übergang eine Rotverschiebung, falls die Polarisierungseffekte des Lösungsmittels dominieren (Abb. 27). Bei einem ($n \rightarrow \pi^*$)-Übergang bildet das 'lone pair' oft Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Lösungsmittel aus. Dies hat eine Blauverschiebung zur Folge.

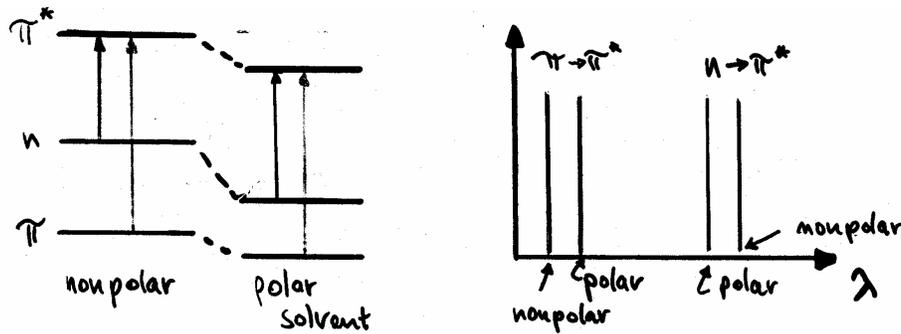


Abb. 27: Einfluss eines polaren bzw. unpolaren Lösungsmittels auf die Energieniveaus und das Spektrum.

Exzitonische Aufspaltung

Im Folgenden sollen die Effekte untersucht werden, die auftreten, falls die Abstände zwischen den Chromophoren so klein sind, so dass sich ihre elektronischen Zustände gegenseitig beeinflussen. Dies tritt z.B. bei den Peptiden eines Proteins auf. Es wird ein Dimer untersucht, das aus gleichen Monomeren besteht und somit auch die gleichen Chromophore besitzt. Die Wechselwirkung zwischen den Monomeren soll klein sein, so dass die Elektronen bei einem Atom lokalisiert sind. Jedes Monomer wird aber vom elektrischen Feld des anderen beeinflusst. Da beide Monomere ungeladen sind, ist die wichtigste Wechselwirkung die Dipol-Dipol-Wechselwirkung V ,

$$V = \frac{\bar{\mu}_1 \cdot \bar{\mu}_2}{R_{12}^3} - 3 \frac{(\bar{\mu}_1 \cdot \bar{R}_{12})(\bar{\mu}_2 \cdot \bar{R}_{12})}{R_{12}^5} .$$

Hier sind $\bar{\mu}_1$ und $\bar{\mu}_2$ die Dipoloperatoren der beiden Monomere und \bar{R}_{12} der Abstand zwischen den Monomeren. Der Hamiltonian ist dann durch

$$H = H_1 + H_2 + V$$

gegeben. Die Wechselwirkung V soll so klein sein, dass man einen störungstheoretischen Ansatz verwenden kann. Die Wellenfunktionen für den Grundzustand und für die angeregten Zustände der Monomere (ψ_{1a} bzw. ψ_{2a} sind die angeregten Zustände des ersten bzw. zweiten Monomers ohne Wechselwirkung) sollen also gute Näherungen für die angeregten Zustände des Dimers sein. Weiterhin wird gefordert, dass der angeregte Zustand stationär ist. Somit erhält man für die beiden möglichen Wellenfunktionen des angeregten Zustands des Dimers

$$\psi_{A\pm} = \frac{1}{\sqrt{2}} (\psi_{1a} \pm \psi_{2a}) .$$

Für die Energien bekommt man

$$\begin{aligned} E_+ &= E_0 + V_{12} , \\ E_- &= E_0 - V_{12} , \end{aligned}$$

mit der energetischen Kopplung

$$V_{12} = \langle \psi_{1a} | V | \psi_{2a} \rangle .$$

Man erhält also eine Aufspaltung der Energieniveaus, die sogenannte Davydov-Aufspaltung (Abb. 28).

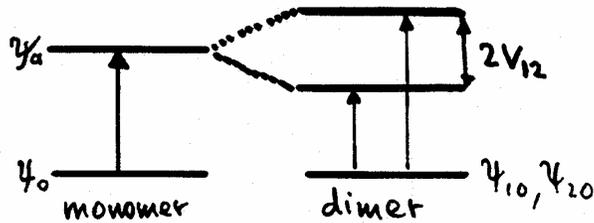


Abb. 28: Energieaufspaltung beim Dimer.

Die Intensität der Linien ist dann durch die Dipolstärke gegeben,

$$D_{0A\pm} = \left| \langle \psi_0 | \vec{\mu}_1 + \vec{\mu}_2 | \psi_{A\pm} \rangle \right|^2 = D_{0a} \pm D_{0a} \cos \theta_{12} .$$

Hierbei ist θ_{12} ist der Winkel zwischen den Dipolübergängen, die bei der elektronischen Absorption von Monomer 1 und Monomer 2 beteiligt sind. Mit Hilfe der Abb. 29 können die damit entstehenden Spektren verstanden werden.

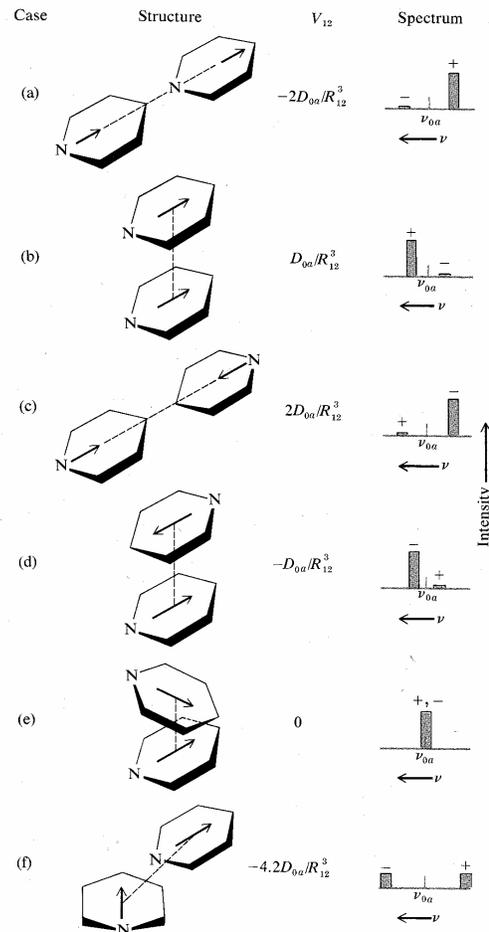


Abb. 29: Monomerwechselwirkungsenergien, Paarwechselwirkungspotentiale und schematische Spektren für 6 mögliche Geometrien eines Pyridin-Dimers. \vec{R}_{12} ist durch die gestrichelte Linie gegeben.

Die Orientierungen der Übergangsdipole sind mit Pfeilen für den Übergang $\psi_0 \rightarrow \psi_{A^+}$ eingezeichnet.

Die Wechselwirkungsenergie ist im Falle (a) negativ (V_{12} ist negativ). Die Monomere ziehen sich in Anordnung (a) gegenseitig an (vgl. mit klassischen Dipolen). Somit ist die Energie E_+ (und damit auch die Frequenz) niedriger als die des Monomers. Dies bedeutet, dass die... Absorption rotverschoben ist. Für die Anordnung im Fall (b) ist V_{12} positiv, und die Energie E_+ ist blauverschoben. Für die genannten Fälle (a) und (b) und auch für die Fälle (c) und (d) erhält man eine Verschiebung des Absorptionsmaximums, aber man bekommt keine Aufspaltung. Für andere Winkel ist es aber in der Regel möglich, Aufspaltungen zu beobachten. Im Fall (f) kann sowohl die Aufspaltung als auch die relative Intensität der Übergänge gemessen werden. Daraus kann der Abstand der Chromophore und der Winkel θ bestimmt werden. In Abb. 30 ist eine Messung an Bacteriochlorophyll zu sehen. Das Dimerspektrum zeigt beim langwelligen Übergang eine Aufspaltung, aus der ein Winkel von 82° zwischen den Übergangsmomenten berechnet werden kann.

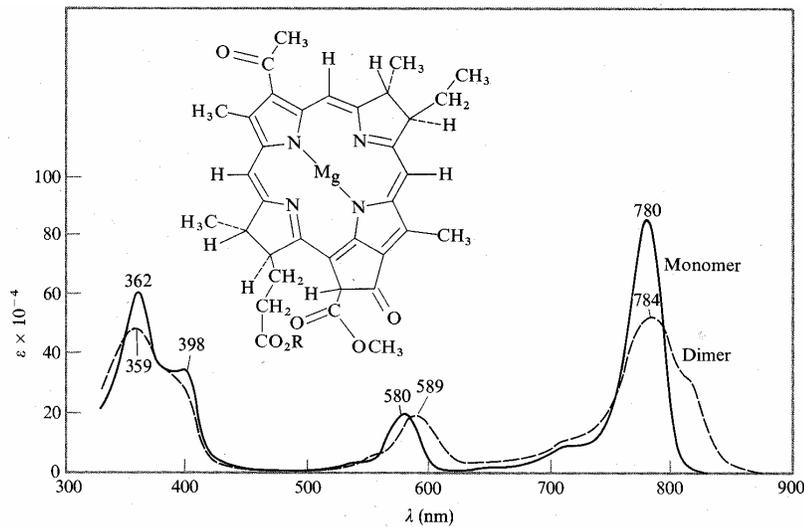


Abb. 30: Monomer und Dimerspektrum von Bacteriochlorophyll in Lösung. Es kann eine Aufspaltung des Dimerübergangs bei ungefähr 800 nm beobachtet werden.

Ein Effekt, der Ähnlichkeiten mit dem exzitonischen Effekt hat, ist die **Hypo- bzw. Hyperchromie**. Man beobachtet, dass die Absorption ab- bzw. zunehmen kann, falls Chromophore sich nah beieinander befinden. Dies wird durch die Wechselwirkung eines elektronischen angeregten Zustandes eines Chromophors mit den verschiedenen angeregten Zuständen der benachbarten Chromophore verursacht. Beachten Sie, dass bei der exzitonischen Aufspaltung die Wechselwirkung über denselben angeregten Zustand der Monomere geht. Das Übergangsdipolmoment des absorbierenden Chromophors wechselwirkt mit den von dem angelegten E-Feld (nicht resonant) induzierten Dipolen der benachbarten Chromophore. In Abb. 30 sind die Ergebnisse für zwei Geometrien gezeigt.

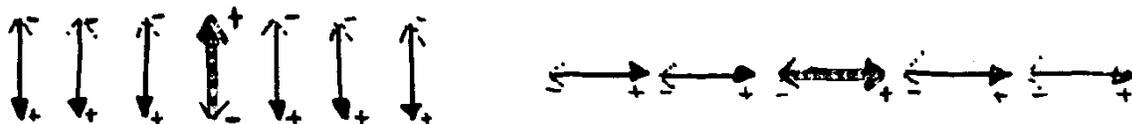


Abb. 31: Schematisches Diagramm, das den Ursprung der Hypo- (links) und Hyperchromie (rechts) zeigt.

Bei der parallelen Anordnung (a) sind alle Dipole in einer sich gegenseitig abstoßenden Anordnung. Dadurch ist es schwieriger, einen Übergangsdipol am absorbierenden Chromophor zu erzeugen (der Übergangsdipol wird kleiner), d.h. die Absorption nimmt ab (Hypochromie). Im Falle der linearen Anordnung (b) ziehen die induzierten Dipole den Übergangsdipol an. Der Übergangsdipol wird länger. Es kommt zu einer Stärkung des Übergangs (Hyperchromie).

Linearer Dichroismus

In Proben, bei denen die Moleküle zufällig (isotrop) angeordnet sind (z.B. Lösungen), ist die Absorption unabhängig von der Polarisation des eingestrahlichten Lichts. Die Absorption ist proportional zu

$$\left| \langle \psi_j | \vec{\mu} | \psi_i \rangle \cdot \vec{E}_0 \right|^2 .$$

Dies bedeutet, dass für zufällig angeordnete Proben ein Mittelwert gemessen wird; für orientierte Proben bekommt man dagegen eine Abhängigkeit der Absorption von der linearen Polarisation (linearer Dichroismus).

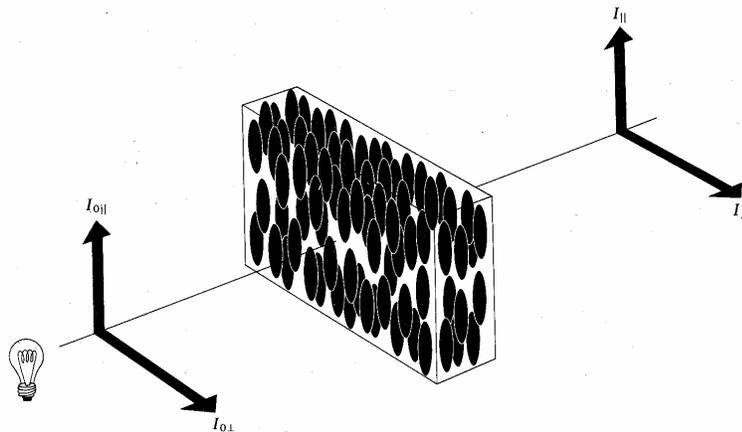


Abb. 32: Schematische Darstellung eines Experiments zur Messung des Lineardichroismus.

Üblicherweise werden zwei Messungen durchgeführt. Bei der einen befindet sich der elektrische Feldvektor parallel zur Ausrichtung der Moleküle (A_{**}), bei der anderen senkrecht dazu (A_{\perp}). Damit kann das dichroitische Verhältnis d bestimmt werden,

$$d = \frac{A_{||} - A_{\perp}}{A_{||} + A_{\perp}} .$$

Aus diesen Messungen können strukturelle Informationen gewonnen werden. Es kann z. B. die Orientierung der intensivsten Dipolübergänge von aromatischen planaren Molekülen, die in der Ebene des konjugierten Rings liegen, bestimmt werden.

Optische Aktivität

Fast alle Moleküle, die von lebenden Organismen synthetisiert werden, sind optisch aktiv. Die optische Aktivität kleiner Moleküle hat ihre Ursache im Fehlen von Symmetrien. Beispielsweise kommen Aminosäuren, die in der Biosynthese erzeugt wurden, nur als L-Isomere vor. In optisch aktiven Proben ist die Lichtausbreitung von links- und rechtszirkular polarisiertem Licht unterschiedlich (Abb. 33).

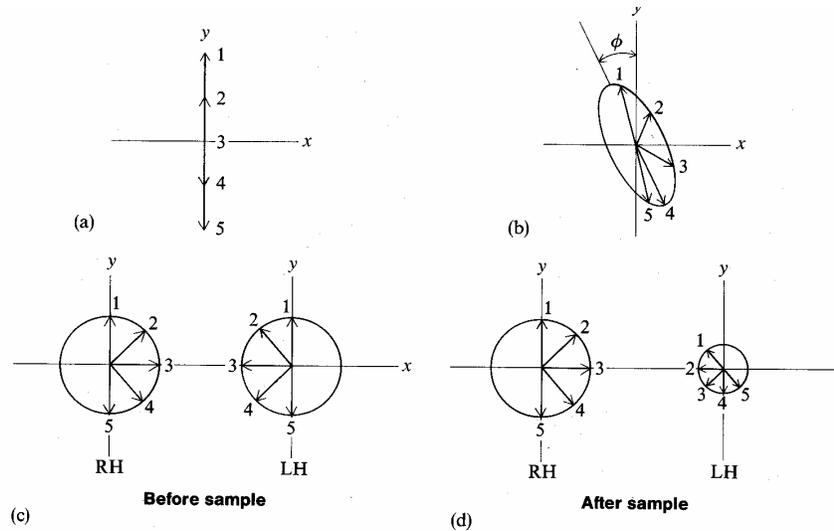


Abb. 33: Einfluss einer optisch aktiven, absorbierenden Probe auf eingestrahktes, linear polarisiertes Licht. Alle Zeichnungen zeigen den elektrischen Feldvektor in der Ebene senkrecht zur Lichtausbreitungsrichtung, die so gewählt ist, dass das Licht auf den Beobachter zuläuft. Die Punkte 1 bis 5 entsprechen fünf aufeinander folgenden Zeitpunkten. (a) Einfallendes, linear polarisiertes Licht. (b) Elliptisch polarisiertes Licht, das nach dem Durchgang des linear polarisierten Lichts durch das optisch aktive Medium erzeugt wurde. (c) Darstellung des linear polarisierten Lichts in links- und rechtszirkular polarisiertes Licht. (d) Auswirkung des optisch aktiven Mediums auf das links- und rechtszirkuläre Licht. Die Summe dieser Komponenten ergibt das Ergebnis in (b).

Bei Einstrahlung einer linear polarisierten ebenen Welle treten zwei Effekte auf. Die Polarisationsebene wird um einen Winkel Φ gedreht (optische Rotation). Die Ursache dafür ist die unterschiedliche Ausbreitungsgeschwindigkeit (Brechungsindizes) des links- und rechtszirkular polarisierten Lichts. Zum anderen ist die Polarisation nicht mehr in einer Ebene lokalisiert (in der zweidimensionalen Projektion handelt es sich um eine Linie). Der elektrische Feldvektor beschreibt nun eine elliptische Schraubenbewegung (in der zweidimensionalen Projektion eine Ellipse). Dieser Effekt kommt durch die unterschiedliche Absorption von links- und rechtszirkular polarisiertem Licht (A_L, A_R) zustande (zirkularer Dichroismus). Die Rotationsstärke eines Übergangs ($0 \rightarrow a$) kann wie folgt berechnet werden,

$$R = \text{Im} \langle \psi_0 | \vec{\mu} | \psi_a \rangle \langle \psi_a | \vec{m} | \psi_0 \rangle,$$

wobei \vec{m} der magnetische Dipoloperator ist. Der Term $\langle \psi_0 | \vec{m} | \psi_a \rangle$ stellt den magnetischen Übergangsdipol, der als lichtinduzierter oszillierender Ringstrom betrachtet werden kann, und der Term $\langle \psi_a | \vec{\mu} | \psi_0 \rangle$ den elektrischen Übergangsdipol, der den lichtinduzierten, linear oszillierenden Dipol beschreibt, dar. Eine anschauliche Erklärung der Rotationsstärke gibt Abb. 34.

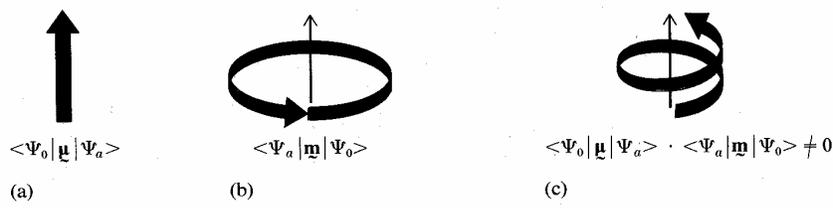


Abb. 34: Schematisches Diagramm der lichtinduzierten Ladungsveränderung in einem Molekül. (a) Reine elektronische Absorption. (b) Reine magnetische Absorption. (c) Optische Aktivität.

Das Prinzip der Messung des zirkularen Dichroismus ist in Abb. 35 dargestellt. Bevor das monochromatisierte Licht auf die Probe trifft, wird es polarisiert. Mit Hilfe eines $\lambda/4$ Modulators (Pockels-Zelle oder 'stress-plate modulator') wird das linear polarisierte Licht abwechselnd in eine links- und rechtszirkular polarisierte Welle umgewandelt und die Absorptionsdifferenz für beide Polarisierungen gemessen. Typische Differenzen sind im Bereich 0.03 – 0.3 %. Gewöhnlich wird das Ergebnis in 'Elliptizität' θ , dem Arcustangens des Verhältnisses der kleinen zur großen Achse der Polarisationsellipse, angegeben. Es folgt

$$\theta = 2.303 (A_L - A_R) \cdot 180 / 4\pi.$$

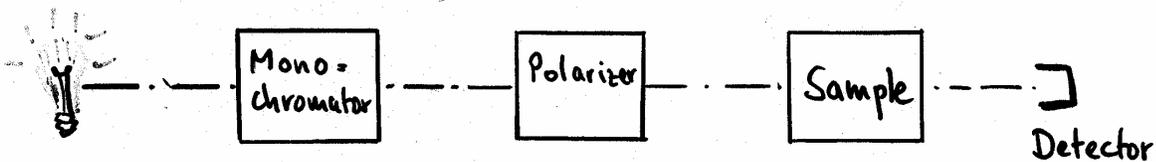


Abb. 35: Schema zur Messung des zirkularen Dichroismus.

Die molare Elliptizität ist

$$[\theta]_\lambda = 100 \theta / c \cdot l \left[\frac{\text{Grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{decimol}} \right],$$

mit der Konzentration c [mol/l] und der Weglänge l [cm]. Mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes erhält man auch

$$[\theta]_\lambda \approx 3300 \Delta \epsilon_\lambda,$$

wobei $\Delta \epsilon = \epsilon_L - \epsilon_R$.

Messungen des zirkularen Dichroismus sind wichtig für die Ermittlung von Sekundärstrukturen von Proteinen. Üblicherweise wird bei Proteinen die optische Aktivität im Bereich zwischen 190 und 230 nm durch das Peptidrückgrat dominiert. Für die Auswertung der Spektren kann man annehmen, dass das Spektrum sich aus einer linearen Kombination der Spektren von α -Helizes, β -Faltblättern und Knäueln zusammensetzt.

$$\theta = c_1 \theta_\alpha + c_2 \theta_\beta + c_3 \theta_{coil}.$$

Es können Messungen des zirkularen Dichroismus an Homopolypeptiden, die nur aus einer der drei Strukturen zusammengesetzt sind, durchgeführt werden. Abb. 36 zeigt die Spektren eines Modell-Polypeptids. Ebenfalls dargestellt ist die Messung an Myoglobin. Die Analyse dieses Spektrums ergibt, dass die Sekundärstruktur von Myoglobin aus 75% α -Helizes und 25% ungeordnetem Bereich besteht.

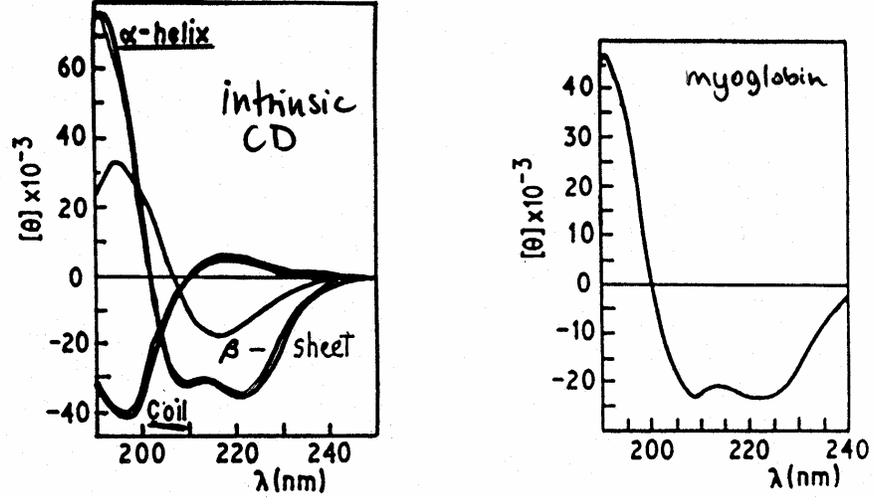


Abb. 36: Zirkularer Dichroismus für ein Modell Polypeptid (Poly-L-Lysin). Strukturen aus α -Helices, β -Faltblättern und Knäueln sind zu sehen (links). Zirkularer Dichroismus von Myoglobin (rechts).