

Ultraszybka dynamika cząsteczek fotoreaktywnych

Ultraszybka dynamika cząsteczek fotoreaktywnych

Piotr Fita

*Rozprawa doktorska
przygotowana pod opieką
prof. Czesława Radzewicza*



WYDZIAŁ FIZYKI
UNIwersYTETU WARSZAWSKIEGO
Warszawa 2008

Recenzenci: prof. dr hab. Ryszard Naskręcki,
Uniwersytet Adama Mickiewicza

prof. dr hab. Paweł Kowalczyk,
Uniwersytet Warszawski

Wydział Fizyki
Uniwersytetu Warszawskiego
ul. Hoża 69
00-681 Warszawa

Pamięci mojej Matki

Ultrafast dynamics of photoreactive molecules

PhD Thesis

Abstract

Ever since it has been synthesized, porphycene has been extensively studied due to its potential applications in technology and medicine as well as due to intramolecular double hydrogen transfer occurring in it. The latter makes it a suitable system to study the properties of hydrogen bonded systems in which the hydrogen atoms can tunnel through a potential barrier or move over it. Nevertheless, the most important questions regarding the mechanism of the process still remain unanswered. Even such a fundamental quantity as the rate of tautomerization continues to be a subject of much controversy.

Problems with a direct determination of the reaction rates arise from the fact that the substrate and the product are of the same chemical structure and thus it is impossible to distinguish them spectrally. Nevertheless, the dynamics of the proton transfer in porphycene may be followed by observing the anisotropy of transient absorption or fluorescence spectra because the transition moment of the $S_1 \leftarrow S_0$ transition is oriented along the axis connecting the inner-cavity protons and it rotates by 72° when tautomerization takes place. The anisotropy of the product is equal to -0.14, thus, the reaction leads to a time decay of the anisotropy from the initial value of 0.4 to 0.13 (when the reaction is fully reversible, the asymptotic value is the arithmetic mean of the anisotropies of the initial form and of the product).

The above scheme has been applied in the measurements of the reaction constants of the double hydrogen transfer in porphycene and its four derivatives in solution by time resolved studies of the transient absorption anisotropy. The data were recorded in two different experimental setups. In the first one the optically induced change of the sample absorption was probed by broadband ultrashort pulses generated in the white-light supercontinuum generation process. The observed transient spectra covered the spectral range from 350 nm up to 750 nm and the time resolution was of the order of 100 fs. The temporal analysis of the results revealed three different processes occurring after optical excitation to the S_2 state with characteristic times of approximately 750 fs, 16 ps and 12 ns. They were identified as, respectively, the internal conversion $S_2 \rightsquigarrow S_1$, thermalization of the oscillating modes by the interaction with the solvent and the deactivation of the S_1 state. Only the last process was visible when the molecules were excited to the S_1 state.

The rates of the tautomerization obtained in this experiment were consistent with results of earlier measurements of the anisotropy of stationary fluorescence. Nevertheless the quality of the anisotropy kinetics was low due to imperfections of the experimental setup. Thus, the kinetics of the anisotropy at selected wavelengths were more precisely recorded in a setup where the transient absorption was probed by quasi-monochromatic pulses generated by a noncollinear optical parametric amplifier (NOPA). Higher stability of these pulses compared to the white-light pulses resulted in a better signal to noise ratio, while the narrower spectrum reduced the influence of the imperfections of the optical elements.

In the second experiment the pump and probe pulses were generated by the same NOPA and two different central wavelengths were used. The first one fitted within the absorption band corresponding to the excitation of the molecules to the S_2 state which

was quickly depopulated by the internal conversion to S_1 . The excited state absorption was very weak at the wavelength of the probe pulse, thus the kinetics measured in this case reflected the dynamics of the S_0 state. The spectrum of the pulses in the second case covered both, the $S_1 \leftarrow S_0$ absorption band and the $S_1 \rightarrow S_0$ fluorescence spectrum therefore the changes of the anisotropy due to the tautomerization in the ground state as well as in the excited state could be followed. Fitting of the curves measured at both wavelengths simultaneously with the same set of the decay times increased the reliability of the fit.

The above method was used to determine the time constant of the double hydrogen transfer in porphycene and one of its derivatives, 2,7,12,17-tetra-*tert*-butyl porphycene (TTPC) and to estimate its value in other three derivatives. It was observed that the reaction rate strongly depends on the distance between the hydrogen-bonded nitrogen atoms and the chemical shift of the inner hydrogen atoms which is an indicator of the strength of the hydrogen-bonds. The values of the reaction rates measured in the solution are several orders of magnitude higher than those reported for the crystal phase but agree with estimations based on other optical anisotropy experiments in disordered media.

Temperature dependence of the tautomerization rate was checked for porphycene in the narrow range around 0°C. Comparison of the Arrhenius plots of the experimental data and of the reaction rates measured at low temperatures in the polymer matrix by fluorescence anisotropy analysis suggests that the mechanism of the hydrogen transfer may be influenced by thermally activated factors that decrease its rate at higher temperatures.

The influence of a substitution of both inner hydrogen atoms by deuterium atoms was investigated for porphycene and TTPC by measurements of the transient absorption anisotropy decays for the molecules dissolved in deuterated alcohols. The reaction of substitution turned out to be unexpectedly slow — it took over 20 hours to deuterate all the molecules in the solution which means that the intra-cavity protons very weakly interact with the environment. The kinetics of the anisotropy were continuously measured during the deuteration and the obtained data were processed by means of the global analysis. As a result, the rate of the substitution of each hydrogen atom was determined. The isotope effect slows down the hydrogen transfer by a factor of 4-8, which confirms the hypothesis that the tunneling through the potential barrier is involved even at room temperature.

The transient absorption traces of porphycene and TTPC measured with high temporal resolution show strong oscillations at early delays. Their frequencies calculated by the Fourier analysis are, in the case of porphycene, equal to the frequencies of the low-frequency modes of molecular oscillations. Therefore they were interpreted as a result of spectral modulation due to the evolution of an oscillatory wavepacket excited by a broadband ultrashort pump pulse.

The experiments provided the data that can be compared with the results of theoretical modeling of the double hydrogen transfer in porphycene, leading to deeper understanding of symmetric hydrogen bonded systems. The suggestions of promising directions of further investigation of porphycenes by time-resolved techniques were also made.

Spis treści

1	Wprowadzenie	10
2	Ultraszybka spektroskopia molekularna	13
2.1	Czasowo-rozdzielcza spektroskopia fluorescencji	14
2.2	Spektroskopia absorpcji przejściowej	18
2.3	Inne techniki czasowo-rozdzielcze	21
2.4	Czasowo-rozdzielcze pomiary anizotropii	23
2.5	Efekty koherentne	25
3	Układ pomiarowy	27
3.1	Eksperyment wielokolorowy	27
3.2	Eksperyment jednokolorowy	32
4	Analiza globalna	35
5	Badania porficyny i jej pochodnych	43
5.1	Własności fizykochemiczne porficyny	43
5.2	Alkilo-pochodne porficyny	49
5.3	Widma absorpcji przejściowej porficyny	52
5.4	Anizotropia absorpcji przejściowej porficyny	57
5.5	Pomiary szybkości tautomeryzacji porficyny	65
5.6	Szybkość tautomeryzacji pochodnych porficyny	75
5.7	Efekt izotopowy	84
5.8	Oscylacje absorpcji przejściowej	101
6	Podsumowanie	108
	Dodatek	110
	Podziękowania	112
	Bibliografia	113

Rozdział 1

Wprowadzenie

Wszystkie atomy i cząsteczki chemiczne oddziałują ze światłem o odpowiedniej długości fali. W przypadku atomów fale elektromagnetyczne wywołują dwa zjawiska: wzbudzenie wyższych stanów elektronowych bądź jonizację i uwolnienie elektronu. Sam atom pozostaje w stanie wzbudzonym do momentu oddania energii poprzez emisję fotonu lub oddziaływanie bezpromieniste z otoczeniem.

Znacznie więcej zjawisk towarzyszy absorpcji światła przez cząsteczki. W cząsteczce, nawet w najprostszych przypadkach wzbudzeniu elektronowemu towarzyszy wzbudzenie stanów oscylacyjnych i rotacyjnych. W dużych cząsteczkach dostarczona energia ulega zazwyczaj redystrybucji pomiędzy różnymi stanami oscylacyjnymi. Procesy konwersji wewnętrznej mogą prowadzić również do wzbudzenia innych stanów elektronowych lub wydajnej dezaktywacji bezpromienistej.

Szczególnie interesujące są te cząsteczki, w których absorpcja fotonu wywołuje reakcję prowadzącą do zmiany własności fizycznych. Można je ogólnie nazywać cząsteczkami fotoreaktywnymi, uwzględniając w tym pojęciu różnorodne mechanizmy reakcji, przede wszystkim tautomeryzację przestrzenną (np. zginanie lub rotację fragmentów cząsteczki względem siebie) i strukturalną (zrywanie i tworzenie się wiązań pomiędzy różnymi atomami), a także przeniesienie elektronu w obrębie jednej cząsteczki lub pomiędzy różnymi cząsteczkami, czy fragmentację cząsteczki.

Chlorofil i towarzyszące mu molekuły uczestniczące w procesie fotosyntezy to najczęściej spotykane w przyrodzie cząsteczki fotoreaktywne. Ich własności od zarańia dziejów wpływają na kształt i rozwój życia na Ziemi. Obecnie ogromny postęp technologii chemicznej umożliwił syntezę związków chemicznych o pożądanych właściwościach, co spowodowało wzrost znaczenia cząsteczek fotoreaktywnych także w nauce, technologii i medycynie. W badaniach podstawowych z zakresu chemii fizycznej często są one modelowymi układami, w których bada się przebieg reakcji chemicznych, gdyż można precyzyjnie określić moment startu reakcji inicjując ją krótkim impulsem światła. Dzięki temu można badać zmiany własności cząsteczek w ściśle określonym czasie po rozpoczęciu badanego procesu. Uzyskane wyniki dają się uogólnić na inne układy cząsteczek i atomów, pozwalając zrozumieć mechanizmy reakcji i przewidzieć ich skutki.

Postęp technologiczny ostatnich lat spowodował szczególny wzrost znaczenia

cząsteczek, w których w wyniku indukowanych światłem reakcji dochodzi do zmiany widma absorpcji albo przeniesienia ładunku. Pierwsze ze zjawisk, zwane fotochromizmem, może być wykorzystane do przechowywania informacji w pamięciach optycznych o dwu- i trójwymiarowej strukturze. Przeprowadzone dotychczas pozytywne demonstracje wskazują na możliwość uzyskania pamięci o takich gęstościach zapisu, które mogą sprostać rosnącym wymaganiom przemysłu komputerowego. Ponadto cząsteczki fotochromowe znalazły już praktyczne zastosowanie jako materiał światłoczuły wielokrotnego zapisu tam, gdzie nie można użyć detektorów CCD, a więc wówczas, gdy obraz musi być zapisywany na dużej powierzchni, np. w interferometrycznych badaniach odkształceń powierzchni. Obecnie w tym celu najczęściej wykorzystywana jest bakteriorodopsyna — występujący w pewnych bakteriach barwnik biologiczny pozyskiwany w procesie biotechnologicznym. Niestety jej bardzo wysoka cena wynikająca z tego, że otrzymywana jest w procesie biotechnologicznym ogranicza zakres jej zastosowań. Dlatego też wciąż trwają poszukiwania tańszych związków chemicznych o podobnych własnościach.

Przeniesienie ładunku po optycznym wzbudzeniu cząsteczek stanowi podstawę działania organicznych ogniw słonecznych, które są jednym z głównych potencjalnych źródeł energii odnawialnej. Skonstruowano już wiele modeli działających ogniw, jednak by obniżyć ich koszt i podnieść sprawność, konieczne są prace nad ich udoskonaleniem.

Cząsteczki fotoreaktywne mogą również sprostać wymaganiom stawianym przed luminoforami — składnikami energooszczędnych źródeł światła opartych na niebieskich lub nadfioletowych diodach elektroluminescencyjnych. Zadaniem luminoforu jest przetwarzanie krótkofalowego promieniowania elektromagnetycznego emitowanego przez diody na światło widzialne. Z tego powodu jego widmo fluorescencji musi być dostatecznie szerokie, by barwa emitowanego światła mogła być odbierana przez oko jako biała. Reakcja zachodząca w cząsteczkach fotoreaktywnych po wzbudzeniu optycznym często prowadzi do powstania produktu, którego widmo fluorescencji przesunięte jest ku czerwieni względem widma pierwotnie wzbudzonej formy. Dzięki temu łączna emisja substratu i produktu może pokrywać dużą część zakresu światła widzialnego.

Fotoreaktywność cząsteczek stosowanych w medycynie polega na ich zdolności do uczestnictwa w reakcjach ze środowiskiem biologicznym w stanie wzbudzonym, przy niewielkiej reaktywności tych cząsteczek w stanie podstawowym. Własność ta jest wykorzystywana w tak zwanej terapii fotodynamicznej nowotworów. Polega ona na podaniu pacjentowi związku chemicznego, fotouczulacza, który rozprowadzany jest w krwiobiegu i kumulowany w komórkach nowotworowych, dzięki ich szybszej przemianie materii. Fotouczulacz jest obojętny dla organizmu i aktywuje się dopiero po napromieniowaniu zmienionych chorobowo tkanek światłem o odpowiedniej długości fali. Wzbudzenie optyczne rozpoczyna cykl reakcji, których rezultatem jest wytworzenie wolnych rodników lub cząsteczek tlenu we wzbudzonym stanie singletowym. Ich bardzo duża reaktywność prowadzi do uszkodzenia i śmierci otaczających komórek, co umożliwia selektywne zniszczenie komórek nowotworowych.

Przytoczone powyżej zastosowania praktyczne cząsteczek fotoreaktywnych są

w większości przypadków w fazie badań lub na wstępnym etapie wdrażania. Wymagają one jeszcze wielu prac rozwojowych, przede wszystkim znalezienia nowych związków, które będą miały własności lepiej dostosowane do potrzeb, a ich synteza będzie tańsza i możliwa do przeprowadzenia w skali przemysłowej. Dlatego też można wyróżnić dwa kierunki tego rozwoju: poszukiwanie i syntezę nowych cząsteczek, oraz szczegółowe badania własności już wytworzonych związków chemicznych, zwłaszcza pod kątem zachodzących w nich procesów indukowanych światłem.

W badaniach dynamiki reakcji zachodzących w cząsteczkach po wzbudzeniu optycznym szczególną rolę zajmuje spektroskopia czasowo-rozdzielcza. W bezpośredni sposób pozwala ona śledzić zmiany własności optycznych wywołane badanym procesem. Dzięki układom laserowym generującym impulsy światła trwające krócej niż 10 fs można obecnie obserwować przebieg najszybszych nawet reakcji zachodzących w cząsteczkach organicznych. Postęp w technikach laserowych prowadzący do poprawy parametrów i możliwości układów doświadczalnych wysuwa spektroskopię czasowo-rozdzielczą na czoło metod badawczych stosowanych do charakteryzacji cząsteczek fotoreaktywnych.

W niniejszej rozprawie opisano wyniki czasowo-rozdzielczych badań porficyny i jej wybranych pochodnych — cząsteczek, których zastosowania w terapii fotodynamicznej i technologii pamięci optycznych zostały już wielokrotnie opatentowane. Przeprowadzone doświadczenia miały na celu bezpośredni pomiar szybkości podwójnego przeniesienia atomów wodoru w cząsteczkach porficyny w roztworach, by wyjaśnić rozbieżności wyników wcześniejszych prac doświadczalnych i teoretycznych oraz zebranie danych umożliwiających testowanie obliczeń przeprowadzonych metodami chemii kwantowej. Po zinterpretowaniu uzyskanych wyników wskazano kierunki dalszych badań, koniecznych do pełnego scharakteryzować własności dynamicznych porficyny i jej pochodnych. Opisano także zastosowane techniki badawcze, szczegółowo omawiając konstrukcję zbudowanych układów pomiarowych, jak również metody analizy danych, a przede wszystkim algorytmy dopasowania globalnego.

Wszystkie opisane pomiary wykonano w układach doświadczalnych zbudowanych w Laboratorium Procesów Ultraszybkich w Instytucie Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego. Badane cząsteczki zostały zsyntetyzowane w Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie.

Rozdział 2

Ultraszybka spektroskopia molekularna

Podstawowym sposobem uzyskiwania informacji o procesach zachodzących w cząsteczkach chemicznych jest badanie ich oddziaływania z falami elektromagnetycznymi. Mogą to być techniki stacjonarne, czyli obserwacja niezależnych od czasu widm absorpcji lub fluorescencji cząsteczek w różnych warunkach zewnętrznych, jednak zdecydowanie więcej można się dowiedzieć obserwując zmiany własności optycznych w czasie, za pomocą technik spektroskopii czasowo-rozdzielczej (CR). Względny praktyczny, czyli dostępność detektorów i źródeł promieniowania oraz fakt, że różnice energii pomiędzy różnymi stanami elektronowymi w cząsteczkach odpowiadają energii fotonów światła widzialnego lub nadfioletu, najszerszej wykorzystuje się w nich właśnie światło widzialne lub bliski nadfiolet.

Można dokonać ogólnego podziału metod CR na dwie grupy: spektroskopię fluorescencji, w której obserwuje się ewolucję widma światła emitowanego przez zespół cząsteczek po wzbudzeniu optycznym oraz całą gamę technik typu pompa-sonda. Wykorzystywane w nich są krótkie impulsy światła, pełniące dwie funkcje: impuls (lub kilka następujących po sobie impulsów) pompujący przygotowuje w cząsteczkach dobrze zdefiniowany stan, będący punktem wyjściowym badanego procesu, a impuls sondujący, opóźniony o znany czas względem impulsu pompującego, dostarcza informacji o spowodowanych zachodzącym procesem zmianach oddziaływania cząsteczek ze światłem. W dalszym ciągu niniejszego rozdziału przedstawiony zostanie krótki przegląd technik pomiarowych należących do obu grup, ze szczególnym zwróceniem uwagi na spektroskopię absorpcji przejściowej, zastosowaną do otrzymania wyników opisanych w niniejszej rozprawie.

Badane cząsteczki mogą być umieszczone w różnych środowiskach: np. w roztworach lub matrycach polimerowych uniemożliwiających reorientację cząsteczek albo odizolowane od wpływu otoczenia w wiązkach molekularnych. Ostatnio podejmuje się także próby doświadczeń czasowo-rozdzielczych na pojedynczych cząsteczkach. Niektóre metody mogą być użyte niezależnie od środowiska, w którym cząsteczki się znajdują, inne natomiast wykorzystują specyficzne własności fazy skondensowanej i mogą być stosowane jedynie w roztworach.

2.1 Czasowo-rozdzielcza spektroskopia fluorescencji

Zależne od czasu widma fluorescencji są relatywnie łatwe do analizowania i dostarczają bezpośrednich informacji o procesach zachodzących w cząsteczkach w stanie wzbudzonym. Ich pomiar jest najwygodniejszym narzędziem do badania reakcji typu $A \rightarrow B$, jeśli produkt i substrat emitują światło o różnym widmie. Obserwując charakterystyczne zmiany widm fluorescencji — zawężanie i przesuwanie się — można także w prosty sposób wnioskować o procesach wewnątrzcząsteczkowej redystrybucji energii i relaksacji oscylacyjnej.

Pomiar czasowo-rozdzielczych widm fluorescencji nie jest jednak równie łatwy jak ich analiza, zwłaszcza, gdy wpływające na nie procesy zachodzą w czasach krótszych od pikosekundy. Wolniejsze zmiany mogą być obserwowane za pomocą technik elektronicznych, takich jak kamery smugowe¹ lub skorelowane w czasie zliczanie fotonów^{2*}, natomiast rozdzielczość czasową rzędu 1 ps i lepszą można uzyskać jedynie stosując optyczne metody bramkowania fluorescencji.

O kamerze smugowej można myśleć jak o połączeniu dwóch dobrze znanych przyrządów: lampy oscyloskopowej i elektronowego wzmacniacza obrazu stosowanego w noktowizorach. Analizowane światło pada na fotokatodę i wybija z niej elektrony, które, podobnie jak w noktowizorze, są przyspieszane w stałym polu elektrycznym. Nim jednak dotrą do ekranu pokrytego luminoforem, przechodzą pomiędzy dwoma płytkami, do których, niczym sygnał podstawy czasu w lampie oscyloskopowej, przyłożone jest zmienne w czasie napięcie. Wytwarza ono pole elektryczne odchylające elektrony o kąt zależny od ich położenia wzdłuż toru, czyli od czasu wygenerowania w fotokatodzie. Jeśli przed fotokatodą umieszczona zostanie szczelina, a układ elektrostatycznych soczewek wewnątrz lampy zapewni jej obrazowanie na ekranie, to powstanie na nim dwuwymiarowy obraz przedstawiający zależność natężenia światła padającego na szczelinę od położenia wzdłuż szczeliny (jeden wymiar) i czasu (drugi wymiar). Można więc w naturalny sposób sprząc kamerę smugową z przyrządem spektralnym, rzutującym na szczelinę kamery rozszczipione światło emitowane przez badane cząsteczki, otrzymując na ekranie kamery poszukiwaną zależność widma fluorescencji od czasu. Rozdzielczość czasowa najlepszych przyrządów tego typu może być nawet nieznacznie lepsza od 1 ps,¹ a ich olbrzymią zaletą jest możliwość uzyskania pełnej zależności natężenia światła od długości fali i czasu w jednym pomiarze. Wadami są wysoka cena i niezbyt wysoka dynamika (< 1000).

W metodzie skorelowanego w czasie zliczania fotonów² wielokrotnie mierzy się czas upływający pomiędzy wzbudzeniem badanych cząsteczek przez krótki impuls światła a zarejestrowaniem przez układ detekcji pierwszego wyemitowanego fotonu. Histogram utworzony przez zmierzone wartości opisuje, w granicy dużej liczby pomiarów, zmiany natężenia fluorescencji w czasie. Jeśli pomiędzy badaną próbką a detektorem umieszczony jest monochromator, to wykonując doświadczenia przy jego różnych ustawieniach można odtworzyć ewolucję widm fluorescencji, wymaga to jednak wielokrotnego powtórzenia całego cyklu pomiarowego. W metodzie tej można bardzo dokładnie wyznaczyć funkcję aparaturową, rejestrując sygnał pochodzą-

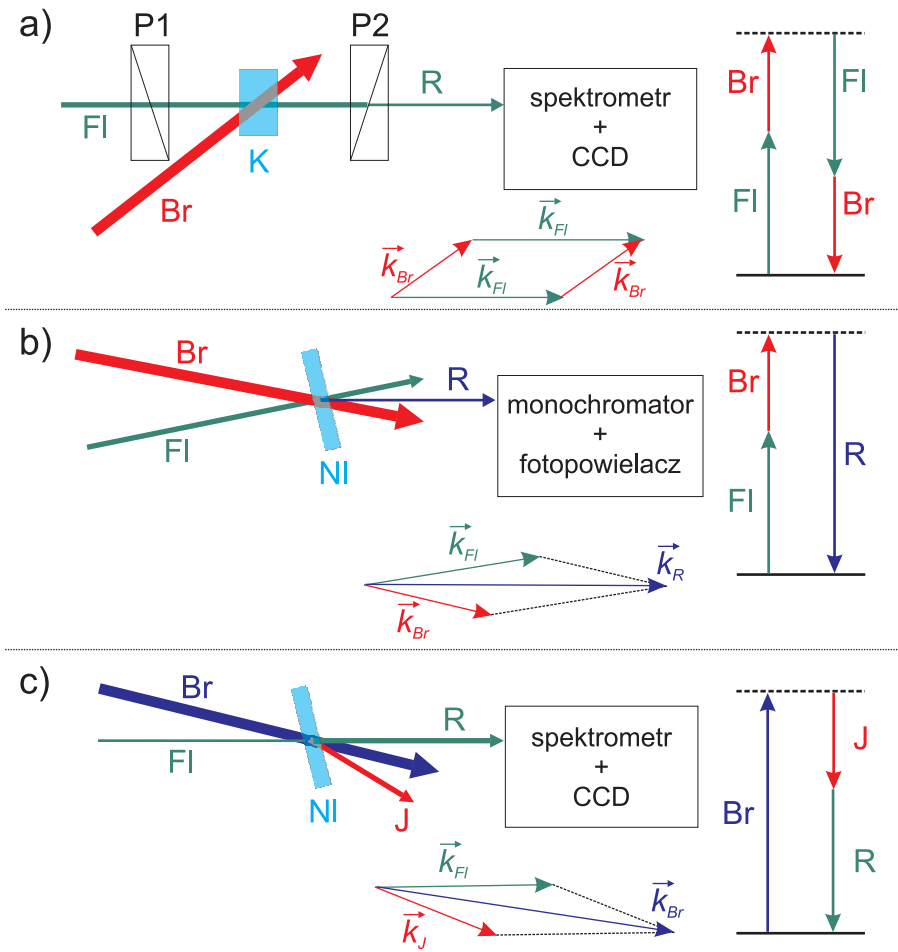
* *Time-Related Single Photon Counting*, TCSPC

cy od rozpraszającej próbki, a to pozwala przeprowadzić precyzyjną dekonwolucję kinetyk fluorescencji i uzyskać rozdzielczość czasową nawet dziesięciokrotnie wyższą niż czas trwania impulsów wzbudzających próbkę. Wynosi ona w najlepszym przypadku kilka ps, za to dynamika pomiaru osiąga 10^{10} , jeśli częstość repetycji impulsów jest duża, a pomiar trwa dostatecznie długo.

Zmiany widm fluorescencji wywołane ultraszybkimi procesami zachodzącymi w skali czasu krótszej niż 1 ps można obserwować jedynie poprzez optyczne bramkowanie fluorescencji. W metodzie tej impuls laserowy dzielony jest na dwa, z których jeden (pompujący) wzbudza badane cząsteczki. Drugi impuls, opóźniony względem pierwszego, oddziałuje z bramką — nieliniowym elementem optycznym, którego własności zmieniają się w wyniku oddziaływania ze światłem. Układ bramkowania i detekcji jest tak skonstruowany, by amplituda sygnału rejestrowanego przez detektor była proporcjonalna do scałkowanego w czasie iloczynu natężenia światła w impulsie bramkującym i natężenia wyemitowanego przez próbkę światła. Jeśli czas trwania impulsu bramkującego jest krótki w porównaniu z charakterystycznym czasem zmian fluorescencji, to na podstawie zarejestrowanego w funkcji opóźnienia sygnału można odtworzyć ewolucję fluorescencji w czasie. Opóźnienie pomiędzy impulsami zmieniane jest poprzez zmianę różnicy dróg przebywanych przez impulsy. Działanie bramki może być oparte na trzech różnych zjawiskach nieliniowych: optycznym efekcie Kerra, sumowaniu częstości światła i parametrycznym wzmocnieniu światła.

Najprostszy układ bramkowania fluorescencji wykorzystuje optyczny efekt Kerra czyli nieliniowe zjawisko trzeciego rzędu, polegające na zależności współczynnika załamania ośrodka od natężenia światła, istotne przy natężeniach światła dostępnych w impulsach ultrakrótkich. Spolaryzowane liniowo światło w odmienny sposób modyfikuje współczynnik załamania dla światła o różnych kierunkach polaryzacji, czyli powoduje powstanie indukowanej optycznie dwójłomności.

W układzie z bramką kerrowską na drodze zebranej i skolimowanej wiązki fluorescencji ustawione są kolejno (Rys. 2.1 (a)) polaryzator P1, kuweta z cieczą lub płytka z amorficznego materiału K oraz drugi polaryzator P2, zorientowany prostopadle do P1. Układ ten nie transmituje światła dopóki impuls bramkujący padający na kuwetę lub płytkę K nie wywoła optycznie indukowanej dwójłomności, która zmieni polaryzację światła tak, by jego część przechodziła przez P2. Bramka kerrowska jest otwarta przez czas życia dwójłomności, co ogranicza rozdzielczość czasową do kilkuset fs, jeśli ośrodkiem kerrowskim jest ciecz. Można ją wprawdzie poprawić zastępując ciecz szkłem lub kwarcem topionym, jednak wówczas indukowana dwójłomność jest bardzo niewielka, co ogranicza transmisję otwartej bramki. W metodzie tej występuje więc silna konkurencja pomiędzy rozdzielczością czasową a czułością. Dużym problemem jest również przeciek stacjonarnej fluorescencji przez skrzyżowane polaryzatory o skończonym współczynniku ekstynkcji. Jeśli impuls bramkujący trwa krócej niż 100 fs, a czas życia fluorescencji jest rzędu 1 ns, to już przeciek na poziomie 10^{-4} skutkuje tłem porównywalnym z mierzonym sygnałem. Zaletą jest natomiast mała zależność transmisji od długości fali, co pozwala rejestrować w jednym pomiarze całe widmo fluorescencji, jeśli za układem bramkującym umieszczony zostanie spektrometr.



Rysunek 2.1: Schematyczne przedstawienie trzech sposobów bramkowania fluorescencji, wykorzystujących: a) optyczny efekt Kerra, b) sumowanie częstości, c) wzmacnienie parametryczne. Fl-zebrana i skolimowana wiązka fluorescencji; Br-wiązka bramkująca; R-wiązka rejestrowana; J-wiązka jałowa; P1, P2 - polaryzatory; K-ośrodek kerrowski, NI-kryształ nieliniowy. Schematycznie przedstawiono zasady zachowania energii i pędu fotonów uczestniczących w procesie odpowiedzialnym za bramkowanie fluorescencji.

Najpopularniejsza obecnie metoda czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencji jest oparta na sumowaniu częstości emitowanego światła i impulsu bramkującego w kryształach nieliniowych.^{5,6} Proces ten, opisywany kwantowo, polega na anihilacji jednego fotonu fluorescencji i jednego fotonu z impulsu bramkującego oraz kreacji fotonu o energii będącej sumą energii fotonów zanihilowanych (Rys. 2.1(b)). Oczywiście zachodzi on jedynie wówczas, gdy fotony docierają do kryształu jednocześnie, dzięki czemu można wykorzystać go do bramkowania fluorescencji. Detekcja nie odbywa się w tym wypadku w zakresie widma emitowanej fluorescencji, a w obszarze gdzie wypadają długości fal wygenerowanych fotonów.

W procesie sumowania częstości zasada zachowania pędu jest równoważna (w opisie klasycznym) ustalonej relacji fazowej pomiędzy falą generowaną a nieliniową polaryzacją wytworzoną w kryształach przez fale padające. Spełnienie tego warunku można uzyskać dobierając polaryzację światła tak, by fale padające miały tę samą polaryzację i propagowały się w kryształach dwójłomnym jako promienie zwyczajne a fala powstająca miała polaryzację do nich prostopadłą i propagowała się jako promień nadzwyczajny (dopasowanie fazowe typu I), lub by fale padające miały polaryzację wzajemnie prostopadłe a fala powstająca była promieniem zwyczajnym lub nadzwyczajnym (dopasowanie typu II). Wówczas przy zadanych długościach fal padających istnieją takie kąty pomiędzy kierunkami ich propagacji a osią optyczną kryształu, dla których warunek dopasowania fazowego jest spełniony, jednak tylko w ograniczonym zakresie długości fal. Dlatego przy użyciu tej metody trudny jest pomiar widma fluorescencji — najczęściej wykorzystuje się ją do niezależnego pomiaru kinetyk fluorescencji na różnych długościach fali, dla każdej z nich dobierając właściwą orientację kryształu. Układ detekcji może być wówczas jednokanałowy, co jest wygodne, gdyż niewielkie zazwyczaj natężenie powstającej fali wymaga zliczania pojedynczych fotonów, najłatwiejszego przy użyciu fotopowielacza.

Złożenie całego widma z wielu pomiarów wykonanych w opisanym układzie jest czasochłonne, jednak w pewnych warunkach możliwy jest pomiar większego fragmentu widma fluorescencji, poprzez odpowiedni dobór kryształu, geometrii doświadczenia i długości fali impulsów bramkujących w bliskiej podczerwieni.⁷ Alternatywnym rozwiązaniem jest szybki obrót kryształu w czasie pomiarów i detekcja wielokanałowa za pomocą spektrometru wyposażonego w kamerę CCD ze wzmacniaczem obrazu.

Pomiar całego widma fluorescencji bez konieczności stosowania czułych detektorów umożliwia metoda zademonstrowana po raz pierwszy w Laboratorium Procesów Ultraszybkich Uniwersytetu Warszawskiego.⁸ Do bramkowania fluorescencji wykorzystuje ona parametryczną przemianę częstości — proces odwrotny do sumowania częstości — w którym z jednego fotonu powstają dwa, o mniejszej energii. Zjawisko to może zachodzić spontanicznie, wówczas energie powstających fotonów są wyznaczone przez orientację kryształu względem wiązki bramkującej (słuszniej zwanej w tym wypadku pompującą) lub w sposób wymuszony, gdy stan jednego z emitowanych fotonów jest taki sam jak stan fotonu pochodzącego z drugiej wiązki światła, zasiewającej, a energia i kierunek emisji drugiego fotonu, jałowego, wynikają z zasad zachowania energii i pędu (Rys. 2.1(c)). W takiej sytuacji część wiązki zasiewającej pokrywająca się w czasie z impulsem pompującym ulega wzmocnie-

niu, nawet ponad 10^7 razy. Ze względu na swój mechanizm, proces ten zwany jest wzmocnieniem parametrycznym. Jeśli kąt pomiędzy wiązkami pompującą i zasiewającą jest odpowiedni, to pasmo wzmocnienia może być bardzo duże i obejmować prawie cały zakres widzialny.^{9, 10}

Metoda ta pozwala rejestrować bramkowaną fluorescencję w zakresie od 500 do 750 nm, z rozdzielczością czasową rzędu 100 fs. Dzięki dużemu wzmocnieniu można stosować relatywnie tanie kamery CCD bez wzmacniaczy obrazu do detekcji wzmocnionej fluorescencji. Co więcej, można wykorzystać detektory pracujące w zakresie widzialnym do badania kinetyk fluorescencji w bliskiej podczerwieni, jeśli detekcji dokonuje się nie na wzmocnionej wiązce zasiewającej, a na wiązce jałowej, której długość fali przypada wówczas w obszarze widzialnym.¹¹

Choć pozbawiona podstawowych ograniczeń technik wykorzystujących optyczny efekt Kerra i sumowanie częstości, metoda ta sprawia inne problemy ze względu na konieczność bardzo precyzyjnego ustawienia układu, w którym z dużą dokładnością zachowane muszą być kąty pomiędzy osią kryształu, wiązką bramkującą i kierunkiem zebranej emisji badanych cząsteczek. Jej wadą jest również obecność tła pochodzącego ze spontanicznej emisji parametrycznej z kryształu (tło wynikające z niewzmocnionej fluorescencji stacjonarnej jest o wiele mniejsze, jeśli wzmocnienie jest duże). Z tych powodów wciąż występują duże trudności w zastosowaniu opisanego sposobu rejestracji widm fluorescencji w praktycznych zagadnieniach.¹²

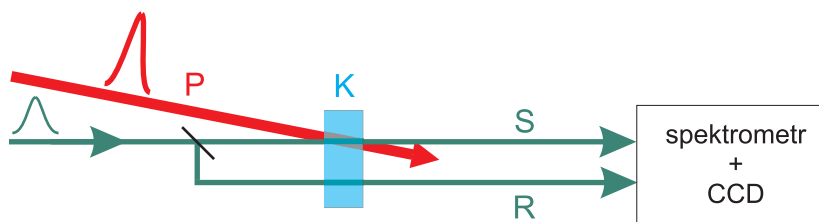
2.2 Spektroskopia absorpcji przejściowej

Pomiar wywołanych wzbudzeniem optycznym zmian absorpcji cząsteczek chemicznych jest najprostszym zastosowaniem techniki pompa-sonda. W metodzie tej jeden krótki impuls światła (pompujący) wzbudza badane cząsteczki, drugi natomiast (sondujący), opóźniony o pewien czas w stosunku do pierwszego, monitoruje zmiany absorpcji. Impuls sondujący musi mieć wielokrotnie mniejsze natężenie od impulsu pompującego, by można było założyć, że nie wpływa on istotnie na ustalone po wzbudzeniu populacje cząsteczek w różnych stanach elektronowych.

By oddzielić zmiany wywołane wzbudzeniem od absorpcji stacjonarnej wiązkę impulsów próbkujących można podzielić na dwie wiązki o podobnym natężeniu i jedną z nich (referencyjną) poprowadzić przez próbkę w miejscu niepokrywającym się z obszarem wzbudzenia (Rys. 2.2). Pozwala to także zredukować szumy wywołane fluktuacjami energii i widma impulsów sondujących.

Spektroskopia absorpcji przejściowej była podstawowym narzędziem opisanych w niniejszej pracy badań, dlatego jej omówieniu poświęcimy więcej miejsca niż innym technikom CR. Początki tej metody sięgają czasów przed wynalezieniem lasera, bo już w roku 1949 Porter i Norrish wykorzystując impulsy światła wytwarzane przez dwie wysokociśnieniowe lampy błyskowe przeprowadzili pierwsze badania nad powstawaniem wolnych rodników w roztworach¹³ z mili- a wkrótce potem mikrosekundową rozdzielczością czasową. Ich osiągnięcie zostało uhonorowane nagrodą Nobla w roku 1967.

Badania dynamiki szybszych procesów stały się możliwe po wynalezieniu lasera przez Maimana¹⁴ w roku 1960, gdyż wkrótce po zbudowaniu pierwszego lasera



Rysunek 2.2: Schemat pomiaru widm absorpcji przejściowej w roztworach; K-kuweta z badanym roztworem, P-wiązka pompująca, S-wiązka sondująca, R-wiązka referencyjna.

pracy ciągłej opracowano techniki wytwarzania krótkich impulsów poprzez przełączanie dobroci wnęki i synchronizację modów. Czas trwania impulsów skracano wraz z postępem technik laserowych, by w roku 1987 osiągnąć rekordową wówczas wartość 6 fs.¹⁵

Po raz pierwszy technikę absorpcji przejściowej z pikosekundową rozdzielczością czasową do pomiaru ultraszybkich procesów w cząsteczkach zastosowali Shelton i Armstrong¹⁶ w 1967 roku. Uzyskana przez nich rozdzielczość czasowa pozwoliła jedynie na oszacowanie od góry czasu życia stanu wzbudzonego w cząsteczce barwnika Eastman 9740 (25 ps). Duży wkład przyniosły prace Rentzepisa i współpracowników. Ich pierwsze doświadczenia dotyczyły pomiarów pikosekundowych czasów relaksacji poziomów oscylacyjnych we wzbudzonym stanie elektronowym.¹⁷ W tym samym czasie Scarlet i inni zmierzili czas życia stanu wzbudzonego w barwniku Eastman 9860 z rozdzielczością czasową pozwalającą na wyznaczenie tego czasu (6 ps), obserwując dynamikę wybielania — spadku absorpcji wywołanego impulsem pompującym.¹⁸

Precyzyjna kontrola krótszego niż 1 ns opóźnienia pomiędzy impulsami bez konieczności stosowania wyrafinowanych technik synchronizacji laserów jest możliwa przy użyciu optycznych linii opóźniających, w których impulsy pompujące i sondujące przebywają różną drogę. Nie od razu jednak przyjęły one powszechną obecnie formę retroreflektora umieszczonego na stoliku przesuwym i znajdującego się w jednym z ramion układu.

Rentzepis stosował tzw. *echelon*, czyli lustro schodkowe składające się z umieszczonych obok siebie warstw odbijających o różnej grubości. Po odbiciu od takiego lustra różne fragmenty przestrzenne wiązki miały różne opóźnienia i zarejestrowanie natężenia takiej wiązki po przejściu przez kuwetę na liniowym detektorze dawało od razu wartości natężenia wiązki sondującej dla różnych opóźnień.¹⁹

W doświadczeniach grupy Scarleta ciąg impulsów po przejściu przez próbkę był zawracany przez zwierciadło umieszczone w takiej odległości od próbki, że impuls pompujący pokrywał się w próbce z odbitym od lustra poprzednim impulsem z ciągu, który monitorował zmiany absorpcji wywołane impulsem pompującym (oczywiście impuls sondujący był impulsem pompującym dla jeszcze wcześniejszego impulsu). Przesuwając nieznacznie lustro można było zmieniać opóźnienie

pomiędzy impulsami.

Pikosekundowe impulsy były początkowo wytwarzane w procesie generacji drugiej harmonicznej światła z laserów neodymowych pracujących w trybie synchronizacji modów. Było to bardzo poważne ograniczenie, gdyż impulsy pompujące i sondujące miały długość fali około 530 nm, co z jednej strony zawężało dostępną do badań grupę cząsteczek, a z drugiej nie pozwalało na obserwację widm absorpcji przejściowej – możliwa była a jedynie rejestracja kinetyk absorpcji przy 530 nm.

Pełnię możliwości spektroskopia absorpcji przejściowej uzyskała dopiero po pracach Alfano i Shapiro,²⁰ którzy w 1970 roku zaproponowali metodę wytwarzania ultrakrótkich impulsów o bardzo szerokim widmie (obejmującym np. cały zakres widzialny) w procesie generacji tzw. superkontinuum²¹ po zogniskowaniu wiązki laserowej ośrodkiem przezroczystym. Metodę tę w zastosowaniu do pomiarów absorpcji przejściowej rozwinęli Rentzepis i współpracownicy^{22,23} i do dzisiaj jest ona powszechnie wykorzystywana. Dzięki niej możliwe jest monitorowanie zmian absorpcji w zakresie spektralnym obejmującym kilkaset nm, jeśli sondujący impuls superkontinuum rejestrowany jest przez spektrometr.

Energia impulsów generowanych przez lasery pikosekundowe jest zbyt mała do generacji szerokopasmowego superkontinuum, konieczne jest więc ich wzmacnianie, co jest okupione zmniejszeniem częstości repetycji. Dlatego w 1979 roku Wiesenfeld i Ippen zaproponowali nietypową metodę pomiaru absorpcji przejściowej na dowolnych długościach fal bez wykorzystania superkontinuum.²⁴ W ich układzie absorpcja przejściowa próbkowana była nie ultrakrótkim, lecz długim impulsem (20 ns) pochodzącym ze strojonego lasera barwnikowego. Rozdzielczość czasowa uzyskiwana była dzięki bramkowaniu wiązki tego lasera przy pomocy krótkiego impulsu w procesie sumowania częstości, podobnie jak w czasowo-rozdzielczych pomiarach fluorescencji. Impulsy pikosekundowe dzielone były na płytce światłodzielącej, jeden z nich (pompujący) indukował zmiany absorpcji w próbce, drugi natomiast (bramkujący) razem z długim impulsem próbkującym padał na kryształ nieliniowy, w którym zachodziło przetwarzanie częstości. Zmiany natężenia wytworzonej w kryształach wiązki o częstości sumacyjnej odzwierciedlały zmiany absorpcji w próbce dla długości fali wiązki próbkującej. Technika tą uzyskano rozdzielczość czasową poniżej 1 ps, przy łatwym przestrajaniu długości fali, na której mierzone absorpcję przejściową, nie przyjęła się ona jednak powszechnie ze względu na wysoki stopień skomplikowania układu pomiarowego.

Czas trwania impulsów superkontinuum, zazwyczaj wydłużonych wskutek dyspersji prędkości grupowej w ośrodku, w którym są generowane można znacząco skrócić za pomocą kompresorów zbudowanych z siatek dyfrakcyjnych lub pryzmatów. Dzięki bardzo szerokiemu widmu otrzymane w ten sposób impulsy są znacznie krótsze niż impulsy generowane przez układ laserowy. Wykorzystali to Brito Cruz ze współpracownikami między innymi w eksperymencie pozwalającym obserwować w femtosekundowej skali czasu wypalanie dziur w niejednorodnie poszerzonym widmie absorpcyjnym barwników.²⁵ W ich układzie impulsy o czasie trwania 60 fs przechodziły przez światłowód o długości 12 mm, w którym zachodziło poszerzenie spektralne wskutek zjawiska samomodulacji fazy. Czas trwania poszerzonych impulsów skracany był do 10 fs w kompresorze siatkowym. Możliwość zwiększenia

rozdzielczości czasowej nie została jednak w pełni wykorzystana w tym doświadczeniu, gdyż jedynie impulsy próbkujące były skracane. Niedawno zademonstrowano metodę generacji impulsów krótszych niż 10 fs zarówno w zakresie widzialnym jak i w nadfiolecie (o centralnej długości fali ok. 200 nm) bez konieczności ich dodatkowej kompresji²⁶ wykorzystując poszerzenie widma podczas propagacji w kapilarze wypełnionej gazem szlachetnym. Zastosowanie tej metody w technice pompa-sonda, umożliwiło zbadanie reakcji otwierania pierścienia 1,3-cykloheksadienu po wzbudzeniu optycznym z rozdzielczością czasową lepszą niż 10 fs.²⁷

Badania cząsteczek o dowolnym widmie absorpcji stały się możliwe po skonstruowaniu przestrajalnych źródeł ultrakrótkich impulsów: laserów barwnikowych z synchronizacją modów,^{28,29} następnie generatorów parametrycznych³⁰ (OPO*), a wreszcie niewspółliniowych optycznych wzmacniaczy parametrycznych^{9,10} (NOPA†). Te ostatnie zyskały największą popularność we współczesnej spektroskopii CR, gdyż są niezawodne, relatywnie łatwe w obsłudze i umożliwiają generację impulsów o czasie trwania rzędu 10 fs. Układy wykorzystujące impulsy z NOPY do próbkowania absorpcji mogą mieć wyższą rozdzielczość czasową (typowo 30-50 fs) niż układy z próbkowaniem za pomocą impulsów superkontinuum, kosztem zakresu rejestrowanego widma absorpcji. Detekcja w tych układach jest często jednokanałowa, a kinetyki przy różnych długościach fal rejestruje się przestrajać NOPE.

Generatory parametryczne mogą być również źródłem impulsów w podczerwieni pozwalając na wzbudzanie i monitorowanie przejść oscylacyjnych. Choć stosowane w tym zakresie widma elementy optyczne i detektory są zupełnie inne niż odpowiednie dla światła widzialnego, to idea czasowo-rozdzielczych pomiarów absorpcji pozostaje taka sama.

Za łatwość zbudowania układu do pomiaru absorpcji przejściowej trzeba zapłacić dużym wysiłkiem włożonym w analizę wyników. Typowe widmo jest sumą trzech różnych widm: absorpcji ze stanu wzbudzonego, emisji wymuszonej i odzwierciedlającego widmo absorpcji stacjonarnej wybielania, spowodowanego zmniejszeniem populacji stanu podstawowego. Rozdzielenie ich jest zazwyczaj bardzo trudne i możliwe tylko w niektórych przypadkach po zastosowaniu technik analizy globalnej (Rozdział 4). Jeśli jednak się to uda, to uzyskane w ten sposób informacje są bogatsze niż dostarczane przez widma fluorescencji.

2.3 Inne techniki czasowo-rozdzielcze

W układzie pomiarowym opartym na schemacie pompa-sonda można, zamiast analizować zmiany absorpcji, rejestrować widmo fluorescencji wzbudzonej impulsami sondującymi³¹ lub ramanowskiego rozproszenia tych impulsów.³² Pierwsza z tych metod zazwyczaj jest stosowana do badań w wiązkach molekularnych, druga natomiast – w roztworach.

W innej metodzie detekcji, również stosowanej w wiązkach molekularnych, energia fotonów sondujących jest dostatecznie duża, by powodować jonizację cząsteczek,

* *Optical Parametric Oscillator*

† *Non-collinear Optical Parametric Amplifier*

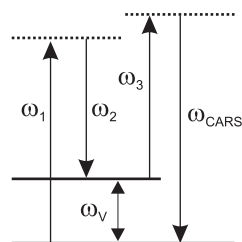
a mierzoną wielkością jest zależne od opóźnienia natężenie prądu jonowego.

Typową techniką pompa-sonda jest też pomiar optycznego efektu Kerra.³³ W najprostszym układzie pomiarowym badany roztwór umieszczony jest pomiędzy dwoma skrzyżowanymi polaryzatorami, stojącymi na drodze wiązki sondującej, podobnie jak bramka kerrowska w pomiarze fluorescencji z rozdzielczością czasową. Impuls pompujący wywołuje w próbce dwójłomność, wskutek czego część impulsu sondującego jest transmitowana przez drugi polaryzator, a zmiany tej transmisji w czasie odzwierciedlają zmiany indukowanej dwójłomności.

Bardziej złożone metody pomiaru wykorzystują więcej niż jeden impuls pompujący lub sondujący. Bezpośrednim rozwinięciem spektroskopii absorpcji przejściowej jest technika, w której po impulsie pompującym dociera do próbki impuls przenoszący część cząsteczek ze stanu wzbudzonego do stanu podstawowego poprzez emisję wymuszoną*. Impuls sondujący oddziałuje więc z wytworzoną w dobrze określonym momencie populacją cząsteczek w stanie podstawowym, a zmiany jego widna w czasie odzwierciedlają kinetykę procesu zachodzącego w tym stanie. Metoda ta jest często stosowana w badaniach dynamiki dużych cząsteczek biologicznych.³⁴

Trzy impulsy w określonej sekwencji czasowej oddziałują z próbką również w pomiarach spójnego antystokesowskiego rozpraszania Ramana³⁵ (CARS[†]). Foto-

ny pochodzące z dwóch impulsów, o częstościach ω_1 i ω_2 wzbudzają w procesie ramanowskim stan oscylacyjny o energii $\hbar\omega_V = \hbar(\omega_1 - \omega_2)$, a trzeci impuls ulega ramanowskiemu rozproszeniu w wyniku oddziaływania z cząsteczką w oscylacyjnym stanie wzbudzonym, prowadząc do emisji fotonu o częstości $\omega_{CARS} = \omega_3 + \omega_V$ (Rys. 2.3). Natężenie wygenerowanego impulsu jest rejestrowane w funkcji opóźnienia pomiędzy dwoma pierwszymi impulsami (jednoczesnymi) a trzecim impulsem. Pomiar taki może też być przeprowadzony w elektronowym stanie wzbudzonym, jeśli wymienione impulsy są poprzedzone impulsem wzbudzającym optycznie cząsteczki, dostarczając podobnych informacji co spektroskopia absorpcji przejściowej, jednak niekiedy łatwiejszych do interpretacji.



Rysunek 2.3: Schemat przejść prowadzących do emisji rozproszonych fotonów w zjawisku CARS

Również trzy impulsy są wykorzystywane w technice pomiaru polegającej na wytwarzaniu w roztworze badanych cząsteczek przejściowej siatki dyfrakcyjnej^{37‡}. Dwa z tych impulsów propagują się pod niewielkim kątem względem siebie i interferują przestrzennie w próbce, prowadząc do periodycznej modulacji zależnych od natężenia światła wielkości: absorpcji (siatka natężeniowa) lub współczynnika załamania (siatka fazowa). Trzeci impuls, opóźniony względem nich, ugina się na wytworzonej w ten sposób siatce dyfrakcyjnej, a natężenie ugiętego światła re-

*Nie zaproponowano dotychczas polskiego odpowiednika angielskiej nazwy tej techniki, *pump-dump-probe*

†Coherent Anti-Stokes Raman Scattering

‡Transient gating

jestrowane jest w zależności od opóźnienia. Siatkę przejściową można wytworzyć również w stanie wzbudzonym, jeśli interferujące impulsy poprzedzone są impulsem wzbudzającym próbkę.

2.4 Czasowo-rozdzielcze pomiary anizotropii

W większości opisanych wyżej technik czasowo-rozdzielczych duże znaczenie ma stan polaryzacji impulsów światła oddziałujących z cząsteczkami lub, w przypadku spektroskopii fluorescencji, impulsów wzbudzających i bramkujących. Przeprowadzając pomiary za pomocą impulsów spolaryzowanych liniowo, przy różnych kierunkach polaryzacji, uzyskać można dodatkowe informacje o dynamice reorientacji cząsteczek, kierunkach momentów przejść dipolowych i wiele innych. W niektórych przypadkach, między innymi tych, którym poświęcona jest niniejsza praca, doświadczenia z kontrolą polaryzacji światła są jedynym źródłem informacji o badanych procesach, bo te ostatnie nie powodują zmian spektralnych.

Szczególnie istotne są zależności polaryzacyjne pomiędzy impulsami w pomiarach absorpcji przejściowej i fluorescencji, zarówno stacjonarnej jak i czasowo-rozdzielczej. W obu tych metodach pomiaru impulsy pompujące są zwykle spolaryzowane liniowo i prawdopodobieństwo wzbudzenia wybranej z całej próbki cząsteczki jest tym większe, im kierunek jej momentu przejścia dipolowego jest bardziej równoległy do kierunku polaryzacji światła wzbudzającego. Powoduje to częściową polaryzację fluorescencji próbki oraz zależność absorpcji przejściowej od polaryzacji impulsu sondującego. Zmiany kierunków momentów przejść w czasie, wywołane w najprostszym przypadku rotacją cząsteczek, są obserwowane jako zmiany natężenia fluorescencji rejestrowanej przy polaryzacjach równoległej i prostopadłej do kierunku wzbudzenia, nawet jeśli całkowite natężenie emitowanego światła pozostaje w przybliżeniu stałe (analogicznie w przypadku absorpcji przejściowej). Z jednej strony powoduje to konieczność wyeliminowania tego efektu, jeśli celem jest pomiar kinetyki populacji cząsteczek w różnych stanach, z drugiej natomiast pozwala śledzić kinetykę procesów reorientacji.

Rejestrując fluorescencję emitowaną przy polaryzacjach równoległej ($I_{||}$) i prostopadłej ($I_{\perp}$) do kierunku polaryzacji wzbudzenia lub zmianę absorbancji próbki dla światła o obu polaryzacjach ($\Delta A_{||}$ i $\Delta A_{\perp}$) można osiągnąć oba wymienione cele. Całkowite natężenie fluorescencji jest proporcjonalne do³⁶ $I = I_{||} + 2I_{\perp}$ i, analogicznie, niezależna od orientacji zmiana absorbancji próbki jest proporcjonalna do $\Delta A = \Delta A_{||} + 2\Delta A_{\perp}$. Jeśli efekty orientacyjne nie są istotne, to wielkości te można również wyznaczyć w pojedynczym pomiarze, dobierając odpowiednio kąt α pomiędzy kierunkami polaryzacji wzbudzenia i detekcji. Z prawa Malusa, mówiącego, że natężenie światła transmitowanego przez dwa polaryzatory zorientowane pod kątem α jest proporcjonalne do $\cos^2 \alpha$, wynika, że natężenie mierzonego sygnału S_{α} jest równe

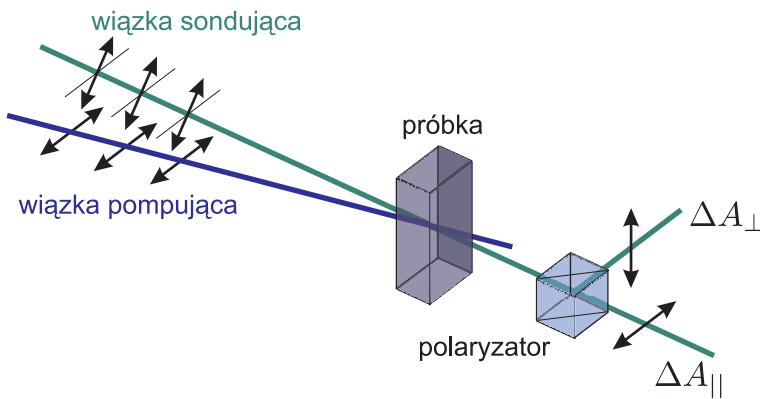
$$S_{\alpha} = S_{||} \cos^2 \alpha + S_{\perp} \cos^2(90^{\circ} - \alpha) = S_{||} \cos^2 \alpha + S_{\perp} \sin^2 \alpha, \quad (2.1)$$

gdzie S_{α} , $S_{||}$, $S_{\perp}$ oznaczają odpowiednie wartości natężenia fluorescencji lub zmian absorbancji. Jeśli α jest takie, że $\sin^2 \alpha = 2 \cos^2 \alpha$ (czyli $\alpha \approx 54.7^{\circ}$, kąt ten zwany

jest kątem magicznym*) to z mierzonego sygnału wyeliminowane są efekty orientacyjne, gdyż wówczas

$$S_{MA} = \frac{1}{3} (S_{||} + 2S_{\perp}). \quad (2.2)$$

Chcąc uzyskać informację o efektach orientacyjnych w praktyce nie wykonuje się dwóch odrębnych doświadczeń przy różnych polaryzacjach wzbudzenia i detekcji fluorescencji lub próbkowania absorpcji, ale jedno, w którym sygnał rejestrowany jest jednocześnie w obu polaryzacjach. W przypadku pomiaru absorpcji przejściowej oznacza to, że wiązka sondująca, spolaryzowana pod kątem 45° względem kierunku polaryzacji wiązki pompującej, po przejściu przez próbkę trafia do polaryzatora, który dzieli ją na dwie wiązki, spolaryzowane równolegle i prostopadłe do kierunku wzbudzenia (Rys. 2.4).



Rysunek 2.4: Schemat pomiaru anizotropii absorpcji przejściowej.

Miarą własności polaryzacyjnych próbki jest anizotropia mierzonego sygnału r zdefiniowana w następujący sposób:

$$r = \frac{S_{||} - S_{\perp}}{S_{||} + 2S_{\perp}}. \quad (2.3)$$

Jej wartość w sytuacji, gdy kierunek momentu przejścia elektronowego, które prowadzi do wzbudzenia tworzy kąt β z kierunkiem momentu przejścia obserwowanego poprzez pomiar natężenia fluorescencji lub absorpcję przejściową wynosi³⁶

$$r(\beta) = \frac{1}{5} (3 \cos^2 \beta - 1). \quad (2.4)$$

Oznacza to, że maksymalna wartość anizotropii, w sytuacji gdy nie następuje zmiana kierunku momentu przejścia pomiędzy momentem wzbudzenia i emisji lub próbkowania jest równa 0.4. Wszelkie procesy prowadzące do reorientacji momentu

* Magic angle, MA

przejścia powodują zmniejszenie anizotropii, w skrajnym przypadku do -0.2 (dla $\beta = 90^\circ$).

Obserwowany w pomiarach czasowo-rozdzielczych zanik anizotropii³⁸ może być skutkiem procesów „wewnętrznych”, np. przejść międzysystemowych, konwersji wewnętrznej lub izomeryzacji albo „zewnętrznych”: dyfuzji rotacyjnej a także radiacyjnego i nie-radiacyjnego transferu energii wzbudzenia pomiędzy cząsteczkami (FRET*). Jeśli pomiary anizotropii mają prowadzić do poznania własności samych cząsteczek, to zmiany anizotropii wywołane przyczynami zewnętrznymi maskują właściwe efekty i powinny być wyeliminowane lub przynajmniej ograniczone i uwzględnione w analizie wyników doświadczalnych.

Transfer energii wzbudzenia ma istotny wpływ jedynie przy dużych stężeniach, przekraczających 10^{-3} M, więc łatwo jest go uniknąć, gdyż pomiary prowadzi się zazwyczaj przy mniejszych stężeniach. Dyfuzję rotacyjną można niekiedy całkowicie wyeliminować, umieszczając badane cząsteczki w sztywnych matrycach (np. polimerowych). Jednak nie zawsze można tak postąpić, zwłaszcza w pomiarach typu pompa-sonda, gdzie naświetlanie jednego miejsca próbki szybko prowadzi do jej degradacji i konieczne są badania roztworów. Wówczas warto wybrać rozpuszczalnik o jak największej lepkości, by maksymalnie spowolnić rotację cząsteczek, którą trzeba uwzględnić analizując wyniki. W ogólnym przypadku dyfuzja rotacyjna prowadzi do zaniku anizotropii, który można opisać sumą pięciu zaników wykładniczych,³⁶ jednak tylko 3 z nich mają istotnie różną szybkość. Dlatego z bardzo dobrą dokładnością kinetykę anizotropii można opisać funkcją postaci

$$r(t) = \sum_{i=1}^3 r_i \exp(t/\theta_i), \quad (2.5)$$

gdzie współczynniki r_i zależą od orientacji momentów przejść dipolowych w cząsteczce, a czasy korelacji rotacyjnej θ_i są określone przez kształt cząsteczki. Liczba różnych czasów korelacji rotacyjnej może być zredukowana do dwóch lub jednego przez symetrie kształtu cząsteczki lub orientacji momentów przejścia.

Ważną własnością anizotropii jest addytywność, która oznacza, że jeśli w próbce znajdują się cząsteczki o różnej anizotropii r_i , to jej obserwowana wartość jest równa

$$r = \frac{\sum_i f_i r_i}{\sum_i f_i}, \quad (2.6)$$

gdzie współczynniki f_i są proporcjonalne do natężenia fluorescencji emitowanej przez każdy rodzaj cząsteczek lub — w pomiarach absorpcji przejściowej — do iloczynu stężenia cząsteczek i przekroju czynnego na procesy absorpcji i emisji wymuszonej.

2.5 Efekty koherentne

Wyniki doświadczeń, których rozdzielczość czasowa nie przekracza kilku pikosekund mogą być opisane przez klasyczny transfer populacji pomiędzy różnymi

* Fluorescence Resonance Energy Transfer

stanami elektronowymi lub izomerami cząsteczki, jeśli udział procesów relaksacji oscylacyjnej jest niewielki. Natomiast dynamikę relaksacji można z zadowalającą dokładnością przybliżyć wprowadzając zależność widm elektronowych cząsteczki od czasu. Na procesy zachodzące w skali pikosekund nie ma wpływu zależność fazy pola elektrycznego impulsu od czasu.

Inaczej jest, gdy czas trwania impulsów jest porównywalny z okresem drgań cząsteczki i krótszy niż czas dekoherencji wzbudzonych drgań. Wówczas widmo impulsu jest dostatecznie szerokie, by objąć kilka stanów wzbudzonych wybranego drgania i spójnie je wzbudzić, prowadząc do powstania zlokalizowanego pakietu falowego. Jego ewolucja czasowa odpowiada zmianie geometrii cząsteczki wzdłuż współrzędnej danego modu, czego rezultatem są periodyczne zmiany widma absorpcji i fluorescencji, często obserwowane w doświadczeniach z femtosekundowymi impulsami światła.^{39–43} W tym wypadku od kształtu impulsów wzbudzających zależeć może przebieg reakcji.

Inny koherentny efekt obserwuje się w pomiarach anizotropii, jeśli cząsteczki są wzbudzane do zdegenerowanego ze względu na symetrię stanu elektronowego. Z sytuacją taką mamy do czynienia w cząsteczkach posiadających trzykrotną lub wyższą oś symetrii. Wartość anizotropii bezpośrednio po wzbudzeniu przekracza wówczas 0.4 (teoretycznie powinna wynosić 0.7) i maleje w czasie do 0.1.^{44–47} Wokół szczegółów dotyczących tego przypadku narosły pewne kontrowersje⁴⁶ i nie jest do końca jasna interpretacja obserwowanych czasów zaniku. Symetria wszystkich opisanych w niniejszej pracy cząsteczek jest jednak zbyt mała, by efekty te mogły mieć miejsce, nie będziemy się więc nimi więcej zajmować.

Rozdział 3

Układ pomiarowy

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki czasowo-rozdzielczych badań cząstek organicznych zostały otrzymane przy pomocy dwóch różnych układów umożliwiających pomiar anizotropii absorpcji przejściowej. W jednym z nich absorpcja próbkowana była szerokopasmowym impulsem superkontinuum, którego widmo rejestrowano za pomocą spektrometru, w drugim natomiast impulsy sondujące i pompujące pochodziły z tego samego źródła, NOPY.

3.1 Eksperyment wielokolorowy

Układ doświadczalny, w którym możliwe były jednoczesne pomiary absorpcji przejściowej przy dwóch polaryzacjach (Rys. 3.1) powstał poprzez modyfikację zbudowanego wcześniej układu do pomiarów widm absorpcji przejściowej.⁴⁸

Impulsów laserowych o centralnej długości fali 800 nm, połówkowym czasie trwania 60 fs i energii ok. 0.5 mJ z częstotliwością repetycji 1.18 kHz dostarcza fabryczny wzmacniacz szafirowy typu CPA* (α -1000 produkcji BMI) zasiewany z femtosekundowego lasera szafirowego własnej konstrukcji. Wiązka wychodząca ze wzmacniacza przechodzi przez jednostronnie pokrytą warstwą antyrefleksyjną płytkę szklaną (BS1), od której odbija się ok. 4% natężenia światła padającego. Pozostała część wiązki trafia do fabrycznego układu typu NOPA (Topas-white produkcji Light Conversion), który generuje impulsy przestrajalne w zakresie 520-750 nm o połówkowym czasie trwania 20-30 fs i energii 10-20 μ J. Wiązka tych impulsów, służąca do wzbudzania badanych cząsteczek, prowadzona jest za pomocą zwierciadeł aluminiowych i ogniskowana przez soczewkę L4 o ogniskowej 500 mm.

Wiązka odbita od płytki BS1 służy do generacji impulsów superkontinuum, które próbują wywołać wzbudzenie zmiany absorpcji roztworu badanych cząsteczek. Impulsy światła białego o stabilnej energii i gładkim widmie powstają tylko w wąskim zakresie energii impulsów padających, dlatego ich natężenie może być zmieniane za pomocą półfalówki HW1 umieszczonej przed polaryzatorem P1.

*Chirped Pulse Amplifier

Przysłona kołowa A1 służy do zmniejszenia średnicy wiązki o ok. 20-30%, gdyż stwierdzono, że superkontinuum ma wtedy wyższą stabilność i gładsze widmo.

Następnie wiązka jest odbijana w kierunku retroreflektora zbudowanego z trzech luster sklejonych w kształcie narożnika sześciangu i umieszczonego na sterowanym komputerowo stoliku przesuwным o długości 30 cm. Zmiana położenia stolika z retroreflektorem umożliwia kontrolę opóźnienia pomiędzy impulsami pompującymi i sondującymi w zakresie od 0 do ok. 2 ns z krokiem $2/3$ fs (w praktyce najmniejszy stosowany krok to 20 fs). Po powrocie z linii opóźniającej wiązka ogniskowana jest za pomocą soczewki L1 o ogniskowej 125 mm w wirującej płytce z fluorku wapnia (CaF_2), w której generowane jest światło białe (obróć płytki jest konieczny ze względu na jej degradację, jeśli jest oświetlana w jednym miejscu dłużej niż kilka minut). Płaszczyzna płytki obrazowana jest w kuwecie pomiarowej za pomocą kwarcowej soczewki L2 o ogniskowej 50 mm. Przysłona kołowa A2 o średnicy 1 mm transmituje jedynie centralną część generowanego superkontinuum o najszerszym a zarazem najbardziej jednorodnym widmie (zawierającym fale o długościach większych od 325 nm).

Ukształtowana przez soczewkę L2 i przysłonę A2 wiązka pada na metalizowaną płytkę światłodziącą BS2, która odbija do góry ok. 50% światła. W odległości kilku mm nad płytką znajduje się zwierciadło, kierujące odbitą wiązkę w przybliżeniu poziomo, jednak pod niewielkim kątem względem wiązki transmitowanej przez BS2. Od tego momentu dwie wiązki światła białego o zbliżonych natężeniach biegną w płaszczyźnie pionowej w niewielkiej odległości od siebie. Szerokopasmowa półfalówka HW2 obraca ich polaryzację o 45° , następnie wiązki odbijają się od zwierciadła i trafiają do kuwety, gdzie jedna z nich (sondująca) pod niewielkim kątem przecina się z wiązką pompującą, a druga (referencyjna) omija obszar wzbudzenia.

Za kuwetą wiązki referencyjna i sondująca padają na polaryzator krystaliczny, który rozdziela je na składowe o polaryzacji poziomej i pionowej. Przy pomocy układu trzech luster są one sprowadzane do jednej pionowej płaszczyzny i ogniskowane przez soczewkę achromatyczną L3 na szczeliny obrazującego spektrometru (Acton Research SpectraPro 150) z dwuwymiarową kamerą CCD (Andor Technology DU420-BU2). Ponieważ wiązki przed soczewką nie są równoległe do siebie, to ogniskują się w różnych punktach szczeliny, a dzięki obrazującej konstrukcji spektrometru ich widma w płaszczyźnie detekcji są rozdzielone w pionie i mogą być jednocześnie zarejestrowane.

Absorpcyjny filtr F umieszczony tuż przed szczeliną spektrometru pochłania światło o długościach fali większych od 780 nm, zapobiegając nasyceniu kamery przez pozostałości wiązki fundamentalnej w superkontinuum. W związku z tym zakres widma, w którym mogą być badane zmiany absorpcji to 325-780 nm.

Spektrometr wyposażony jest w siatkę dyfrakcyjną o gęstości 300 rys/mm, która tworzy na kamerze obraz widma w zakresie 250-900 nm, z czego wykorzystywany jest przedział 320-800 nm. By uniknąć nakładania się widm w zakresie 320-400 nm powstających w drugim rzędzie ugięcia z widmami pierwszego rzędu w zakresie 640-800 nm umieszczono bezpośrednio przed kamerą filtr szklany absorbujący światło o długościach fali mniejszych niż 400 nm. Jego wymiary i położenie zostały tak

dobrane, by znajdował się tylko w obszarze nakładania się widm.

Ciepło wydzielające się w roztworze wskutek absorpcji wiązki pompującej powoduje powstawanie soczewki termicznej, która zmienia kształt wiązki sondującej w sposób uniemożliwiający pomiar. Dlatego w omawianym układzie mogą być zastosowane dwa rozwiązania przeciwdziałające temu zjawisku: roztwór może być pompowany przez kuwetę, lub kuweta może być umieszczona w poruszającym nią w sposób ciągły urządzeniu. Pierwszy sposób wymaga przygotowania dużo większej ilości roztworu niż drugi, jest jednak skuteczniejszy i przy dostatecznie dużej szybkości przepływu zapewnia, że wzbudzana objętość cieczy wymienia się pomiędzy dwoma kolejnymi impulsami. Opisane w dalszym ciągu pracy pomiary zostały jednak wykonane w kuwecie poruszanej mechanicznie, gdyż dostępne były tylko niewielkie ilości badanych związków chemicznych, a duża fotostabilność i czas życia stanów wzbudzonych znacznie krótszy niż odstęp czasu pomiędzy kolejnymi impulsami pozwalały na wielokrotne wzbudzanie tego samego obszaru próbki.

Badane roztwory znajdowały się w kuwetach kwarcowych o grubości 1 mm lub 2 mm. Kuweta była umieszczona nieco poza ogniskiem wiązki pompującej, w takiej odległości od niego by średnica obszaru wzbudzenia była trochę mniejsza niż 1 mm. Szczytowe natężenie światła w centrum wiązki było rzędu 100 GW/cm².

Wzbudzone cząsteczki oddziałując z wiązką sondującą zmieniają natężenie poszczególnych składowych widmowych tej wiązki w wyniku procesów absorpcji i emisji wymuszonej. Przy zastosowaniu metody dwuwiązkowej najprostszym sposobem wyznaczenia widma absorpcji przejściowej byłoby zarejestrowanie widm wiązek sondującej i referencyjnej, po czym podzielenie ich przez siebie. Wadą takiego postępowania jest jednak fakt, iż nawet przy braku oddziaływania wiązki sondującej z próbką iloraz ten jest różny od 1, co spowodowane jest wieloma czynnikami, np. różnym stopniem podziału wiązek w płytce światłodzielącej BS2, zależnością współczynnika odbicia światła od tej płytki od długości fali, wadami układu obrazującego spektrometru itp.

Konieczne jest więc wyznaczenie służącej do korekcji widm absorpcji przejściowej „funkcji aparaturowej” będącej ilorzem widm obu wiązek przy zablokowanej wiązce pompującej. Ze względu na niestabilność układu laserowego i dużą wrażliwość procesu generacji superkontinuum na warunki zewnętrzne, owa „funkcja aparaturowa” zmienia się w czasie i powinna być rejestrowana tak często, jak to możliwe. W pomiarach słabych sygnałów absorpcji przejściowej zaczynają odgrywać rolę ciemne zliczenia kamery (tło). Również należy je zarejestrować i odejmować od każdego zmierzonego widma.

Do realizacji obu powyższych korekt służą w zbudowanym układzie migawki S1 i S2. Pierwsza z nich umożliwia zablokowanie wiązek sondującej i referencyjnej, druga zaś — wiązki pompującej. W układzie rejestrowane są następujące wielkości (dla dwóch polaryzacji: równoległej i prostopadłej do kierunku polaryzacji wzbudzenia):

1. Przy zamkniętych obu migawkach:

- $I_s^{tlo}(\lambda)$ — tło kamery w obszarze, w którym mierzone jest widmo wiązki sondującej

- $I_{ref}^{tlo}(\lambda)$ — tło kamery w obszarze, w którym mierzone jest widmo wiązki odniesienia

2. Przy zamkniętej migawce S2:

- $I_s^0(\lambda)$ — widmo wiązki sondującej bez wzbudzenia optycznego próbki
- $I_{ref}^0(\lambda)$ — widmo wiązki odniesienia bez wzbudzenia optycznego próbki

3. Przy otwartych obu migawkach:

- $I_s^p(\lambda)$ — widmo wiązki sondującej oddziałującej ze wzbudzoną próbką
- $I_{ref}^p(\lambda)$ — widmo wiązki odniesienia w czasie, gdy próbka jest wzbudzana

Zależna od długości fali zmiana absorpcji (gęstości optycznej) $\Delta A(\lambda)$ wyrażona jest poprzez zmierzone wielkości następującym równaniem:

$$\Delta A(\lambda) = \log_{10} \left[\frac{I_s^0(\lambda) - I_s^{tlo}(\lambda)}{I_{ref}^0(\lambda) - I_{ref}^{tlo}(\lambda)} \cdot \frac{I_{ref}^p(\lambda) - I_{ref}^{tlo}(\lambda)}{I_s^p(\lambda) - I_s^{tlo}(\lambda)} \right]. \quad (3.1)$$

W pojedynczym pomiarze zależności absorpcji przejściowej od długości fali i opóźnienia pomiędzy impulsami rejestrowanych jest kolejno wiele kinetyk absorpcji w tym samym zakresie opóźnień. Po zakończeniu doświadczenia są one uśredniane, co pozwala ograniczyć wpływ długoczasowej niestabilności układu laserowego. W zależności od poziomu sygnału i wymaganego stosunku sygnału do szumu liczba skanów składających się na pełen pomiar wynosi od 10 do 100.

Wraz z wartościami absorpcji przejściowej zapisywane są względne wartości energii impulsów pompujących, mierzone za pomocą fotodiody, na którą pada odbita od powierzchni kuwety pomiarowej część wiązki pompującej. Pozwala to podczas opracowywania wyników zweryfikować stabilność układu laserowego w każdym pomiarze i przed uśrednieniem odrzucić te kinetyki, podczas rejestracji których energia impulsów zmieniała się o więcej niż o pewną zadaną wartość (typowo kilka %).

Tło kamery zapisywane jest jednokrotnie, przed pierwszym pomiarem. W każdym położeniu linii opóźniającej mierzone są widma $I_s^0(\lambda)$, $I_{ref}^0(\lambda)$, $I_s^p(\lambda)$ i $I_{ref}^p(\lambda)$ dla obu polaryzacji (czas ekspozycji kamery w pojedynczym pomiarze wynosi 100–300 ms) i wyznaczane zmiany absorpcji $\Delta A_{||}$ i $\Delta A_{\perp}$. Krok, z jakim opóźnienie jest zwiększane zmienia się wraz ze wzrostem opóźnienia tak, by zarejestrować szybkie zmiany sygnału dla małych opóźnień, a jednocześnie zachować krótki czas trwania pomiaru jednej kinetyki. W typowych warunkach zakres od 0 do 1 ns podzielony jest na 4–5 podzakresów, w których krok czasowy rośnie od 20 fs do 20 ps.

Ze względu na dyspersję prędkości grupowej światła w ośrodkach materialnych składowe impulsy sondujących o różnej częstotliwości docierają do próbki w różnym czasie. Skutkuje to zależnością opóźnienia od długości fali, którą należy uwzględnić opracowując wyniki. Wyznacza się ją zastępując w układzie pomiarowym kuwetę cienką płytką szklaną lub wykonaną z materiału o dużej nieliniowości (np. ZnS)

i rejestrując sygnały, które w tym wypadku powstają wskutek procesów nieliniowych takich jak absorpcja dwufotonowa⁴⁹ lub wzajemna modulacja fazy.⁵⁰ Ich przejawem jest zmiana natężenia tych składowych widma impulsów sondujących, które przy danym ustawieniu linii opóźniającej pokrywają się w czasie z impulsem pompującym. Zmieniając położenie retroreflektora można otrzymać funkcję $\Delta t(\lambda)$ opisującą zależność zerowego opóźnienia od długości fali.

Uwzględnienie dyspersji prędkości grupowej w taki sposób, by otrzymać zależność $\Delta A(\lambda_i, t_i)$, gdzie λ_i i t_i są regularnie rozmieszczonymi na siatce prostokątnej wartościami długości fali i opóźnienia wymaga interpolacji danych doświadczalnych wykorzystującej funkcję $\Delta t(\lambda)$.

Szczegóły konstrukcji układów do pomiaru absorpcji przejściowej, metody opracowania danych i sposoby uniknięcia niepożądanych efektów są szeroko opisywane w literaturze.^{48, 51–54}

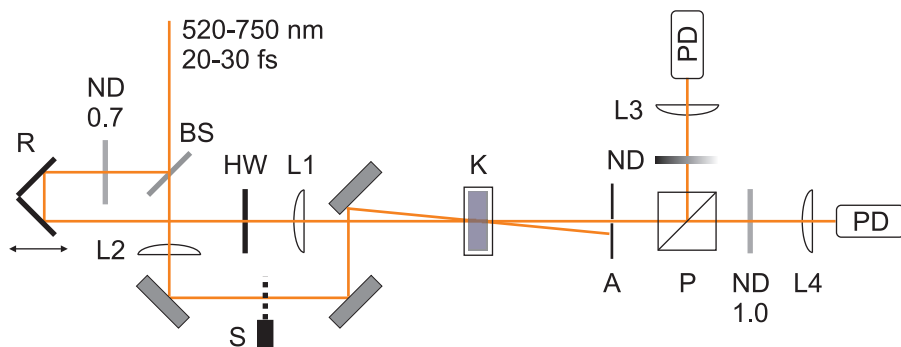
Opisany powyżej układ charakteryzuje się małą precyzją pomiarów anizotropii, gdyż polaryzacja wiązki sondującej nie jest idealnie liniowa. Względny praktyczny wymuszają ustawienie półfalówki przed lustrem zginającym wiązkę sondującą i referencyjną i kierującym je do kuwety, a odbicie od metalicznego lustra nie zmienia polaryzacji światła jedynie wówczas, gdy jej kierunek leży w płaszczyźnie padania lub jest do niej prostopadły. Polaryzacja wiązki sondującej w kuvecie jest więc nieco eliptyczna, co wprowadza systematyczny błąd w pomiarach anizotropii. Układ ten był więc przede wszystkim wykorzystywany do pomiarów widm absorpcji przejściowej i jakościowej obserwacji kinetyk anizotropii przy różnych długościach fali. Natomiast dokładne pomiary anizotropii przeprowadzono w układzie, w którym wiązka sondująca pochodziła wprost z NOPY.

3.2 Eksperyment jednokolorowy

Układ, w którym indukowane optycznie zmiany absorpcji próbkowane są impulsami quasi-monochromatycznymi (Rys. 3.2) ma o wiele prostszą konstrukcję niż opisany wcześniej układ z próbkowaniem za pomocą impulsów superkontinuum. Wiązka impulsów z NOPY dzielona jest na płytce światłodzielącej BS, odbijającej ok. 15% padającego światła. Wiązka przechodząca, wzbudzająca próbkę, jest ogniskowana za pomocą soczewki L2 o ogniskowej 500 mm i kierowana do kuwety pomiarowej K znajdującej się ok. 10 cm za ogniskiem wiązki.

Słabsza z dwóch wiązek powstałych po podziale (sondująca) jest dodatkowo pięciokrotnie osłabiana filtrem neutralnym (ND0.7) i odbija się od retroreflektora umieszczonego na sterowanym komputerowo stoliku przesuwalnym umożliwiającym zmianę opóźnienia pomiędzy impulsami w zakresie od 0 do 100 ps. Następnie przechodzi przez półfalówkę HW, która obraca kierunek polaryzacji liniowej o 45° i jest ogniskowana w kuvecie K za pomocą soczewki L1 o ogniskowej 500 mm.

Przesłona A transmituje jedynie wiązkę sondującą, zatrzymując wiązkę pompującą i część rozproszoną tej wiązki na elementach układu. Polaryzator P rozdziela dwie składowe polaryzacji wiązki sondującej (prostopadłą i równoległą do polaryzacji wiązki pompującej), które są po przejściu przez polaryzator osłabiane za pomocą dwóch filtrów: ND1.0 o stałym tłumieniu ($10\times$) i ND – o płynnie zmieniającej



Rysunek 3.2: Układ do pomiaru anizotropii absorpcji przejściowej z prób-
kowaniem quasi-monochromatycznym. BS – płytka światłodziela-
jąca; HW – półfalówka; L1-L4 – soczewki sferyczne; K – kuweta pomiarowa; ND – filtr
neutralnej o zmiennej gęstości optycznej; ND0.7, ND1.0 – metalizowane fil-
try neutralne o gęstości optycznej, odpowiednio, 0.7 i 1.0; P – polaryzator
krystaliczny; PD – fotodiody; R – retroreflektor; S – migawka.

się gęstości optycznej. Przesuwając ten filtr można zniwelować różnicę amplitud sygnałów na wyjściach dwóch detektorów (PD) spowodowaną rozrzutem parametrów elementów elektronicznych, z których są one zbudowane. Soczewki L3 i L4 skupiają wiązki na powierzchni aktywnej detektorów.

Stała czasowa detektorów PD – fotodiod zintegrowanych ze wzmacniaczami – jest tak dobrana, by sygnał elektryczny wytworzony przez impuls zanikał całkowicie w czasie upływającym pomiędzy rejestracją dwóch kolejnych impulsów. Jest jednak na tyle duża, by mierzalny poziom zanikającego wykładniczo napięcia na wyjściu detektorów utrzymywał się przez ok. 200 μ s. Pozwala to zmierzyć scałkowaną w czasie odpowiedź fotodiody na pojedynczy impuls za pomocą zsynchronizowanego z układem laserowym przetwornika analogowo-cyfrowego o częstotliwości próbkowania 1 MHz. Umożliwia to dokładny pomiar energii pojedynczego impulsu.

Ponieważ impulsy generowane przez NOPE są o wiele stabilniejsze niż impulsy światła białego nie jest wymagana obecność wiązki referencyjnej i układ jest jednowiązkowy a wielkość absorpcji stacjonarnej jest rejestrowana po zamknięciu migawki S, blokującej wiązkę pompującą. W układzie mierzona jest więc energia składowych impulsów sondujących o obu polaryzacjach w dwóch sytuacjach:

- $E_{||}^{ref}$ i $E_{\perp}^{ref}$ - przy zablokowanej wiązce pompującej
- $E_{||}^p$ i $E_{\perp}^p$ - w obecności wiązki pompującej

Wywołane wzbudzeniem optycznym zmiany absorpcji w każdej z polaryzacji przy zadanym opóźnieniu można wyznaczyć za pomocą równań

$$\Delta A_{||} = \log \frac{E_{||}^{ref}}{E_{||}^p} \quad , \quad \Delta A_{\perp} = \log \frac{E_{\perp}^{ref}}{E_{\perp}^p}. \quad (3.2)$$

Pomiar anizotropii przejściowej w opisywanym układzie wymaga, podobnie jak w układzie wielokolorowym, uśrednienia wielu kinetyk. W każdym położeniu linii opóźniającej uśrednianych jest kilka (typowo 5) wartości anizotropii wyznaczonych za pomocą wzorów 3.2, natomiast występujące w nich energie impulsów są średnią obliczoną z 10-30 (typowo 15) impulsów, by uniknąć konieczności zbyt szybkiego przełączania migawki.

Kinetyki absorpcji dla dwóch polaryzacji, $\Delta A_{||}(t)$ i $\Delta A_{\perp}(t)$, zarejestrowane w kolejnych pomiarach są po zakończeniu doświadczenia uśredniane, a z wartości średnich wyznaczana jest kinetyka anizotropii $r(t)$ i absorpcji przejściowej odpowiadającej pomiarowi przy kącie magicznym ΔA_{MA} :

$$r(t) = \frac{\Delta A_{||} - \Delta A_{\perp}}{\Delta A_{||} + 2\Delta A_{\perp}} \quad (3.3)$$

$$\Delta A_{MA} = \frac{1}{3} (\Delta A_{||} + 2\Delta A_{\perp})$$

Dla pomiarów anizotropii duże znaczenie ma kolejność uśredniania. Dużo wyższy stosunek sygnału do szumu otrzymuje się najpierw uśredniając zmiany absorpcji, a następnie obliczając $r(t)$ niż obliczając $r(t)$ dla każdej kinetyki osobno i uśredniając wartości anizotropii.

Podobnie jak podczas opracowywania wyników doświadczenia wielokolorowego, kinetyki zmierzone w czasie, gdy stabilność układu laserowego była mniejsza niż przeciętnie, mogą zostać odrzucone przed uśrednieniem. W układzie jednokolorowym nie jest wymagana rejestracja natężenia wiązki pompującej za pomocą oddzielnej fotodiody, ponieważ energia impulsów pompujących jest wprost proporcjonalna do energii impulsów sondujących, a ta ostatnia jest mierzona wówczas, gdy migawka S jest zamknięta. Po zakończeniu pomiarów można odrzucić kinetyki, w których fluktuacje sygnału mierzonego przy zamkniętej migawce przekraczają zadaną wartość.

Rozdział 4

Analiza globalna

Analiza kinetyk absorpcji przejściowej jest zazwyczaj bardzo trudna, gdyż obserwowane zmiany wynikają z oddziaływania światła z różnymi stanami elektronowymi w cząsteczce w procesach absorpcji i emisji wymuszonej. W najprostszym przypadku widmo absorpcji przejściowej jest sumą widma absorpcji ze stanu wzbudzonego, widma emisji wymuszonej i wybielenia odzwierciedlającego widmo absorpcji stacjonarnej. Reakcjom wywołanym w cząsteczce wzbudzeniem optycznym (np. tautomeryzacji) towarzyszą zwykle inne zjawiska (takie jak relaksacja oscylacyjna, konwersja wewnętrzna, przejścia międzysystemowe) prowadzące do ewolucji widm składających się na wypadkowe widmo absorpcji przejściowej. Dlatego w typowym doświadczeniu kinetyki obserwowane na każdej długości fali są złożoną funkcją czasu, opisującą przynajmniej 2-3 różne procesy, których udział zmienia się wraz z długością fali.

Najprostszym sposobem analizy kinetyk absorpcji przejściowej $\Delta A(\lambda, t)$ mogłoby być dopasowanie do nich sumy funkcji $h_i(t)$ opisujących dynamikę każdego z zachodzących procesów:

$$\Delta A(\lambda, t) = \sum_i g_i(\lambda) h_i(t), \quad (4.1)$$

gdzie współczynniki $g_i(\lambda)$ i stałe czasowe poszczególnych procesów τ_i , parametryzujące funkcje $h_i(t)$ byłyby poszukiwane np. metodą najmniejszych kwadratów.

Jednak w ogólnym przypadku funkcje $h_i(t)$ mogą być bardzo skomplikowane, jeśli proces prowadzi do ciągłej ewolucji kształtu widma, tak jak np. relaksacja oscylacyjna. Dlatego ścisłą analizę ogranicza się zazwyczaj do tych przypadków, które mogą być opisane przez zmianę populacji pewnej liczby form i stanów cząsteczki o dobrze zdefiniowanych widmach. Jeśli reakcje prowadzące do przejścia jednej formy w drugą są reakcjami pierwszego rzędu, to znaczy w każdej reakcji uczestniczy tylko jedna cząsteczka (czyli np. nie zachodzą procesy wymiany atomów pomiędzy dwoma cząsteczkami) to stężenia $C_i(t)$ każdej z form można wyznaczyć rozwiązując układ równań kinetycznych, czyli równań różniczkowych liniowych pierwszego

rzędu,

$$\frac{dC_i(t)}{dt} = -\frac{C_i(t)}{\tau_i} + \sum_{j \neq i} k_{j \rightarrow i} C_j(t), \quad (4.2)$$

gdzie τ_i to czas życia formy i , przy czym

$$\frac{1}{\tau_i} = \sum_{j \neq i} k_{i \rightarrow j}, \quad (4.3)$$

a $k_{j \rightarrow i}$ to stała szybkości reakcji prowadzącej do przemiany formy j w formę i .

Rozwiązaniem układu równań 4.2 są liniowe kombinacje funkcji wykładniczych (o ile czasy życia są parami różne, przypadek, gdy tak nie jest omówiono w Rozdziale 5.7):

$$C_i(t) = \sum_j c_{ij} e^{-\frac{t}{\tau_j}}. \quad (4.4)$$

Opisujące zmiany absorpcji przejściowej funkcje $h_i(t)$ wygodnie jest unormować tak, by wyrażały względne stężenia poszczególnych form:

$$h_i(t) = \frac{C_i(t)}{\sum_j C_j(t)}. \quad (4.5)$$

Wówczas współczynniki $g_i(\lambda)$ występujące w równaniu 4.1 są proporcjonalne do przekrojów czynnych na procesy wymuszone dla każdej z form.

Obecność wybielania w widmach absorpcji przejściowej jest w tym podejściu równoważna obecności formy emitującej światło o widmie odpowiadającym widmu absorpcji stacjonarnej, której stężenie jest proporcjonalne do ubytku cząsteczek ze stanu podstawowego. Wynika to z faktu, że obserwowane w różnicowych pomiarach zmniejszenie absorpcji przez cząsteczki w stanie podstawowym (wzmocnienie sygnału) jest wprost proporcjonalne do liczby usuniętych z tego stanu cząsteczek.

Znalezienie funkcji $h_i(t)$ wymaga znajomości modelu wszystkich reakcji następujących po wzbudzeniu cząsteczek. Zazwyczaj nie jest on znany, a dopiero poszukiwany właśnie poprzez m. in. badanie absorpcji przejściowej. Wiadomo jednak, że kinetyka dla każdej długości fali jest sumą funkcji wykładniczych:

$$\begin{aligned} \Delta A(\lambda, t) &= \sum_i g_i(\lambda) h_i(t) = \sum_i g_i(\lambda) \frac{C_i(t)}{\sum_j C_j(t)} = \\ &= \frac{1}{\sum_j C_j(t)} \sum_i g_i(\lambda) \sum_j c_{ij} e^{-\frac{t}{\tau_j}} = \frac{1}{\sum_j C_j(t)} \sum_j \left(\sum_i g_i(\lambda) c_{ij} \right) e^{-\frac{t}{\tau_j}}. \end{aligned} \quad (4.6)$$

Wygodnie jest wprowadzić oznaczenie

$$d_j(\lambda) = \frac{\sum_i g_i(\lambda) c_{ij}}{\sum_i C_i(t)}, \quad (4.7)$$

a wówczas

$$\Delta A(\lambda, t) = \sum_{j=1}^n d_j(\lambda) e^{-\frac{t}{\tau_j}}. \quad (4.8)$$

Powyższe równanie można już dopasować do kinetyk na każdej długości fali, traktując $d_j(\lambda)$ i τ_j jako współczynniki dopasowania. Jest to zwykle wstępny etap analizy wyników pomiarów absorpcji przejściowej, pozwalający między innymi wyznaczyć minimalną liczbę n różnych czasów życia τ_j potrzebną do ich opisania. Procedura ta jest jednak bardzo mało wydajna, gdyż dla każdej kinetyki trzeba znaleźć $2n$ parametrów. Ponadto dopasowanie sumy trzech lub więcej zaników wykładniczych do typowej kinetyki jest bardzo mało wiarygodne i przy przeciętnym poziomie szumów wiele różnych zbiorów wartości τ_j pozwala otrzymać równie dobre dopasowanie. Sytuację poprawia nieco założenie, że wszystkie kinetyki muszą być sparametryzowane tym samym zestawem czasów życia, wciąż jednak dla każdej krzywej pozostają 3 swobodne parametry.

Dlatego do analizy wyników prezentowanych w dalszym ciągu pracy (Rozdział 5.3) wykorzystano oparty na metodach algebry liniowej algorytm należący do technik analizy globalnej.^{55, 56} Został on wcześniej opracowany do analizy rezultatów badań przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym w zasadach Schiffa.⁵⁷ Umożliwia jednocześnie dopasowanie wszystkich zarejestrowanych kinetyk przy liczbie swobodnych parametrów równej liczbie różnych czasów życia uczestniczących w reakcji form.

Wartości absorpcji przejściowej dla M długości fali ($\lambda_1, \dots, \lambda_M$) i N różnych opóźnień ($t_1, \dots, t_N$) można zapisać w postaci macierzy $\mathbf{A}$, której wiersze są kinetykami mierzonymi przy różnych długościach fali, a kolumny – widniami przy kolejnych opóźnieniach pomiędzy impulsami pompującymi i sondującymi:

$$A_{ij} = A(\lambda_i, t_j),$$

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} A(\lambda_1, t_1) & A(\lambda_1, t_2) & \cdots & A(\lambda_1, t_N) \\ A(\lambda_2, t_1) & A(\lambda_2, t_2) & \cdots & A(\lambda_2, t_N) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ A(\lambda_M, t_1) & A(\lambda_M, t_2) & \cdots & A(\lambda_M, t_N) \end{pmatrix} \quad (4.9)$$

Równanie 4.8 w postaci macierzowej ma postać

$$\mathbf{A} = \mathbf{D}\mathbf{E}, \quad (4.10)$$

gdzie

$$\mathbf{D} = \begin{pmatrix} d_1(\lambda_1) & d_2(\lambda_1) & \cdots & d_n(\lambda_1) \\ d_1(\lambda_2) & d_2(\lambda_2) & \cdots & d_n(\lambda_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ d_1(\lambda_M) & d_2(\lambda_M) & \cdots & d_n(\lambda_M) \end{pmatrix} \quad (4.11)$$

$$\mathbf{E} = \begin{pmatrix} e^{-\frac{t_1}{\tau_1}} & e^{-\frac{t_2}{\tau_1}} & \cdots & e^{-\frac{t_N}{\tau_1}} \\ e^{-\frac{t_1}{\tau_2}} & e^{-\frac{t_2}{\tau_2}} & \cdots & e^{-\frac{t_N}{\tau_2}} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ e^{-\frac{t_1}{\tau_n}} & e^{-\frac{t_2}{\tau_n}} & \cdots & e^{-\frac{t_N}{\tau_n}} \end{pmatrix} \quad (4.12)$$

Kolumny macierzy $\mathbf{D}$ zwane są widmami absorpcji przejściowej związanymi z zanikami (DADS*), a wiersze macierzy $\mathbf{E}$ zawierają wartości funkcji wykładniczych obliczone dla kolejnych opóźnień.

Równanie 4.10 można pomnożyć z prawej strony przez $\mathbf{E}^T$,

$$\mathbf{A}\mathbf{E}^T = \mathbf{D}\mathbf{E}\mathbf{E}^T, \quad (4.13)$$

a następnie przez $(\mathbf{E}\mathbf{E}^T)^{-1\dagger}$, otrzymując wyrażenie pozwalające obliczyć $\mathbf{D}$, jeśli znana jest macierz $\mathbf{E}$:

$$\mathbf{D} = \mathbf{A}\mathbf{E}^T(\mathbf{E}\mathbf{E}^T)^{-1}. \quad (4.14)$$

Zmierzone wartości absorpcji przejściowej $\mathbf{A}_{\text{exp}}$ zaburzone są szumem, którego wpływ można uwzględnić dodając do prawej strony równania 4.10 macierz $\mathbf{\Sigma}$,

$$\mathbf{A}_{\text{exp}} = \mathbf{A} + \mathbf{\Sigma} = \mathbf{D}\mathbf{E} + \mathbf{\Sigma}. \quad (4.15)$$

Dla zadanego zbioru czasów $\tau' = (\tau'_1, \dots, \tau'_n)$ (nie koniecznie równych „prawdziwym” czasom życia $\tau_1, \dots, \tau_n$) można obliczyć, korzystając z wyrażenia 4.12, macierz $\mathbf{E}_{\tau'}$ i wyznaczyć z wyników doświadczenia $\mathbf{A}_{\text{exp}}$ odpowiadającą temu zbiorowi macierz $\mathbf{D}_{\tau'}$,

$$\mathbf{D}_{\tau'} = \mathbf{A}_{\text{exp}}\mathbf{E}_{\tau'}^T(\mathbf{E}_{\tau'}\mathbf{E}_{\tau'}^T)^{-1}, \quad (4.16)$$

a następnie odtworzyć macierz absorpcji przejściowej $\mathbf{A}_{\tau'}$,

$$\mathbf{A}_{\tau'} = \mathbf{D}_{\tau'}\mathbf{E}_{\tau'} = \mathbf{A}_{\text{exp}}\mathbf{E}_{\tau'}^T(\mathbf{E}_{\tau'}\mathbf{E}_{\tau'}^T)^{-1}\mathbf{E}_{\tau'}. \quad (4.17)$$

Dopasowanie globalne polega na znalezieniu takiego zbioru czasów życia τ' , dla którego macierz $\mathbf{A}_{\tau'}$ jest jak najbardziej zbliżona do $\mathbf{A}_{\text{exp}}$. Miarę różnicy macierzy $\|\mathbf{A}_{\tau'} - \mathbf{A}_{\text{exp}}\|$ najwygodniej jest zdefiniować jako funkcję χ^2 , czyli sumę kwadratów różnic wszystkich elementów, podzieloną przez kwadraty odchyłeń standardowych pojedynczego pomiaru σ_{ij} :

$$\|\mathbf{A}_{\tau'} - \mathbf{A}_{\text{exp}}\| \equiv \chi^2(\tau'_1, \dots, \tau'_n) = \sum_{i,j} \frac{((A_{\tau'})_{ij} - (A_{\text{exp}})_{ij})^2}{\sigma_{ij}^2}. \quad (4.18)$$

Wartości σ_{ij} nie są znane, rozsądnie jest jednak przyjąć, że niepewność wszystkich pomiarów jest taka sama, $\sigma_{ij} = \sigma$, a wówczas dokładna wartość σ nie ma wpływu na położenie poszukiwanego minimum χ^2 i można przyjąć, że $\sigma = 1$. Wykorzystując dodatkowo pojęcie śladu macierzy powyższe wyrażenie można zapisać jako

$$\|\mathbf{A}_{\tau'} - \mathbf{A}_{\text{exp}}\| = \text{Tr} [(\mathbf{A}_{\tau'} - \mathbf{A}_{\text{exp}})^T(\mathbf{A}_{\tau'} - \mathbf{A}_{\text{exp}})]. \quad (4.19)$$

Poszukiwanie minimum funkcji $\chi^2(\tau'_1, \dots, \tau'_n)$ prowadzi w idealnym przypadku do znalezienia czasów życia uczestniczących w reakcji form i stanów badanych

*Decay Associated Difference Spectra

[†]Macierz $(\mathbf{E}\mathbf{E}^T)^{-1}$ jest odwracalna, jeśli τ_i są parami różne, gdyż wówczas wiersze $\mathbf{E}$ są liniowo niezależne

cząsteczek, $\tau'_i = \tau_i$ i macierzy $\mathbf{A}_{\text{opt}}$, będącej najlepszym dopasowaniem danych doświadczalnych $\mathbf{A}_{\text{exp}}$. Wówczas $\mathbf{E}_{\tau'} = \mathbf{E}$ i

$$\mathbf{A}_{\text{opt}} = \mathbf{A}_{\text{exp}} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E} = (\mathbf{A} + \mathbf{\Sigma}) \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E}. \quad (4.20)$$

Ponieważ

$$\mathbf{A} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E} = \mathbf{A}, \quad (4.21)$$

to

$$\mathbf{A}_{\text{opt}} = \mathbf{A} + \mathbf{\Sigma} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E}. \quad (4.22)$$

Dopasowana macierz $\mathbf{A}_{\text{opt}}$ jest więc, podobnie jak macierz $\mathbf{A}_{\text{exp}}$, sumą rzeczywistych zmian absorpcji $\mathbf{A}$ i szumu, który w tym wypadku jest opisany macierzą $\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}$:

$$\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}} = \mathbf{\Sigma} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E}. \quad (4.23)$$

Poziom szumu w macierzy $\mathbf{A}_{\text{opt}}$ jest mniejszy niż w wynikach pomiarów $\mathbf{A}_{\text{exp}}$, gdyż

$$\|\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}\| = \text{Tr}[\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}^T \mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}] = \text{Tr}[\mathbf{\Sigma} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E} \mathbf{\Sigma}^T] < \text{Tr}[\mathbf{\Sigma}^T \mathbf{\Sigma}] = \|\mathbf{\Sigma}\|. \quad (*) \quad (4.24)$$

Dopasowanie globalne pełni więc rolę filtru eliminującego część występujących w doświadczeniu szumów, o ile szum jest dostatecznie mały, by funkcja $\chi^2(\tau'_1, \dots, \tau'_n)$ osiągała minimum dla $\tau'_i \approx \tau_i$.

Amplitudy zaników z różnymi stałymi czasowymi dla każdej z kinetyk, czyli widma związane z zanikami, $\mathbf{D}_{\text{opt}}$, można wyznaczyć po znalezieniu minimalizującego $\chi^2(\tau'_1, \dots, \tau'_n)$ zbioru czasów życia $(\tau_1, \dots, \tau_n)$ i obliczeniu macierzy $\mathbf{E}$:

$$\mathbf{D}_{\text{opt}} = \mathbf{A}_{\text{exp}} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1}. \quad (4.25)$$

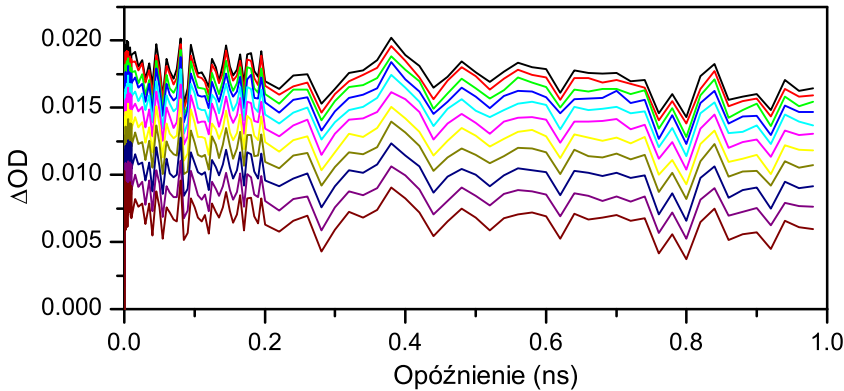
Przykład ich zastosowania w interpretacji wyników pomiarów absorpcji przejściowej opisany jest w Rozdziale 5.3.

Powyższa procedura pozwala znaleźć czasy życia uczestniczących w reakcji form w sposób o wiele bardziej jednoznaczny niż indywidualne dopasowanie każdej z kinetyk, gdyż jedynie n parametrów jest poszukiwanych, a typowa liczba analizowanych kinetyk wynosi kilkaset. Wpływa to również na bardzo wysoką wydajność algorytmu w porównaniu z niezależnym dopasowaniem, umożliwiając przeanalizowanie kilkuset kinetyk w ciągu kilkunastu sekund, podczas gdy dopasowanie pięciu krzywych z trzema czasami zaniku w programie Microcal Origin zajmuje przy użyciu tego samego komputera kilka minut.

Ścisłe obliczenie niepewności znalezionych czasów życia τ_i jest bardzo trudne, można jednak oszacować ich wielkość, analizując zachowanie funkcji χ^2 w okolicy minimum. Wymaga to najpierw oszacowania odchylenia standardowego pojedynczego pomiaru σ , które wcześniej przyjęliśmy równe 1. Zakładając, że dopasowanie jest poprawne, można posłużyć się w tym celu wzorem⁵⁸

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i,j} [(A_{\text{exp}})_{ij} - (A_{\text{opt}})_{ij}]^2}{N \times M - n} \quad (4.26)$$

*Dowód nierówności przedstawiony jest w Dodatku.



Rysunek 4.1: Przykładowe kinetyki absorpcji przejściowej zarejestrowane w pojedynczym doświadczeniu. Kolejne krzywe przedstawiają kinetyki zmierzone co 2 nm w przedziale 480-500 nm.

Tak obliczone σ^2 można wstawić do ścisłego wyrażenia na funkcję $\chi^2(\tau_1, \dots, \tau_n)$ (wzór 4.18), by obliczyć jej wartości dla pewnego przedziału τ_i wokół minimum.

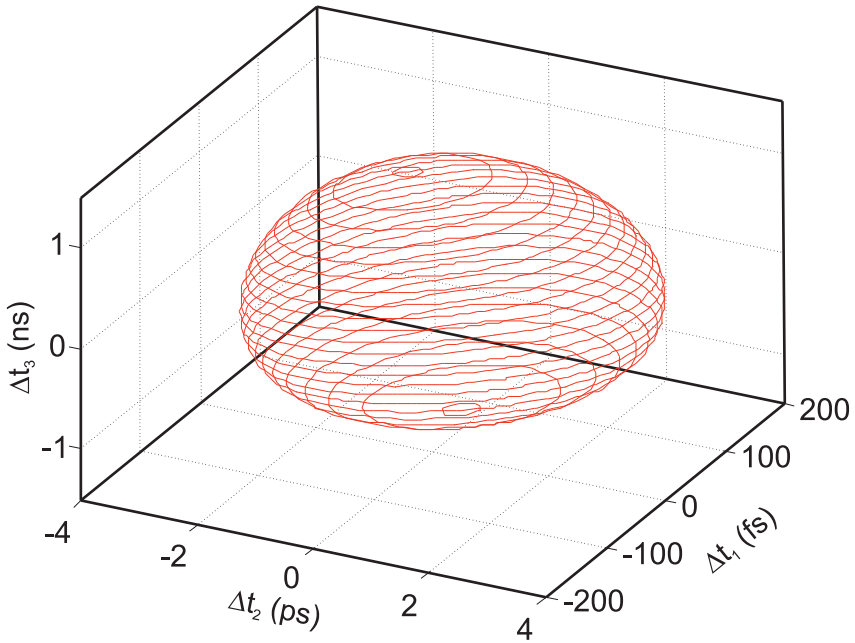
$(n - 1)$ -wymiarowa powierzchnia zamknięta (elipsoida) opisana równaniem

$$\chi^2(\tau_1, \dots, \tau_n) - \chi_{min}^2 = X = \text{const.}, \quad (4.27)$$

gdzie χ_{min}^2 to wartość χ^2 dla wyznaczonych w dopasowaniu wartości τ_i , ogranicza tzw. przedział ufności, czyli obszar w przestrzeni $(\tau_1, \dots, \tau_n)$ leżący wokół punktu minimalizującego χ^2 , do którego z zadaniem (zależnym od X) prawdopodobieństwem p należą prawdziwe wartości τ_i .

Rozkład χ^2 , czyli związek pomiędzy X i prawdopodobieństwem p (poziomem ufności) zależy od liczby stopni swobody, która w przypadku, gdy niepewność każdego pomiaru jest niezależna od innych, jest równa liczbie pomiarów pomniejszonej o liczbę wyznaczanych parametrów. Gdyby przypadek ten miał miejsce w pomiarach absorpcji przejściowej, to liczba stopni swobody byłaby równa $M \times N - n$. Jednak rzut oka na Rys. 4.1, na którym pokazano kilkanaście kinetyk absorpcji przejściowej zmierzonych w jednym doświadczeniu, pozwala natychmiast stwierdzić, że rozrzut poszczególnych pomiarów $A(\lambda_i, t_i)$ nie jest niezależny, lecz prawie identyczny dla wartości zmierzonych przy tym samym opóźnieniu dla różnych długości fali. W tej sytuacji liczba stopni swobody jest równa liczbie różnych opóźnień N pomniejszonej o liczbę parametrów n .

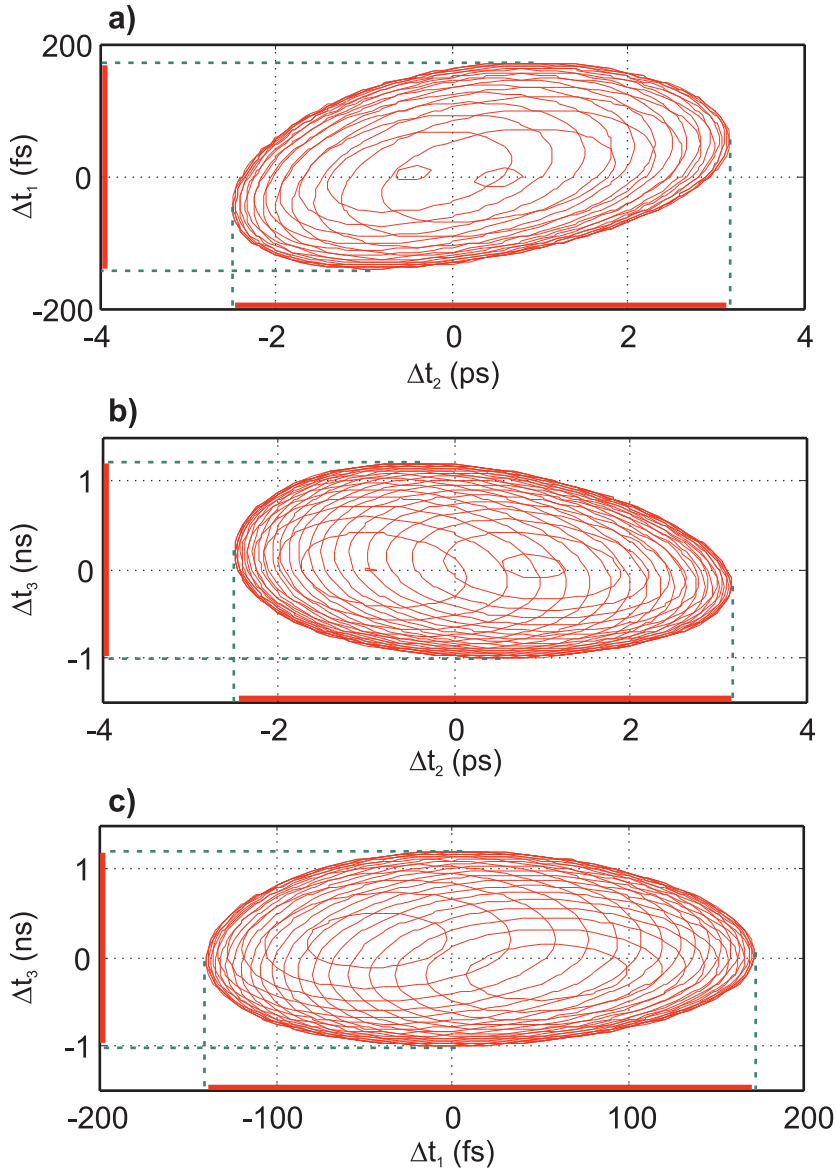
Na rysunku 4.2 pokazano powierzchnię opisaną równaniem 4.27 dla danych dopasowanych za pomocą trzech różnych czasów życia, rzędu 100 fs, 10 ps i 10 ns,



Rysunek 4.2: Przykładowa powierzchnia opisana równaniem 4.27 dla $n = 3$ odpowiadająca poziomowi ufności 0.68; $t_1 = 750$ fs, $t_2 = 16$ ps, $t_3 = 12$ ns.

odpowiadającą poziomowi ufności 0.68 *. Jeśli rozkład prawdopodobieństwa błędów jest normalny, to przedziały ufności dla każdej z wyznaczonych wielkości τ_i można wyznaczyć rzutując elipsoidę χ^2 na odpowiednie osie. W tym celu można skorzystać z wykresów takich, jak pokazany na Rys. 4.3, na którym przedstawiono rzuty elipsoidy χ^2 z Rys. 4.2 na trzy różne płaszczyzny. Granice przedziałów o poziomie ufności 0.683 mają sens odchyłeń standardowych odpowiednich wielkości. Opisana tu metoda, choć musi być traktowana jak przybliżona, pozwala w zadowalającym zakresie oszacować niepewności czasów życia wyznaczonych za pomocą omówionego wyżej algorytmu.

*Omówiony tu przykład analizy niepewności w dopasowaniu globalnym dotyczy wyników pomiarów przedstawionych w Rozdziale 5.3



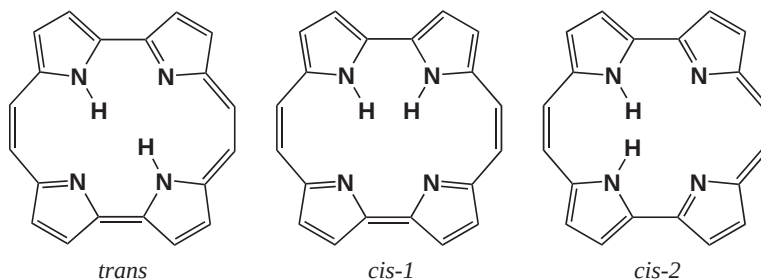
Rysunek 4.3: Rzuty elipsoidy χ^2 pokazanej na rysunku 4.2 na trzy różne płaszczyzny, pozwalające wyznaczyć odchylenia standardowe wyznaczonych w wyniku dopasowania globalnego czasów życia; $t_1 = 750$ fs, $t_2 = 16$ ps, $t_3 = 12$ ns.

Badania porficyny i jej pochodnych

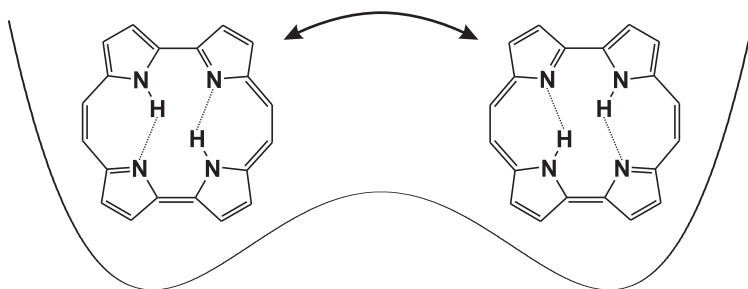
5.1 Własności fizykochemiczne porficyny

To nie niewątpliwa estetyka cząsteczki porficyny (Rys. 5.1), zsyntetyzowanej niewiele ponad 20 lat temu przez Emanuela Vogla⁵⁹ jako pierwszy z serii konstytucyjnych izomerów porfiryry decyduje o dużym zainteresowaniu, którym się ona cieszy. Jest wiele innych, bardziej praktycznych powodów: po pierwsze, sama porfiryryna jest często wykorzystywana w syntezie związków o potencjalnych zastosowaniach między innymi w terapii fotodynamicznej,⁶⁰ organicznych bateriach słonecznych⁶¹ czy pamięciach optycznych,⁶² a własności chemiczne i fotochemiczne porficyny i jej pochodnych wskazują, że w wielu zastosowaniach sprawdzą się one lepiej niż porfiryry.⁶³ Dotyczy to w szczególności terapii fotodynamicznej, gdyż wstępne badania *in vivo* wykazały wielokrotnie większą skuteczność pochodnych porficyny w zwalczaniu komórek nowotworowych niż wykorzystywanych dotychczas porfiryry. Zastosowania porficyry zostały już wielokrotnie opatentowane, zarówno w terapii fotodynamicznej,^{64–66} jak i w technologii pamięci optycznych.⁶⁷

Z drugiej strony, porficyryna jest wdzięcznym przedmiotem badań podstawowych. Jedną z jej ciekawszych własności jest zdolność do tautomerizacji, w wyniku któ-



Rysunek 5.1: Porficyryna i jej formy tautomeryczne



Rysunek 5.2: Podwójne przeniesienie protonu w porficynie

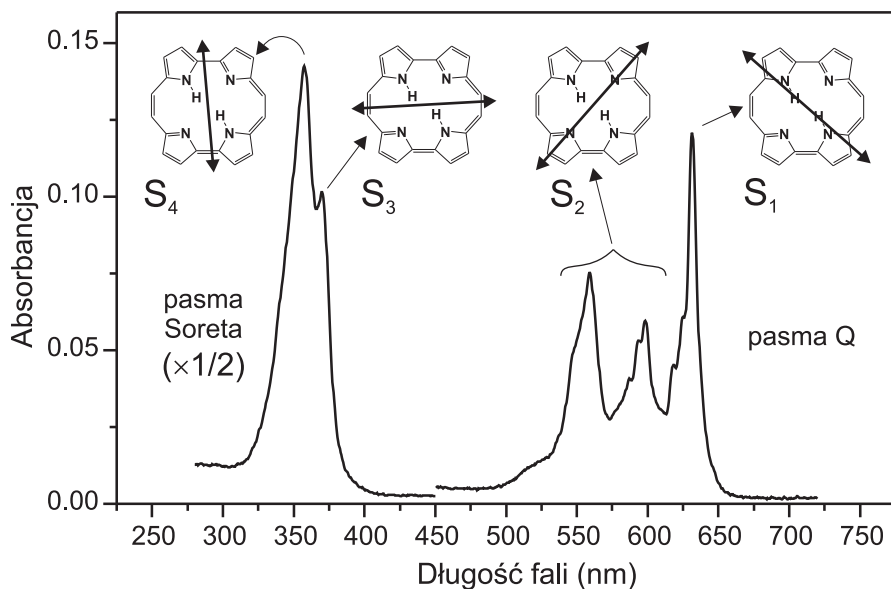
rej oba atomy wodoru* znajdujące się w symetrycznej podwójnej studni potencjału ulegają przeniesieniu wzdłuż wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego (Rys. 5.2) a substrat i produkt reakcji są chemicznie identyczne. Z tego względu cieszy się ona zainteresowaniem teoretyków zajmujących się chemią kwantową, gdyż porównanie wyników obliczeń z rezultatami doświadczeń pozwala testować modele kinetyki reakcji i własności wiązań wodorowych.^{68–73}

Porficyna i jej pochodne były już przedmiotem tak wielu prac doświadczalnych i teoretycznych, że spośród ich wyników przytoczone zostaną tu jedynie te najważniejsze z punktu widzenia badań, którym poświęcona jest niniejsza rozprawa. Teoretycznie cząsteczka porficyny może przybierać trzy formy o różnej wzajemnej lokalizacji wewnętrznych atomów wodoru: *trans*, *cis*-1 i *cis*-2 (Rys. 5.1). Jednak forma *cis*-2 ma energię o wiele wyższą niż formy *trans* i *cis*-1 i nie występuje w normalnych warunkach. Również forma *cis*-1[†], której obliczona energia jest o ok. 1-3 kcal/mol^{63,69} wyższa niż energia formy *trans* nie była obserwowana w pomiarach spektroskopowych wykonanych w matrycach gazów szlachetnych,⁷⁴ choć na jej obecność w kryształach wskazywały pomiary NMR.⁷⁵ W doświadczeniach przeprowadzanych w wiązkach molekularnych i roztworach mamy więc do czynienia wyłącznie z porficyną w formie *trans* i reakcją podwójnego przeniesienia atomu wodoru. Mimo takiego uproszczenia wciąż nie są znane pełne odpowiedzi na wiele pytań dotyczących tej reakcji, z których najważniejsze to:

- Czy przeniesienie protonów jest jednoczesne, czy sekwencyjne, z krótkożyjącą formą *cis* jako stanem pośrednim?
- Czy za przeniesienie odpowiedzialne jest tunelowanie przez barierę potencjału, czy też zachodzi ono "nad barierą"?

*W niniejszej pracy terminy „tautomeryzacja”, „przeniesienie atomu (atomów) wodoru” i „przeniesienie protonu (protonów)” ze względu na wygodę językową używane są zamiennie, o ile nie prowadzi to do nieporozumień. Wszędzie tam, gdzie bez dodatkowego komentarza użyty jest jeden z powyższych terminów w odniesieniu do porficyny lub jej pochodnych, mowa jest o przeniesieniu atomu (atomów) wodoru, któremu towarzyszy reorganizacja otaczających wiązań.

[†]Ponieważ forma *cis*-2 nie jest obserwowana, w dalszym ciągu tekstu forma *cis*-1 oznaczana będzie po prostu *cis*



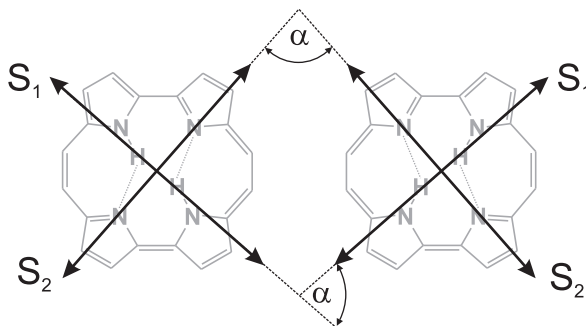
Rysunek 5.3: Widmo absorpcji porficyny oraz kierunki momentów przejść dipolowych w stanach wzbudzonych S_1 - S_4 .⁶³

- Jaka jest wysokość bariery potencjału pomiędzy dwoma formami *trans*?
- Jak szybko zachodzi reakcja?

Po wielu latach badań nie ulega wątpliwości, że opisanie mechanizmu przeniesienia protonu w porficynie będzie możliwe dopiero po połączeniu wyników modelowania teoretycznego z dużym zbiorem danych doświadczalnych. W szczególności niezbędne jest zbadanie zależności szybkości reakcji od parametrów takich jak temperatura i odległość pomiędzy donorowym i akceptorowym atomem azotu oraz efektu izotopowego. Tymczasem nawet bardzo proste pytanie o szybkość tautomerizacji porficyny w temperaturze pokojowej nie doczekało się do tej pory jednoznacznej odpowiedzi. Pomiary stałej szybkości reakcji w stanie podstawowym, k_{PT}^0 , były początkowo przeprowadzane za pomocą techniki NMR w kryształach,⁷⁶ a ich wyniki zawierały się w przedziale od $k_{PT}^0 = 3.66 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1} = (2.7 \text{ ns})^{-1}$ w temperaturze 355 K do $k_{PT}^0 = 4.24 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1} = (240 \text{ ns})^{-1}$ w temp. 228 K. Wartości te, mimo że otrzymane dla cząsteczek związanych w kryształach są — z braku innych — często przyjmowane jako obowiązujące również dla cząsteczki izolowanej. Jednak ich niespójność z przewidywaniami teoretycznymi⁷³ i wynikami doświadczeń^{77–79} przeprowadzonych w roztworach i wiązkach molekularnych sugeruje, że założenie o podobnej szybkości reakcji w kryształach i izolowanych cząsteczkach nie jest prawdziwe.

Pierwszymi z doświadczeń, które na to wskazywały były próby scharaktery-

zowania szybkości tautomeryzacji w stanie wzbudzonym w porficynie i kilku jej pochodnych za pomocą metod optycznych.⁷⁸ Zauważmy tutaj, że standardowe metody czasowo-rozdzielczej spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej zawodzą w przypadku badania podwójnego przeniesienia protonu w porficynie ze względu na identyczność widm absorpcji i fluorescencji przed i po reakcji. Na szczęście sytuację ratuje korzystna orientacja momentów dipolowych przejść optycznych. Nim zostanie ona omówiona, konieczne jest jeszcze przedstawienie w jednym zdaniu widma absorpcji porficyny (Rys. 5.3): składa się on z dwóch grup pasm — niskoenergetycznych Q i wysokoenergetycznych pasm Soreta. Pierwsze z nich odpowiada przejściom $S_1 \leftarrow S_0$ oraz $S_2 \leftarrow S_0$, natomiast drugie przejściom $S_3 \leftarrow S_0$ i $S_4 \leftarrow S_0$. Kierunek momentu przejścia odpowiadający wzbudzeniu do stanu S_1 jest zbliżony do kierunku prostej łączącej wewnętrzne atomy wodoru a moment przejścia odpowiadający wzbudzeniu do S_2 jest do niego niemal prostopadły.⁶³ Dzięki temu w wyniku tautomeryzacji kierunki momentów przejść $S_1 \leftarrow S_0$ oraz $S_2 \leftarrow S_0$ obracają się o znaczny kąt α (Rys. 5.4), umożliwiając badanie tego procesu poprzez analizę anizotropii fluorescencji. Ponieważ ta sama idea leży u podstaw bezpośredniego wyznaczania szybkości tautomeryzacji za pomocą technik czasowo-rozdzielczych, będących głównym tematem niniejszej pracy, poświęcimy jej teraz nieco więcej uwagi.



Rysunek 5.4: Zmiana kierunków momentów przejść dipolowych w porficynie spowodowana tautomeryzacją *trans-trans*.

Załóżmy teraz, że ośrodek, np. szkliwo lub matryca polimerowa, w którym umieszczone są badane cząsteczki uniemożliwia im jakikolwiek obrót. Wówczas fluorescencja cząsteczek wzbudzonych do stanu S_1 światłem o polaryzacji liniowej będzie tym silniej zdepolaryzowana, im krótszy będzie czas przeniesienia protonów (odwrotność stałej szybkości reakcji w stanie wzbudzonym, $\tau_{PT}^1 = 1/k_{PT}^1$) w porównaniu z czasem życia stanu wzbudzonego τ . Jeśli $\tau_{PT}^1 \ll \tau$ to zanim istotnie zmaleje liczba cząsteczek wzbudzonych, populacje cząsteczek o pierwotnym kierunku momentu przejścia i kierunku obróconym o kąt α wyrównają się (ponieważ w tym wypadku tautomeryzacja jest w pełni odwracalna), a obserwowana anizotropia fluorescencji będzie średnią wartości odpowiadającej pierwotnie zorientowanym

cząsteczkom ($2/5$) i wartości odpowiadającej cząsteczkom obróconym o kąt α , czyli $(3 \cos^2 \alpha - 1)/5$.⁷⁸

$$r(\tau_{PT}^1 < \tau) = \frac{1}{2} \left(\frac{2}{5} + \frac{3 \cos^2 \alpha - 1}{5} \right). \quad (5.1)$$

Jeśli natomiast $\tau_{PT}^1 \gg \tau$ to w czasie życia stanu wzbudzonego nie dojdzie do przeniesienia protonu w znaczącej liczbie cząsteczek i anizotropia fluorescencji pozostanie bliska $2/5$. Analogiczna sytuacja występuje po wzbudzeniu do stanu S_2 , z którego cząsteczki bardzo szybko relaksują do S_1 , przy czym wartości anizotropii w obu skrajnych przypadkach są wówczas następujące:

$$r(\tau_{PT}^1 \gg \tau) \approx -\frac{1}{5}^*, \quad (5.2)$$

$$r(\tau_{PT}^1 < \tau) = \frac{1}{2} \left(-\frac{1}{5} + \frac{3 \cos^2(90^\circ + \alpha) - 1}{5} \right). \quad (5.3)$$

Dokładne pomiary anizotropii fluorescencji w różnych temperaturach, od niskich, w których reakcja przeniesienia protonu jest praktycznie zatrzymana, do temperatury pokojowej, w której zachodzi dużo szybciej niż zanik fluorescencji, pozwoliły wyznaczyć kąt, o jaki obracają się momenty przejścia, $\alpha = (72 \pm 2)^\circ$, na podstawie wartości anizotropii w wysokich temperaturach (odpowiednio 0.13 ± 0.01 i 0.07 ± 0.01 przy wzbudzeniu do S_1 i S_2)⁷⁹ oraz stałą szybkości reakcji w niskich temperaturach. Pierwsze prace⁷⁸ wskazywały, że w stanie wzbudzonym $k_{PT}^1 > 10^8 \text{ s}^{-1}$ już w temp. 113 K. W najnowszych doświadczeniach⁷⁹ wyznaczono stałą szybkości w stanie S_1 w zakresie temperatur od ok. 6 K do 200 K, uzyskując wartości, odpowiednio od $6 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ do $1.3 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ (ok. $3 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ w temp. 100 K). Wyniki wymienionych prac nie są jak widać całkiem zgodne, co zapewne wynika z faktu, że opisana metoda pomiaru jest dokładna jedynie w bardzo ograniczonym zakresie τ_{PT}^1 , dla którego anizotropia zmienia się istotnie ze zmianami τ_{PT}^1 . Tym niemniej nie ulega wątpliwości, że wyznaczona metodami optycznymi szybkość tautomerizacji w stanie wzbudzonym jest o wiele większa niż zmierzona wcześniej za pomocą NMR w stanie podstawowym.

W tym miejscu narzuca się potrzeba wykonania czasowo-rozdzielczych pomiarów anizotropii fluorescencji, bowiem nie miałyby one takich ograniczeń jak wyżej opisane doświadczenie, w którym mierzy się fluorescencję scałkowaną w czasie i pozwoliłyby bezpośrednio i bez wątpliwości wyznaczyć szybkość tautomerizacji. Doświadczenia takie nie zostały jednak dotychczas wykonane, zapewne głównie ze względu na duże wymagania, które stawiają przed aparaturą pomiarową czasowo-rozdzielcze pomiary fluorescencji, a w tym wypadku dodatkową komplikacją jest konieczność bramkowania fluorescencji emitowanej przy dwóch polaryzacjach, w szerokim zakresie czasów.

Rozbieżność wyników pomiarów NMR i optycznych można by próbować tłumaczyć różnicą szybkości reakcji w stanie podstawowym i wzbudzonym, przyjmując, że

*Najmniejsza zmierzona w niskich temperaturach wartość anizotropii to -0.16

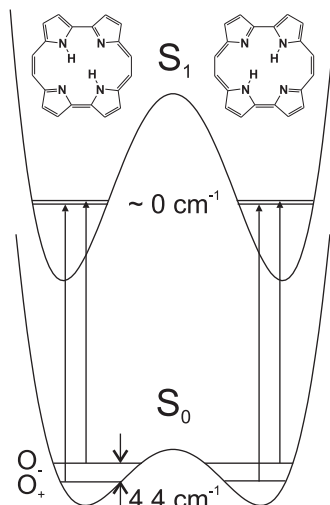
reakcja w stanie wzbudzonym przebiega szybciej. Nie jest to jednak prawdą, przeprowadzono bowiem inne doświadczenie optyczne, pozwalające, wprowadzając znów w pośredni sposób, wnioskować o szybkości tautomerizacji w stanie podstawowym w izolowanych cząsteczkach. W doświadczeniu tym, polegającym na rejestracji widm wzbudzenia fluorescencji w wiązce molekularnej zaobserwowano rozszczepienie linii odpowiadających przejściom wibronowym na dublety odległe o ok. 4.4 cm^{-1} . W oddzielnym eksperymencie wykluczono obecność dwóch tautomerów, w szczególności tautomeru *cis*, różniących się nieznacznie energią. Dlatego pochodzenie dubletów przypisano rozszczepieniu stanu podstawowego cząsteczki na dwa stany odległe o $\Delta = 4.4\text{ cm}^{-1}$, wynikającemu z obecności podwójnej symetrycznej studni potencjału, w której znajdują się wewnętrzne atomy wodoru. Stwierdzono też, że analogiczne rozszczepienie w stanie wzbudzonym jest znacznie mniejsze.

Stany cząstki w symetrycznej podwójnej studni potencjału ulegają rozszczepieniu na dwa poziomy, O_+ i O_- , z których pierwszemu odpowiada symetryczna, drugiemu zaś antysymetryczna funkcja falowa (Rys. 5.5). Energia stanu antysymetrycznego jest o Δ wyższa niż stanu symetrycznego. W stanie niestacjonarnym, odpowiadającym superpozycji stanów własnych, $(O_+ + O_-)/\sqrt{2}$ lub $(O_+ - O_-)/\sqrt{2}$, funkcja falowa jest zlokalizowana w jednym z minimumów potencjału. Jej ewolucja w czasie polega na oscylacyjnym „przelewaniu się” z jednego minimum do drugiego z okresem równym h/Δ , gdzie h jest stałą Plancka.⁸⁰ W izolowanej cząsteczce porficyny odpowiada to koherentnemu tunelowaniu wewnętrznych protonów z jednego położenia w drugie. Charakterystyczna wielkość opisująca szybkość tego procesu, zdefiniowana jako odwrotność okresu oscylacji funkcji falowej, jest równa $\Delta/h = 1.3 \cdot 10^{11}\text{ s}^{-1}$ i jest kilka rzędów wielkości większa niż stała szybkości zmierzona w kryształach za pomocą NMR.

Mniejsze rozszczepienie tunelowe w stanie wzbudzonym niż podstawowym oznacza nie tylko, że okres oscylacji w stanie S_1 jest mniejszy, ale także, że bariera potencjału jest w tym stanie wyższa, czyli również aktywowana termicznie reakcja klasyczna, polegająca na przeniesieniu protonów ponad barierą w dostatecznie wysokich temperaturach, przebiega wolniej.

Również przewidywania teoretyczne⁷³ nie zgadzają się zupełnie z wynikami pomiarów NMR, wskazując, że szybkość reakcji powinna być przynajmniej 2 rzędy wielkości większa niż zmierzona tą metodą. Próby dopasowania obliczeń do wyników pomiarów NMR prowadzą z kolei do niespójności z rezultatami innych doświadczeń.

Kontrowersyjna wydaje się także wysokość bariery potencjału dla przeniesienia protonów. Obliczenia B3LYP/6-31G(d,p)⁷⁹ przewidują barierę o wysokości około 4 kcal/mol dla reakcji *trans-cis* i ok. 6 kcal/mol dla reakcji *trans-trans*. Tymczasem



Rysunek 5.5: Schemat krzywych potencjału wzdłuż współrzędnej przeniesienia protonu prowadzący do rozszczepienia tunelowego⁷⁷

z opisanych już pomiarów stałej szybkości reakcji w stanie wzbudzonym poprzez pomiar anizotropii fluorescencji wyznaczono energię aktywacji reakcji *trans-trans* znacznie niższą od powyższych wartości i równą $(0.55 \pm 0.05 \text{ kcal/mol})$. Te wyniki udało się wyjaśnić po zauważeniu, że zmierzona energia aktywacji jest z dokładnością do niepewności pomiarowych równa energii drgania obserwowanego w widmach IR przy częstotliwości 178 cm^{-1} . Zbieżność ta oznacza, że po wzbudzeniu w cząsteczce tego drgania silnie wzrasta prawdopodobieństwo tunelowania przez barierę, a to z kolei jest naturalną konsekwencją faktu, że w drganiu tym zmniejszeniu ulega odległość pomiędzy atomami azotu będącymi donorem i akceptorem protonu oraz zwiększa się kąt $\text{N}-\text{H} \cdots \text{N}$. Taka zmiana geometrii cząsteczki prowadzi do wzrostu siły wiązania wodorowego $\text{N} \cdots \text{H}$ i może mieć bardzo duży wpływ na prawdopodobieństwo tunelowania (obserwowana jest również bardzo silna zależność szybkości przeniesienia protonów od odległości $\text{N}-\text{N}$ w pochodnych porficyny, co zostanie omówione dalej). Promującą rolę drgania 178 cm^{-1} potwierdza również większe niż dla innych drgań i równe ok. 12 cm^{-1} rozszczepienie w widmach zmierzonych w nanokropelkach helowych.⁸¹ Duży wzrost prawdopodobieństwa tunelowania *trans-trans* po wzbudzeniu drgania o energii mniejszej niż energia formy *cis* tłumaczy dominację mechanizmu jednoczesnego przeniesienia protonów nad sekwencyjnym. Nie wykluczono jednak całkowicie mechanizmu sekwencyjnego zachodzącego z niewielką wydajnością i wciąż nie stwierdzono, jaki jest względny udział reakcji nad barierą i tunelowania w różnych temperaturach i jakie są naprawdę wysokości barier dla wszystkich dopuszczalnych reakcji.

Ze względu na opisane powyżej trudności z ujednoliceniem wyników różnych eksperymentów i teorii oraz brak danych na temat szybkości reakcji tautomerizacji porficyny w roztworach w temperaturach powyżej 200 K w niniejszej rozprawie opisano metodę bezpośredniego wyznaczania stałej szybkości z pomiarów czasowo-rozdzielczych zarówno w stanie podstawowym i wzbudzonym i uzyskane za jej pomocą wyniki dla porficyny i niektórych jej pochodnych. Nim jednak zostaną one zaprezentowane omówimy własności kilku pochodnych porficyny, będących również przedmiotem badań.

5.2 Alkilo-pochodne porficyny

Dużą pomocą w badaniach mechanizmu przeniesienia protonów w porficynie jest możliwość wpływania na wzajemną odległość atomów azotu, pomiędzy którymi przenoszone są wewnętrzne atomy wodoru, poprzez zastępowanie zewnętrznych atomów wodoru grupami alkilowymi. Jeśli podstawienia takiego dokona się w sposób symetryczny względem obu osi symetrii szkieletu cząsteczki, to symetria potencjału, w którym znajdują się wewnętrzne atomy wodoru nie zostanie złamana, lub ulegnie nieznacznemu zaburzeniu. W opisanych w niniejszej pracy badaniach wykorzystano oprócz porficyny (PC — w dalszym ciągu tekstu posługiwać będziemy się skrótowymi nazwami cząsteczek) następujące jej pochodne:

- 2,7,12,17-tetra-*t*-butyloporficynę (TTPC),
- 2,3,6,7,12,13,16,17-oktaetyloporficynę (OEPC),

- 9,10,19,20-tetrametyloporficynę (CMPC)
- 9,10,19,20-tetra-*n*-propyloporficynę (PCRC).

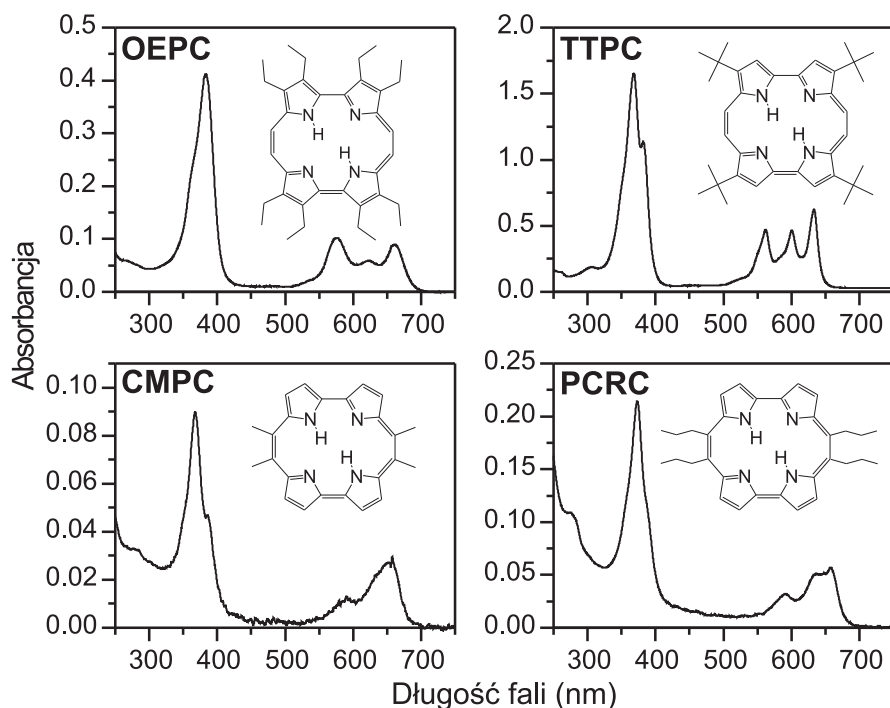
Większość wymienionych cząsteczek była wcześniej przedmiotem badań spektroskopowych w wiązkach molekularnych,^{77,82,83} na podstawie których wyznaczono lub oszacowano wielkość rozszczepienia tunelowego w stanie podstawowym i ewentualnie wzbudzonym. Ponadto za pomocą technik rentgenowskich wyznaczono odległość pomiędzy atomami azotu, a przy użyciu NMR wyznaczono wartości przesunięć chemicznych dla wewnętrznych atomów wodoru, mówiące o sile wiązania wodorowego, w którym atomy te uczestniczą. Wybrane własności fizyczne i spektroskopowe omawianych pochodnych porficyny zebrane są w Tabeli 5.1 natomiast ich widma absorpcji wraz ze wzorami strukturalnymi pokazano na Rys. 5.6.

Tabela 5.1: Wybrane własności porficyny i jej alkilo-pochodnych: δ - przesunięcie chemiczne ^1H , d_{N-N} wzajemna odległość atomów azotu, pomiędzy którymi przenoszone są atomy wodoru, ΔE_0 i ΔE_1 – rozszczepienia tunełowe w stanie S_0 i S_1

Związek	δ (ppm)	d_{N-N} (Å)	ΔE_0 (cm ⁻¹)	ΔE_1 (cm ⁻¹)
OEPC	0.65 ⁶³	2.80 ⁶³	-	-
PC	3.15 ⁶³	2.625 ⁸⁴	4.4 ⁷⁷	-
TTPC	3.6 ⁸⁵	2.630 ⁸⁴	9.9 ⁸²	-
CMPC	6.67 ⁶³	2.53 ⁶³	15 ⁸³	2 ⁸³
PCRC	6.82 ⁶³	2.53 ⁶³	15 ⁸³	2 ⁸³

Spośród badanych pochodnych największe podobieństwo spektralne do PC wykazuje TTPC, której widmo absorpcji w pasmie Q jest równie dobrze rozdzielone na 3 podpasma i nieznacznie tylko przesunięte w stosunku do widma PC. W OEPC składowe pasma Q również są rozseparowane, choć ich szerokość jest większa, natomiast w PCRC i CMPC pasma absorpcji do stanów S_1 i S_2 częściowo nakładają się. Jak się później okaże, ma to duże znaczenie podczas pomiarów czasowo-rozdzielczych. Z punktu widzenia tych pomiarów cząsteczki różnią się pod jeszcze jednym względem: o ile nie stanowi problemu uzyskanie roztworów PC i TTPC o wymaganej absorbancji ok. 0.3-0.5 w kuwecie o grubości 1 lub 2 mm dla długości fali w zakresie 550-650 nm, o tyle doświadczenia w PCRC i CMPC musiały być przeprowadzone przy bardzo małych absorpcjach, uniemożliwiających uzyskanie wyników o wysokim stosunku sygnału do szumu (widma na Rys. 5.6 zostały zmierzone w roztworach wykorzystywanych do pomiarów czasowo-rozdzielczych; sposób ich przygotowania opisany jest w Rozdziale 5.6).

Widma wzbudzenia fluorescencji i wypalania dziur metodą podwójnego rezonansu w wiązkach molekularnych zmierzono dla TTPC, CMPC i PCRC. W przypadku TTPC stwierdzono istnienie dwóch konformerów w stanie podstawowym, z których jeden wykazywał rozszczepienie tunelowe stanu podstawowego o wielkości



Rysunek 5.6: Wzory strukturalne i widma absorpcji pochodnych porficyny badanych w niniejszej pracy zarejestrowane w glikolu etylenowym w temperaturze pokojowej.

9.9 cm^{-1} . Nie przypisano im jednak konkretnych struktur, przyjmując, że możliwości są następujące: konformery *cis* i *trans* ze względu na wewnętrzne atomy wodoru, rotamery ze względu na grupy *t*-butylowe i kompleksy z cząsteczkami wody. Niezwykle złożona struktura widm spowodowana obecnością grup *t*-butylowych uniemożliwiła dokładną ich analizę.⁸²

Zachowanie CMPC i PCRC w wiązkach molekularnych jest bardzo podobne — zaobserwowano istnienie dwóch tautomerów, które zidentyfikowano jako formy *cis* i *trans* i dla obu z nich wyznaczono wartości rozszczepień tunelowych: ok. 15 cm^{-1} w stanie podstawowym i ok. 2 cm^{-1} w stanie wzbudzonym. Stwierdzono też, że konformacja podstawników dopasowuje się do położenia atomów wodoru we wnęce, zaburzając symetrię cząsteczki, jednak wywołane tym zmiany potencjału dla wewnętrznych atomów wodoru nie są na tyle duże, by prowadzić do lokalizacji funkcji falowej w jednym z minimów.⁸³

Porównanie szybkości tautomerizacji wyznaczonej metodami optycznymi, wielkości przesunięć chemicznych dla wewnętrznych atomów wodoru, odległości pomiędzy atomami azotu i rozszczepień tunelowych dla OEPC, PC, CMPC i PCRC wykazuje silną korelację tych wielkości: im bliżej znajdują się atomy azotu, tym

silniejsze jest wiązanie wodorowe (większe przesunięcie chemiczne) i tym szybsza jest reakcja tautomeryzacji. Bardziej ścisła analiza tej relacji stała się możliwa dopiero po wyznaczeniu stałych szybkości reakcji dla kilku różnych cząsteczek w tych samych warunkach i omówiona jest w Rozdziale 5.5.

5.3 Widma absorpcji przejściowej porficyny

Pomiary absorpcji przejściowej* z próbkowaniem szerokopasmowym (światłem białym) pełnią pomocniczą rolę w wyznaczaniu szybkości przeniesienia protonów w porficynie. Ich celem jest sprawdzenie, w jakim stopniu inne procesy, np. relaksacja wewnątrzcząsteczkowa, mogą wpływać na obserwowane zmiany anizotropii i pomóc w zaplanowaniu pomiarów, które będą właściwym źródłem informacji na temat tautomeryzacji.

Widma absorpcji przejściowej zostały zarejestrowane w układzie opisanym w rozdziale 3.1. Cząsteczki wzbudzane były w pasmach Q (550-630 nm), a indukowane optycznie zmiany absorpcji rejestrowane w zakresie od ok. 380 nm do 800 nm dla opóźnień od -1.5 ps do 1 ns.

Badane roztwory PC w acetonitrylu (ACN) znajdowały się w kuwecie kwarcowej o grubości 1 mm. Dzięki bardzo dużej fotostabilności PC oraz małemu przesunięciu Stokesa i wysokiej wydajności kwantowej fluorescencji (zatem niewielkiemu grzaniu się próbki) roztwór nie musiał być pompowany przez kuwetę.

Mimo iż zostały zarejestrowane widma przy obu polaryzacjach, równoległej i prostopadłej do kierunku polaryzacji wiązki pompującej, zaczniemy od przyjrzenia się widmom odpowiadającym pomiarowi przy kącie magicznym pomiędzy kierunkami polaryzacji, co pozwoli przeanalizować zmiany spektralne zachodzące w cząsteczce PC po wzbudzeniu optycznym. Na Rys. 5.7(a) pokazane są widma zmierzone przy długości fali impulsów pompujących równej 630 nm, czyli po wzbudzeniu cząsteczek do stanu S_1 . Ze względu na docierające do spektrometru i nasycające kamerę CCD rozproszone światło wiązki pompującej niedostępny do obserwacji był obszar od 600 do 680 nm (w rzeczywistości udało się częściowo odtworzyć wygląd widma również w tym zakresie, jednak na wyjaśnienie sposobu, w jaki tego dokonano, trzeba poczekać do omówienia kinetyk anizotropii absorpcji przejściowej; pełne widma dla dużych opóźnień pokazane są na Rys. 5.7(d)). Można w nich wyróżnić dwa szerokie pasma absorpcji ze stanu wzbudzonego, których maksima znajdują się przy długościach fali równych ok. 450 nm i 740 nm oraz pasmo wybielania o strukturze odzwierciedlającej kształt widma absorpcji stacjonarnej (Rys. 5.7(e)). Kinetyka zmian absorpcji w dostępnym do obserwacji zakresie jest bardzo prosta - przy wszystkich długościach fali sygnał narasta natychmiastowo (to znaczy w czasie trwania impulsu pompującego), po czym powoli zanika. Przekonać się o tym można również patrząc na Rys. 5.8(a), na którym pokazano kinetyki absorpcji przejściowej w charakterystycznych punktach widma. Dopasowanie globalne wykazało, że kinetyki przy wszystkich długościach fali w zbadanym zakresie można

*W pracy używany jest tradycyjnie przyjęty termin „absorpcja przejściowa”, należy jednak pamiętać, że oznacza on zmianę absorbancji (gęstości optycznej) próbki, proporcjonalną do wywołanej impulsem pompującym zmiany populacji cząsteczek

dobrze opisać jednym czasem zaniku równym (9.9 ± 0.6) ns. Wartość ta bardzo dobrze zgadza się z czasem zaniku fluorescencji porficyny, zmierzonym metodami klasycznymi⁸⁶ (zgodność ta może wydawać się zaskakująca, gdyż zakres opóźnień, dla którego zarejestrowano kinetyki jest znacznie mniejszy niż wartość czasu życia, jednak globalne dopasowanie kilkuset kinetyk pozwala dokładnie wyznaczyć czas życia nawet w takim przypadku).

Zmiany absorpcji w czasie przestają być trywialne, gdy mierzymy je przy długości fali impulsów pompujących równej 555 nm, wzbudzając cząsteczki do stanu S_2^* z dużym nadmiarem energii. Absorpcja w okolicy 590 nm znów narasta natychmiastowo i zanika monotonicznie, jednak w obszarze widma poprzednio niewidocznym, odpowiadającym wybieleniu (w pasmie absorpcji $S_1 \leftarrow S_0$) i jednocześnie wzmocnieniu poprzez emisję wymuszoną (w zakresie widma fluorescencji) zmiany nie są monotoniczne — przez kilkadziesiąt ps wzmocnienie narasta, po czym powoli maleje. Nie obserwujemy natomiast żadnych przesunięć poszczególnych pasm.

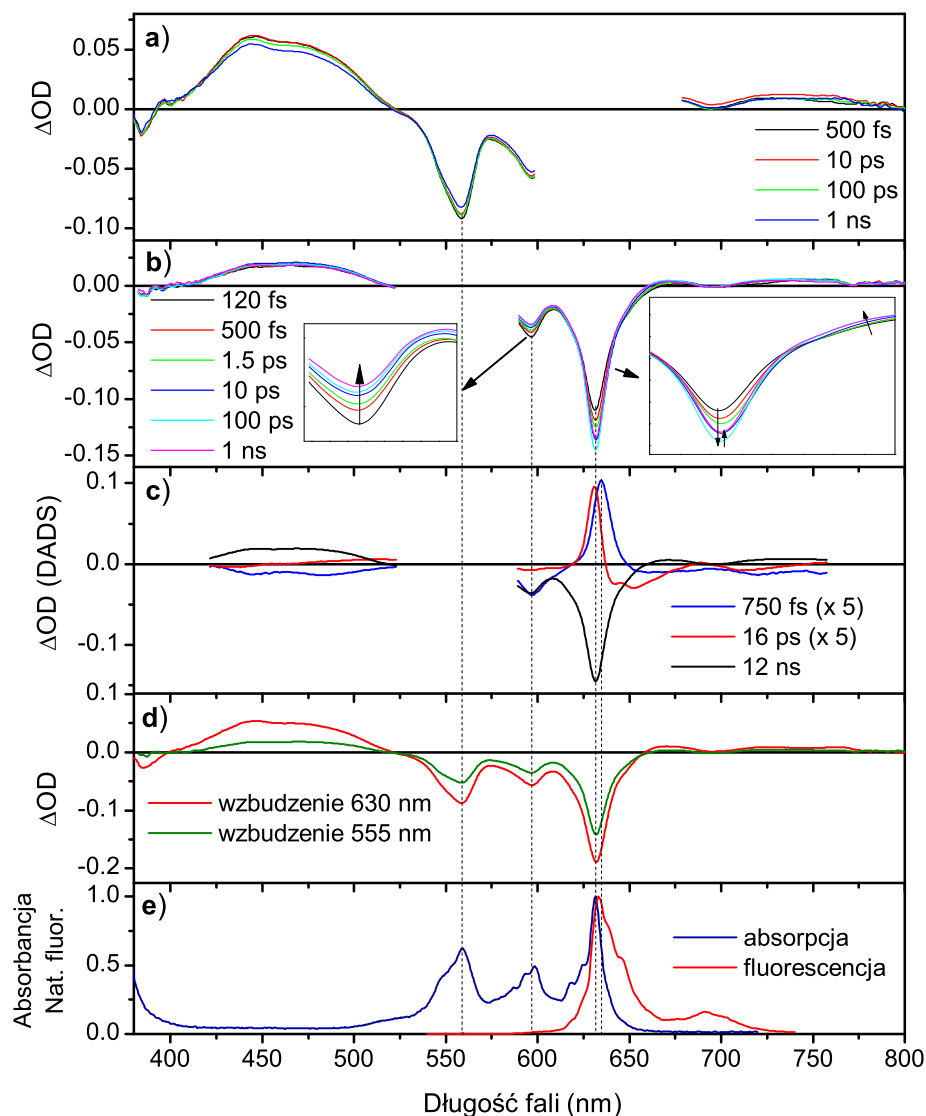
Analizując kinetykę sygnału mierzonego przy 630 nm (Rys. 5.8(b, c)) widać, że narastanie przebiega w dwóch skalach czasowych — długiej, rzędu kilkudziesięciu ps (Rys. 5.8(b) i krótkiej, subpikosekundowej (Rys. 5.8(c)). Tę ostatnią można również odszukać w kinetyce dla 595 nm (absorpcja do S_2), jednak tutaj obserwujemy zanik wzmocnienia. Natomiast powolna składowa narastania wzmocnienia przy 630 nm nie ma swojego odpowiednika w zmianach sygnału przy innych długościach fali. W tym wypadku do pełnego opisanie kinetyki potrzebne będą więc przynajmniej 3 stałe czasowe: ~ 1 ps, opisująca zanik wzmocnienia przy 595 nm i szybkie narastanie przy 630 nm; ~ 10 ps - powolne narastanie przy 630 nm i ~ 10 ns — powolny zanik przy wszystkich długościach fali odpowiadający zanikowi stanu wzbudzonego. Wyniki analizy globalnej są zgodne z tymi oczekiwaniami — trzy stałe czasowe wystarczają do uzyskania dobrego dopasowania, a ich wartości* zebrane są w Tabeli 5.2.

Tabela 5.2: Wartości czasów zaniku lub narastania absorpcji przejściowej porficyny wyznaczone metodą analizy globalnej

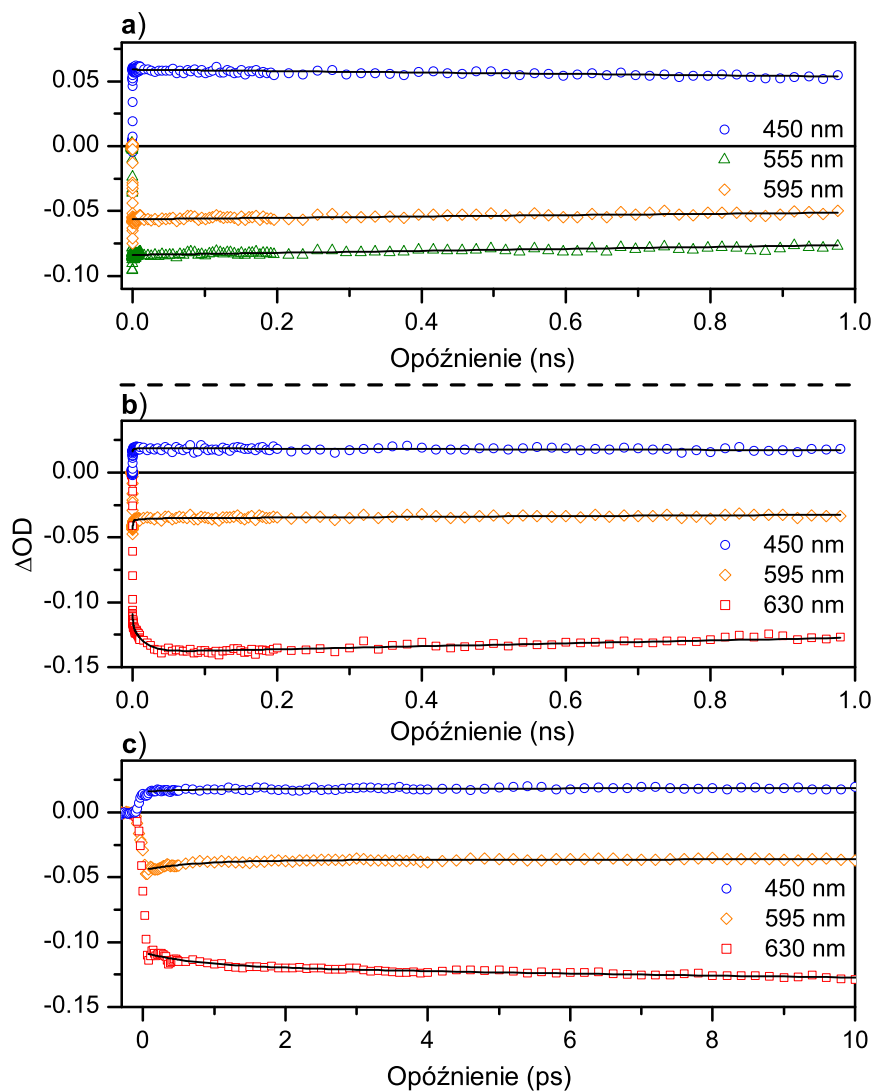
Dł. fali wzbudzenia	Oznaczenie	Wartość
555 nm	t_1	(750 ± 170) fs
	t_2	(16 ± 3) ps
	t_3	(12 ± 1) ns
630 nm	t_3	(9.9 ± 0.6) ns

Najdłuższy z otrzymanych czasów, t_3 , jest w granicy niepewności pomiarowych zgodny z czasem wyznaczonym z dopasowania globalnego absorpcji przejściowej zmierzonej dla długości fali światła wzbudzającego równej 630 nm. Może więc być bez wątpliwości utożsamiony z czasem życia stanu S_1 . W zidentyfikowaniu procesów opisywanych czasami t_1 i t_2 pomoc mogą widma związane z zanikami (DADS) (Rys.

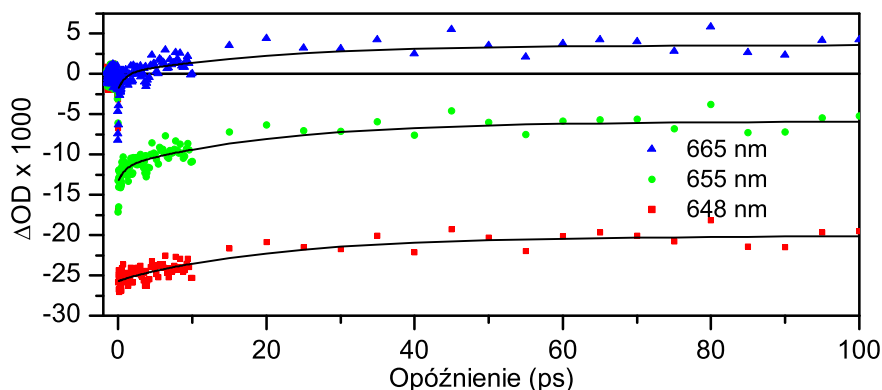
*Przykład wyznaczania niepewności czasów zaniku w dopasowaniu globalnym omówiony w Rozdziale 4 dotyczył tego właśnie przypadku



Rysunek 5.7: (a) Widma absorpcji przejściowej roztworu PC w ACN przy dł. fali wzbudzenia 630 nm. (b) Analogiczne widma przy dł. fali wzbudzenia 555 nm. (c) Widma związane z zanikami (DADS) przy dł. fali wzbudzenia 555 nm. (d) Widma absorpcji przejściowej dla dużych opóźnień, przy polaryzacji prostopadłej do kierunku polaryzacji wiązki pompującej. (e) Widma absorpcji i fluorescencji stacjonarnej PC.



Rysunek 5.8: Kinetyki absorpcji przejściowej PC: (a) przy dł. fali wzbudzenia 630 nm, (b,c) przy dł. fali wzbudzenia 555 nm.



Rysunek 5.9: Kinetyki absorpcji przejściowej PC przy dł. fali wzbudzenia 555 nm, pokazujące wzrost absorpcji w zakresie fal dłuższych niż 630 nm.

5.7(c)).

W DADS odpowiadającym czasowi t_1 wyróżnić można dwa, sąsiadujące ze sobą pasma: ujemne, pokrywające się z pasmem wzmocnienia wokół 595 nm w widmach absorpcji przejściowej i dodatnie, przesunięte nieznacznie tylko w kierunku dłuższych fal względem pasma absorpcji $S_1 \leftarrow S_0$, z maksimum przy 635 nm. Wykluczając przypadkową zbieżność położenia i kształtów tych pasm, ujemne wartości w DADS wokół 595 nm możemy utożsamić z zanikiem wzmocnienia w zakresie długości fal odpowiadających emisji wymuszonej $S_2 \rightarrow S_0$, a dodatnie wartości wokół 635 nm — z narastaniem wzmocnienia w pasmie odpowiadającym emisji wymuszonej $S_1 \rightarrow S_0$. Na tej podstawie czas t_1 można przypisać relaksacji ze stanu S_2 do stanu S_1 . Należy jednak pamiętać, że cząsteczki były wzbudzone do wyższego stanu oscylacyjnego S_2^* , a relaksacja $S_2 \rightsquigarrow S_1$ przejawia się tu jako przejście pomiędzy dwoma stanami o dobrze zdefiniowanych widmach — nie jako stopniowe chłodzenie oscylacyjne, w którym widoczne byłoby dynamiczne przesunięcie Stokes'a. Można więc precyzyjniej zinterpretować proces zachodzący z czasem charakterystycznym t_1 jako bezpromieniste przejście ze zrelaksowanego oscylacyjnie stanu S_2 do stanu S_1 . Potwierdzają to dodatkowo opisane dalej (w Rozdziale 5.5) rezultaty pomiarów wykonanych z większą rozdzielczością czasową, z których wynika, że depopulacja gorącego stanu S_2^* zachodzi w czasie ok. 100 fs, czyli krótszym niż rozdzielczość czasowa układu służącego do wykonania opisanych wyżej pomiarów.

Trudniejsze jest zidentyfikowanie procesu zachodzącego ze stałą czasową t_2 . Jego wpływ na absorpcję przejściową jest najwyraźniej widoczny w kinetykach dla długości fali bliskich 630 nm, choć odpowiednie DADS pokazuje, że przejawia się on też jako zmiany absorpcji dla fal o długościach 640–680 nm (Rys. 5.9) oraz,

w jeszcze mniejszym stopniu, dla fal krótszych niż 620 nm, przy czym kierunek zmian jest tam przeciwny niż w zakresie 620-640 nm. Porównując te informacje z widmami absorpcji przejściowej (wstawka na wykresie 5.7(b)) można stwierdzić, że obserwowane zmiany polegają na zawężeniu pasma wzmocnienia wywołanego emisją wymuszoną $S_1 \rightarrow S_0$, gdyż wzmocnienie rośnie w maksimum pasma i maleje w jego skrzydłach.

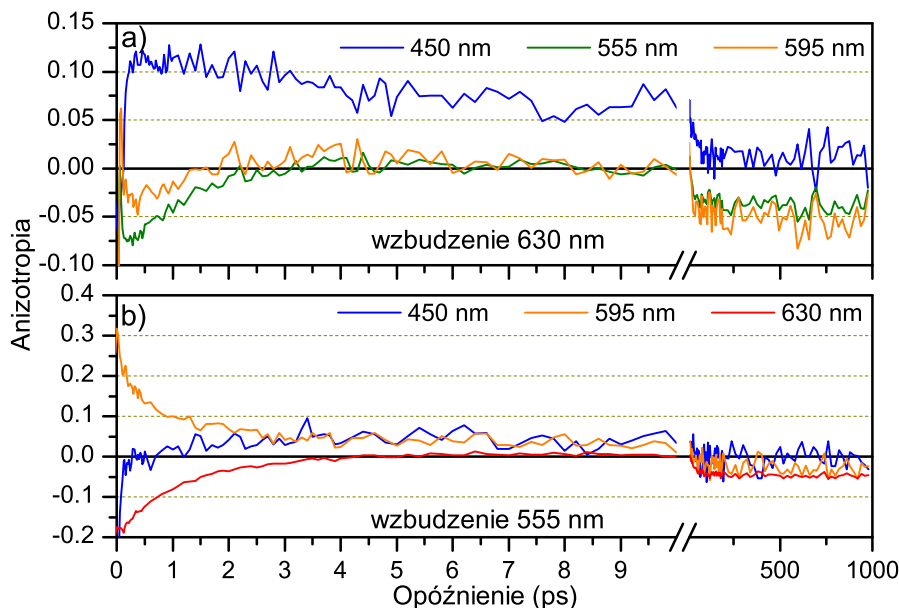
Jest to typowe zjawisko znamionujące relaksację stanu, z którego zachodzi emisja, choć często towarzyszy mu jeszcze przesuwanie się widma ku czerwieni, nie występujące w analizowanych wynikach. Bardzo podobny efekt zaobserwowano jednak badając relaksację tetrafenyloporfiryny w roztworach:⁸⁷ widmo fluorescencji w pomiarach czasowo-rozdzielczych ulega zawężeniu, przy czym jego maksimum pozostaje w tym samym miejscu. Prowadzący do tych zmian proces zachodzący ze stałą czasową około 20 ps zidentyfikowano jako termalizację cząsteczki poprzez oddanie nadmiaru energii oscylacyjnej cząsteczkom rozpuszczalnika. Relaksacja PC i TTPC związana z oddaniem nadmiaru energii do środowiska obserwowana w matricach Ar i N₂ za pomocą pomiarów czasowo-rozdzielczych widm fluorescencji również przejawia się zawężeniem poszczególnych pasm bez ich przesunięć.⁸⁸

Porównanie zmian spektralnych powodowanych przez proces zachodzący ze stałą czasową t_2 z wynikami opisanych wyżej doświadczeń pozwala przyjąć, że proces ten polega na termalizacji cząsteczek porficyny poprzez przekaz nadmiaru energii oscylacyjnej do rozpuszczalnika.

5.4 Anizotropia absorpcji przejściowej porficyny

Jak to już wielokrotnie powiedziano, pomiary anizotropii światła absorbowanego lub emitowanego przez wzbudzone cząsteczki są jedyną optyczną metodą badania reakcji przeniesienia protonu w porficynach. Od tego momentu skoncentrujemy się więc na pomiarach anizotropii absorpcji przejściowej, zaczynając od analizy pod tym kątem wyników opisanych w poprzednim rozdziale.

Na Rys. 5.10 pokazane są zmiany anizotropii w funkcji opóźnienia pomiędzy impulsami pompującym i próbkującym w charakterystycznych punktach widma — tych samych, dla których kinetyki absorpcji przedstawione były na Rys. 5.8. Po bieżne spojrzenie na ten rysunek pokazuje przede wszystkim, że pomiar anizotropii, w którym absorpcja próbkowana jest światłem białym nie daje dobrego rezultatu. Pomimo dużego stężenia badanego roztworu stosunek sygnału do szumu jest niski, a co gorsza anizotropia po jednej nanosekundzie (która jest czasem dostatecznie długim by poprzez dyfuzję rotacyjną populacje cząsteczek o wszelkich orientacjach dipolowego momentu przejścia wyrównały się) nie spada do zera, choć powinna. Wysoki poziom szumów spowodowany jest niestabilnością impulsów próbkujących powstających w silnie nieliniowym procesie generacji superkontinuum, natomiast błędne wartości anizotropii wynikają z konstrukcji układu pomiarowego: wiązka próbkująca spolaryzowana pod kątem 45° pada na lustro metaliczne, po odbiciu od którego jej polaryzacja staje się eliptyczna (Rozdział 3.1). To powoduje, że trudno analizować te wyniki ilościowo, nie ma jednak powodu, by spodziewać się, że również skale czasowe względnych zmian anizotropii będą zaburzone, zatem mi-



Rysunek 5.10: Kinetyki anizotropii absorpcji przejściowej obserwowane przy różnych długościach fali po wzbudzeniu do stanu S_1 (a) i S_2 (b)

mo swoich wad, pomiary te są dużą pomocą przy planowaniu odpowiedniejszych doświadczeń i pozwalają oszacować zmiany anizotropii spowodowane innymi procesami, które można by niewłaściwie zinterpretować jako przejaw tautomerizacji.

By zrozumieć zaobserwowane zmiany anizotropii w czasie, przeanalizujemy na początek sytuację, w której wzbudzamy cząsteczki do stanu S_1 . Cząsteczki w stanie S_1 dają dodatni wkład do absorpcji przejściowej poprzez absorpcję do wyższych stanów wzbudzonych (z widmem, o którym można wnioskować na podstawie opisanych wcześniej pomiarów) i ujemny poprzez emisję wymuszoną (z widmem zbliżonym do widma fluorescencji). Sygnał wybielania możemy opisywać korzystając z pojęcia "dziury" w stanie w stanie podstawowym, czyli tak, jakby liczba cząsteczek równa liczbie cząsteczek usuniętych ze stanu podstawowego znajdowała się w stanie wzbudzonym i wzmacniała światło z widmem odpowiadającym widmu absorpcji stacjonarnej. Przyjmijmy też, że zaniedbywalnie mała jest populacja cząsteczek w innych stanach (np. trypletowych), zatem liczba cząsteczek w stanie S_1 i liczba cząsteczek usuniętych ze stanu podstawowego są sobie równe. Ponadto ograniczmy się do zakresu fal dłuższych od 400 nm, dzięki czemu możemy pominąć absorpcję w

pasmie Soreta. Wówczas mierzona absorpcja przejściowa jest wyrażona równaniem

$$\Delta OD(\lambda, t) = -\log e \cdot l \cdot n(t) [\sigma_{1 \leftarrow 0}(\lambda) + \sigma_{2 \leftarrow 0}(\lambda) - \sigma_{n \leftarrow 1}(\lambda) + \sigma_{1 \rightarrow 0}(\lambda)], \quad (5.4)$$

gdzie l oznacza grubość próbki; $n(t)$ – liczbę cząsteczek w stanie wzbudzonym równą liczbie dziur w stanie podstawowym w jednostce objętości; $\sigma_{1 \leftarrow 0}$, $\sigma_{2 \leftarrow 0}$, $\sigma_{n \leftarrow 1}$, $\sigma_{1 \rightarrow 0}$ – przekroje czynne na odpowiednie procesy absorpcji i emisji wymuszonej.

Gdyby nie zachodziły procesy prowadzące do zmiany orientacji momentów przejść (tautomeryzacja, dyfuzja rotacyjna), to — dzięki addytywności — anizotropię absorpcji można by zapisać następująco (dla przejrzystości w kolejnych równaniach pominięty jest zapis zależności przekrojów czynnych od długości fali):

$$r(\lambda, t) = \frac{n(t)}{Z(\lambda, t)} (\sigma_{1 \leftarrow 0} r_1 + \sigma_{2 \leftarrow 0} r_2 - \sigma_{n \leftarrow 1} r_{1n} + \sigma_{1 \rightarrow 0} r_1), \quad (5.5)$$

przy czym,

$$Z(\lambda, t) = n(t) (\sigma_{1 \leftarrow 0} + \sigma_{2 \leftarrow 0} - \sigma_{n \leftarrow 1} + \sigma_{1 \rightarrow 0}). \quad (5.6)$$

Przyjmując, że momenty przejść $S_1 \leftarrow S_0$ i $S_2 \leftarrow S_0$ są wzajemnie prostopadłe i oznaczając kąt pomiędzy momentami przejść $S_1 \leftarrow S_0$ i $S_n \leftarrow S_1$ przez β mamy:

$$r_1 = 0.4, \quad r_2 = -0.2, \\ r_{1n} = \frac{3 \cos^2 \beta - 1}{5}. \quad (5.7)$$

Uwzględnienie tautomeryzacji *trans-trans* wymaga rozdzielenia populacji cząsteczek w stanie podstawowym i wzbudzonym, na dwie: o pierwotnej lokalizacji atomów wodoru i z protonami przeniesionymi na drugą parę atomów azotu, a każda z tych populacji ma odmienny wkład do łącznej anizotropii. Jeśli przez r_t oznaczymy wyrażenie na anizotropię obejmujące zmiany wywołane wyłącznie przeniesieniem protonów, to

$$r_t(\lambda, t) = \frac{1}{Z(\lambda, t)} [n_0^0(t)(\sigma_{1 \leftarrow 0} r_1 + \sigma_{2 \leftarrow 0} r_2) + n_0^{PT}(t)(\sigma_{1 \leftarrow 0} r_1^{PT} + \sigma_{2 \leftarrow 0} r_2^{PT}) + \\ n_1^0(t)(-\sigma_{n \leftarrow 1} r_{1n} + \sigma_{1 \rightarrow 0} r_1) + n_1^{PT}(t)(-\sigma_{n \leftarrow 1} r_{1n}^{PT} + \sigma_{1 \rightarrow 0} r_1^{PT})], \quad (5.8)$$

gdzie n_1^0 i n_0^0 to stężenia cząsteczek w stanie S_1 i „dziur” w stanie S_0 o pierwotnej orientacji momentu przejścia, a n_1^{PT} i n_0^{PT} – stężenia cząsteczek i „dziur”, które uległy tautomeryzacji. Ponieważ liczba cząsteczek w każdym stanie jest zachowana, to

$$n_1^0(t) + n_1^{PT}(t) = n_0^0(t) + n_0^{PT}(t) = n(t), \quad (5.9)$$

dzięki czemu Z we wzorach 5.5 i 5.8 wyraża się tym samym równaniem 5.6.

Wartości anizotropii dla cząsteczek po przeniesieniu protonu są równe

$$r_1^{PT} = \frac{3 \cos^2 \alpha - 1}{5} = -0.14, \quad (5.10)$$

$$r_2^{PT} = \frac{3 \cos^2(90^\circ + \alpha) - 1}{5} = 0.34, \quad (5.11)$$

$$r_{1n}^{PT} = \frac{3 \cos^2(\beta + \alpha) - 1}{5}. \quad (5.12)$$

To jeszcze nie wszystko, należy także uwzględnić zanik anizotropii w wyniku rotacji cząsteczek w roztworze. Kształt cząsteczki porficyny można przybliżyć silnie spłaszczoną elipsoidą, której dwie osie leżące w płaszczyźnie cząsteczki są sobie równe. Ponieważ momenty przejść dipolowych leżą w płaszczyźnie cząsteczki, to wywołane dyfuzją rotacyjną zmiany anizotropii w czasie można opisać funkcją³⁶

$$r_r(t) = \rho_2 e^{-\frac{t}{\theta_2}} + \rho_3 e^{-\frac{t}{\theta_3}}, \quad (5.13)$$

gdzie ρ_2 zależy od kąta γ pomiędzy momentem przejścia elektronowego prowadzącego do wzbudzenia a momentem przejścia próbkowanego, prowadzącego do wzmocnienia lub absorpcji fotonu z wiązki sondującej,

$$\rho_2 = 0.3 \cos 2\gamma, \quad (5.14)$$

natomiast

$$\rho_3 = 0.1. \quad (5.15)$$

Wartość kąta γ jest różna dla różnych przejść elektronowych, zmienia się także w wyniku tautomeryzacji. Oznacza to, że pełne uwzględnienie dyfuzji rotacyjnej wymaga zastąpienia cząstkowych anizotropii r_1, r_2, r_{1n} występujących w wyrażeniu 5.8 zależnymi od czasu funkcjami postaci 5.13 z odpowiednią wartością ρ_2 .

Czasy korelacji rotacyjnej, θ_2 i θ_3 , wyrażają się poprzez współczynniki dyfuzji rotacyjnej: $D_{||}$ – opisujący szybkość obrotu wokół osi prostopadłej do płaszczyzny cząsteczki i $D_{\perp}$ – opisujący szybkość obrotu wokół osi leżących w płaszczyźnie cząsteczki,

$$\begin{aligned} \theta_2 &= (4D_{||} + 2D_{\perp})^{-1}, \\ \theta_3 &= (6D_{\perp})^{-1}. \end{aligned} \quad (5.16)$$

Stosunek czasów korelacji rotacyjnej jest równy:

$$\frac{\theta_3}{\theta_2} = \frac{1}{3} + \frac{2}{3} \frac{D_{||}}{D_{\perp}}. \quad (5.17)$$

Dla cząsteczki w kształcie dysku współczynniki dyfuzji rotacyjnej nie różnią się znacząco.³⁶ Ich stosunek, $D_{||}/D_{\perp}$, jest funkcją ilorazu długości krótkiej i długiej osi elipsoidy q . $D_{||}/D_{\perp}$ osiąga minimum równe 0.8 dla $q = 0.4$, natomiast dla silnie spłaszczonych cząsteczek, takich jak porficyna, dla których $q < 0.1$:

$$\frac{D_{||}}{D_{\perp}} \approx 1 - q. \quad (5.18)$$

Oznacza to, że dla $q < 0.1$ (w przypadku porficyny jest to dość ostrożne oszacowanie)

$$1 > \frac{\theta_3}{\theta_2} > 0.93. \quad (5.19)$$

Tak niewielka różnica czasów korelacji rotacyjnej jest niezauważalna w typowym pomiarze kinetyk anizotropii, dlatego można przyjąć, że

$$r_r(t) = (\rho_2 + \rho_3)e^{-\frac{t}{\theta}} = \frac{3 \cos^2 \gamma - 1}{5} e^{-\frac{t}{\theta}}. \quad (5.20)$$

Zastąpienie powyższym wyrażeniem niezależnych od czasu cząstkowych anizotropii w równaniu 5.8 jest równoznaczne pomnożeniu prawej strony tego równania przez $e^{-\frac{t}{\theta}}$. Wówczas wyrażenie opisujące zmiany anizotropii wywołane łącznie tautomerizacją i dyfuzją rotacyjną $r(t)$ przyjmuje postać

$$r(\lambda, t) = r_t(\lambda, t)e^{-\frac{t}{\theta}} \quad (5.21)$$

Wpływ tautomerizacji na anizotropię można opisać również w przypadku, gdy cząsteczki wzbudzone są do stanu S_2 , ale złożoność zmian jest wówczas tak duża, że pełne wyrażenie na $r_t(t)$ jest zupełnie nieprzydatne. Dlatego warto ograniczyć analizę do czasów dłuższych niż czas relaksacji do stanu S_1 . Wtedy zależność anizotropii od czasu można opisać wzorami bardzo podobnymi do równań 5.8-5.13, w których należy odpowiednio zmienić wartości anizotropii dla poszczególnych przejść optycznych. Nawet te równania są jednak zbyt skomplikowane, by z opisywanych przez nie zmian anizotropii odczytać szybkość tautomerizacji. Zamiast więc zapisywać ogólne wzory na $r_t(t)$ po wzbudzeniu do stanu S_2 poszukamy skracających je uproszczeń.

Po pierwsze, zmiany anizotropii wywołane przeniesieniem atomów wodoru w porficynie zachodzą w czasie o wiele krótszym niż czas życia stanu S_1 . Jeśli dodatkowo ograniczymy analizę do opóźnień dłuższych niż czas relaksacji z wyższych stanów do S_1 oraz pominiemy niewielką zmianę absorpcji wywołaną chłodzeniem poprzez przekaz nadmiaru energii oscylacyjnej do rozpuszczalnika, to możemy przyjąć, że koncentracje cząsteczek w stanie podstawowym i wzbudzonym są stałe,

$$n(t) = n = \text{const}. \quad (5.22)$$

Następnie zauważmy, że dla charakterystycznych długości fali niektóre wyrazy sumowane we wzorze 5.8 są równe lub bliskie zeru. W szczególności przy 450 nm jedynym niezerowym składnikiem jest ten wynikający z absorpcji $S_n \leftarrow S_1$; przy 555 nm i 595 nm nie ma emisji wymuszonej $S_1 \rightarrow S_0$ i wybielania w pasmie absorpcji $S_1 \leftarrow S_0$, natomiast przy 630 nm przeciwnie — stanowią one główny czynnik decydujący o anizotropii. Tak uproszczone wyrażania na $r_t(t)$ zebrane są w Tabeli 5.3.

By otrzymać analogiczne wyrażenia opisujące anizotropię absorpcji przejściowej po wzbudzeniu cząsteczek do stanu S_2 i czasie dostatecznie długim by zrelaksowały one do stanu S_1 wystarczy zamienić miejscami r_1 i r_2 i analogiczne wielkości dla cząsteczek po przeniesieniu protonu oraz zastąpić r_{1n} przez r_{2n} i r_{1n}^{PT} przez r_{2n}^{PT} równe odpowiednio

$$r_{2n} = \frac{3 \cos^2(90^\circ - \beta) - 1}{5}, \quad (5.23)$$

Tabela 5.3: Uprozczone wyrażenia na zmiany anizotropii absorpcji przejściowej obserwowanej przy charakterystycznych długościach fali wywołane tautomerizacją po wzbudzeniu do stanu S_1

Długość fali	$r_t(t)$
450 nm	$\frac{n_1^0(t)r_{1n} + n_1^{PT}(t)r_{1n}^{PT}}{n}$
555 nm i 595 nm	$\frac{(n_0^0(t)r_2 + n_0^{PT}(t)r_2^{PT})\sigma_{2 \leftarrow 0} - (n_1^0(t)r_{1n} + n_1^{PT}(t)r_{1n}^{PT})\sigma_{n \leftarrow 1}}{n(\sigma_{2 \leftarrow 0} - \sigma_{n \leftarrow 1})}$
630 nm	$\frac{(n_0^0(t)r_1 + n_0^{PT}(t)r_1^{PT})\sigma_{1 \leftarrow 0} + (n_1^0(t)r_1 + n_1^{PT}(t)r_1^{PT})\sigma_{1 \rightarrow 0}}{n(\sigma_{1 \leftarrow 0} + \sigma_{1 \rightarrow 0})}$

$$r_{2n}^{PT} = \frac{3 \cos^2(90^\circ - \beta - \alpha) - 1}{5}. \quad (5.24)$$

Uzyskane równania zebrane są w Tabeli 5.4

Tabela 5.4: Uprozczone wyrażenia na zmiany anizotropii absorpcji przejściowej obserwowanej przy charakterystycznych długościach fali po wzbudzeniu cząsteczek porficyny do stanu S_2 i ich relaksacji do S_1

Długość fali	$r_t(t)$
450 nm	$\frac{n_1^0(t)r_{2n} + n_1^{PT}(t)r_{2n}^{PT}}{n}$
555 nm i 595 nm	$\frac{(n_0^0(t)r_1 + n_0^{PT}(t)r_1^{PT})\sigma_{2 \leftarrow 0} - (n_1^0(t)r_{2n} + n_1^{PT}(t)r_{2n}^{PT})\sigma_{n \leftarrow 1}}{n(\sigma_{2 \leftarrow 0} - \sigma_{n \leftarrow 1})}$
630 nm	$\frac{(n_0^0(t)r_2 + n_0^{PT}(t)r_2^{PT})\sigma_{1 \leftarrow 0} + (n_1^0(t)r_2 + n_1^{PT}(t)r_2^{PT})\sigma_{1 \rightarrow 0}}{n(\sigma_{1 \leftarrow 0} + \sigma_{1 \rightarrow 0})}$

Łatwo jest też przy zastosowanych uproszczeniach znaleźć zależność od czasu stężeń cząsteczek o pierwotnej orientacji momentów przejścia i po przeniesieniu protonu. Zakładając, że reakcja jest odwracalna (a nie ma żadnych przesłanek doświadczalnych ani teoretycznych wskazujących na to, by nie miała być), to równania kinetyczne opisujące stężenia cząsteczek w stanie wzbudzonym i „dziur” są następujące:

$$\begin{aligned} \frac{dn_1^0(t)}{dt} &= -k_{PT}^1 (n_1^0(t) - n_1^{PT}(t)), & \frac{dn_1^{PT}(t)}{dt} &= k_{PT}^1 (n_1^0(t) - n_1^{PT}(t)), \\ \frac{dn_0^0(t)}{dt} &= -k_{PT}^0 (n_0^0(t) - n_0^{PT}(t)), & \frac{dn_0^{PT}(t)}{dt} &= k_{PT}^0 (n_0^0(t) - n_0^{PT}(t)), \end{aligned} \quad (5.25)$$

gdzie k_{PT}^1 i k_{PT}^0 to stałe szybkości tautomerizacji w stanach odpowiednio, S_1 i S_0 .

Dla warunków początkowych

$$\begin{aligned} n_1^0(0) &= n, & n_1^{PT}(0) &= 0, \\ n_0^0(0) &= n, & n_0^{PT}(0) &= 0 \end{aligned} \quad (5.26)$$

ich rozwiązaniem jest

$$\begin{aligned} n_0^0(t) &= \frac{n}{2} \left(1 + e^{-2k_{PT}^0 t} \right), & n_0^{PT}(t) &= \frac{n}{2} \left(1 - e^{-2k_{PT}^0 t} \right), \\ n_1^0(t) &= \frac{n}{2} \left(1 + e^{-2k_{PT}^1 t} \right), & n_1^{PT}(t) &= \frac{n}{2} \left(1 - e^{-2k_{PT}^1 t} \right). \end{aligned} \quad (5.27)$$

Wstawiając powyższe rozwiązania do wyrażeń na $r_t(t)$ dla różnych długości fali można tym ostatnim nadać wspólną strukturę,

$$r_t(t) = a \left[(r_0^0 - r_\infty^0) e^{-2k_{PT}^0 t} + r_\infty^0 \right] + (1 - a) \left[(r_0^1 - r_\infty^1) e^{-2k_{PT}^1 t} + r_\infty^1 \right], \quad (5.28)$$

z której łatwo już odczytać charakter zmian: kinetyki anizotropii są sumą dwóch zaników wykładniczych odzwierciedlających szybkość tautomerizacji w stanach S_1 i S_0 . Każdy z nich zmienia anizotropię od początkowej wartości, odpowiednio, r_0^1 lub r_0^0 do wartości asymptotycznej r_∞^1 lub r_∞^0 , a ich wzajemny udział opisuje parametr a , zależny od przekrojów czynnych na procesy absorpcji i emisji wymuszonej przy danej długości fali. Wyjątkiem jest kinetyka dla 450 nm, która zawiera wkład wyłącznie od stanu wzbudzonego ($a = 0$). Wartości parametrów występujących we wzorze 5.28 zebrane są w Tabeli 5.5, gdzie wielkości zależne od α zostały obliczone przy założeniu $\alpha = 72^\circ$.

Tabela 5.5: Wartości parametrów w równaniu 5.28 dla różnych długości fali impulsów wzbudzających i próbkujących.

Dł. fali wzbudzenia	Dł. fali próbkowania	r_0^1	r_∞^1	r_0^0	r_∞^0
630 nm	450 nm	r_{1n}	$\frac{1}{2}(r_{1n} + r_{1n}^{PT})$	-	-
	555 nm	r_{1n}	$\frac{1}{2}(r_{1n} + r_{1n}^{PT})$	r_2	$\frac{1}{2}(r_2 + r_2^{PT})$
	595 nm			-0.2	0.07
	630 nm	r_1 0.4	$\frac{1}{2}(r_1 + r_1^{PT})$ 0.13	r_1 0.4	$\frac{1}{2}(r_1 + r_1^{PT})$ 0.13
555 nm	450 nm	r_{2n}	$\frac{1}{2}(r_{2n} + r_{2n}^{PT})$	-	-
	550 nm	r_{2n}	$\frac{1}{2}(r_{2n} + r_{2n}^{PT})$	r_1	$\frac{1}{2}(r_1 + r_1^{PT})$
	595 nm			0.4	0.13
	630 nm	r_2 -0.2	$\frac{1}{2}(r_2 + r_2^{PT})$ 0.07	r_2 -0.2	$\frac{1}{2}(r_2 + r_2^{PT})$ 0.07

Porównując oczekiwane zmiany anizotropii ze zmierzonymi, pokazanymi na Rys. 5.10 widać dobrą zgodność jakościową. Zmiany anizotropii zachodzą w dwóch skalach czasowych — krótkiej, bowiem po kilku ps anizotropia na wszystkich długościach fali przestaje się gwałtownie zmieniać — i długiej, bo końcowa wartość anizotropii jest osiągana dopiero po ok. 100 ps. Charakter tych zmian pozwala utożsamiać szybszy proces z przeniesieniem protonu, a wolniejszy - z dyfuzją rotacyjną. To drugie przypisanie wymaga jeszcze wprowadzić weryfikacji, bo anizotropia po długim czasie nie spada do zera, ale potwierdzają je opisane dalej doświadczenia jednokolorowe, w których wartości anizotropii wyznaczone są poprawnie.

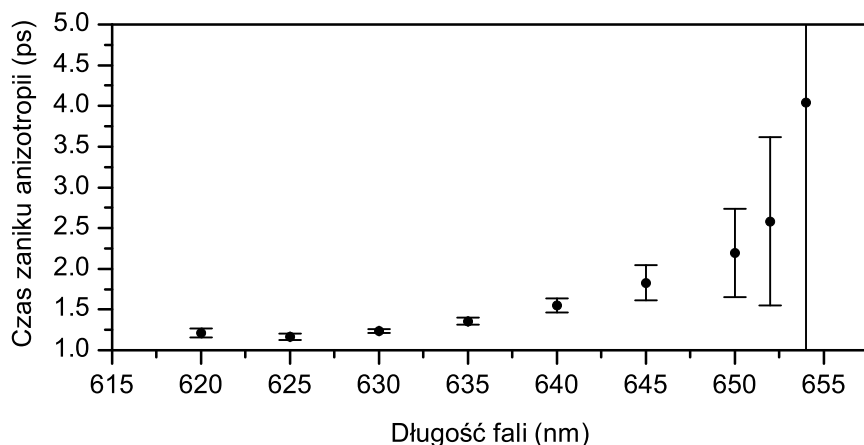
Po wzbudzeniu do stanu S_1 anizotropia wybielania w pasmie absorpcji $S_2 \leftarrow S_0$ (555 nm i 595 nm) jest początkowo ujemna i rośnie, a po wzbudzeniu do stanu S_2 — przeciwnie — anizotropia w pasmie $S_2 \leftarrow S_0$ jest dodatnia i maleje, a anizotropia wybielania w pasmach absorpcji $S_1 \leftarrow S_0$ i emisji wymuszonej jest ujemna i rośnie. Trzeba niestety zrezygnować ze sprawdzenia zgodności ilościowej dla 555 nm i 595 nm, bo nieznane są przekroje czynne na absorpcję z S_1 do wyższych stanów wzbudzonych, $S_n \leftarrow S_1$.

Na długości fali 450 nm absorpcja może zachodzić do kilku nakładających się pasm odpowiadających różnym wysoko wzbudzonym stanom elektronowym, dlatego trudno powiedzieć, jaki powinien być kierunek odpowiadającego jej momentu przejścia. Na podstawie zmian w czasie od 0.12 do ok. 0.07 po wzbudzeniu do stanu S_1 można oszacować, że wypadkowy kierunek momentu przejścia $S_n \leftarrow S_1$ dla tej długości fali tworzy z kierunkiem momentu przejścia $S_1 \leftarrow S_0$ kąt $30^\circ - 60^\circ$, mierzony w tym samym kierunku co kąt α .

Dopasowanie zaniku wykładniczego do kinetyki anizotropii dla 450 nm przy długości fali wzbudzenia 630 nm daje też wstępne oszacowanie czasu przeniesienia protonów w stanie S_1 : $\tau_{PT}^1 = 1/k_{PT}^1 = (13 \pm 6)$ ps. Kinetyka przy tej samej długości fali zmierzona dla wzbudzenia światłem o dł. fali 555 nm jest silnie zaburzona wpływem relaksacji ze stanu S_2 do stanu S_1 i wykazuje dużo szybszą zmianę, z charakterystycznym czasem ok. 1 ps, który zgadza się z wyznaczonym wcześniej czasem relaksacji $S_2 \rightsquigarrow S_1$.

Warto jeszcze bliżej przyjrzeć się kinetykom anizotropii w okolicy 630 nm, gdzie są one złożeniem zaników wykładniczych odzwierciedlających tautomeryzację w stanie wzbudzonym i podstawowym, przy czym im większa długość fali, tym większy jest udział tego pierwszego. Ponieważ na podstawie doświadczeń, w których zmierzono rozszczepienia tunelowe można się spodziewać, że tautomeryzacja przebiega szybciej w stanie podstawowym niż wzbudzonym, to wraz ze wzrostem długości fali wypadkowa zmiana anizotropii w czasie powinna być coraz wolniejsza. Można to sprawdzić, dopasowując do kinetyk anizotropii w zakresie 620-650 nm funkcje jednowykładnicze, ponieważ duży poziom szumów nie pozwala rozłożyć kinetyk w tym zakresie spektralnym na dwa różne zaniki. Wartości otrzymanych w ten sposób czasów zaniku anizotropii dla różnych długości fali (Rys. 5.11) potwierdzają przypuszczenie, że szybkość tautomeryzacji jest większa w stanie podstawowym.

Opisane powyżej doświadczenie, w którym absorpcja przejściowa próbkowana była szerokopasmowo, impulsami superkontinuum, pozwoliło przede wszystkim przekonać się, że pomiar anizotropii absorpcji przejściowej jest właściwym narzę-

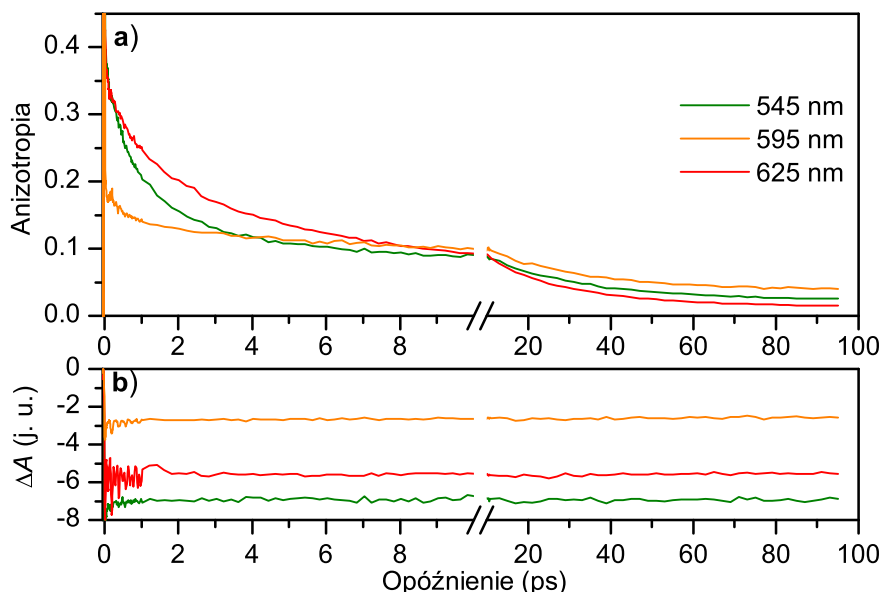


Rysunek 5.11: Czasy zaniku anizotropii w obszarze widma, gdzie nakładają się pasma absorpcji do stanu S_1 i emisji wymuszonej

dziem do śledzenia podwójnego przeniesienia atomów wodoru w stanie podstawowym i wzbudzonym porficyny, ponieważ obserwowane zmiany anizotropii zgodne są z oczekiwanymi przejawami tautomeryzacji. Z jego rezultatów można jednak tylko w przybliżeniu oszacować czas tej reakcji na kilka-kilkanaście pikosekund w stanie wzbudzonym i stwierdzić, że przebiega ona szybciej w stanie podstawowym. Duży poziom szumów i nakładanie się różnych pasm absorpcji uniemożliwia jednak dokładne wyznaczenie szybkości tautomeryzacji.

5.5 Pomiary szybkości tautomeryzacji porficyny

Duży lepszy stosunek sygnału do szumu w pomiarach anizotropii można uzyskać próbując absorpcję za pomocą impulsów quasi-monochromatycznych, wytwarzanych wprost przez układ laserowy, a nie w procesie generacji superkontinuum. Impulsy takie mają o wiele stabilniejsze widmo i energię niż impulsy światła białego, dzięki czemu poziom szumów jest znacznie mniejszy niż omawianym dotychczas eksperymencie. Optymalnym rozwiązaniem byłoby próbkowanie absorpcji przy długościach fali odpowiadających absorpcji $S_1 \leftarrow S_0$, $S_2 \leftarrow S_0$ i $S_n \leftarrow S_1$ po wzbudzeniu do stanu S_1 . Wymagałoby to jednak użycia dwóch źródeł przestrajalnych impulsów femtosekundowych, z których jedno dostarczałoby impulsów wzbudzających cząsteczki do stanu S_1 , drugie natomiast byłoby źródłem impulsów sondujących. Niestety podczas opisywanych doświadczeń do dyspozycji był tylko jeden układ typu NOPA, co oznaczało, że impulsy pompujące i sondujące musiały



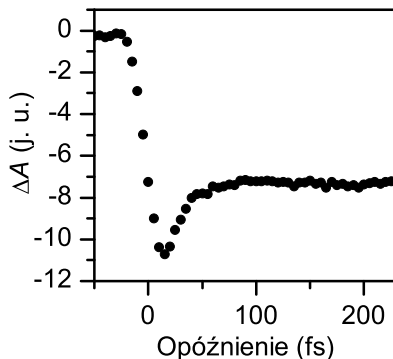
Rysunek 5.12: a) Zaniki anizotropii absorpcji przejściowej porficyny w acetonitrylu w temp. pokojowej. b) Zmiany absorpcji przejściowej porficyny w acetonitrylu odpowiadające kątowi magicznemu pomiędzy polaryzacjami wiązek pompującej i sondującej.

mieć identyczne widmo.

Nie uniemożliwia to badania tautomeryzacji, gdyż wykorzystując impulsy próbkujące i pompujące o tej samej długości fali można, po wzbudzeniu do stanu S_1 (630 nm), monitorować zmiany anizotropii wynikające z absorpcji $S_1 \leftarrow S_0$ i emisji wymuszonej $S_1 \rightarrow S_0$, co pozwala wyznaczyć szybkość reakcji zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym. Wymaga to jednak wyznaczenia dwóch czasów zaniku z jednej krzywej, nawet przy pominięciu efektów wynikających z dyfuzji rotacyjnej, a ich uwzględnienie sprawia, że liczba nieznanych czasów zaniku, które są parametrami dopasowania rośnie do 3. W tej sytuacji wiarygodne i jednoznaczne dopasowanie staje się bardzo trudne i warto wykorzystać fakt, że relaksacja ze stanu S_2 jest bardzo szybka i już po kilkuset fs populacja cząsteczek w stanie S_2 spada do zera. Zatem po wzbudzeniu cząsteczek do stanu S_2 zmiany anizotropii obserwowane na tej samej długości fali po kilkuset fs wynikają z absorpcji $S_2 \leftarrow S_0$ i $S_n \leftarrow S_1$ i są również kombinacją zaników odzwierciedlających tautomeryzację w stanach S_1 i S_0 . Ich wzajemny udział jest jednak inny niż po wzbudzeniu światłem o długości fali 630 nm. Ponieważ przekrój czynny na absorpcję ze stanu S_1 jest przy

długościach fali 550-590 nm wyraźnie mniejszy niż przekrój czynny na absorpcję ze stanu podstawowego do S_2 to zmiany anizotropii obserwowane w tym zakresie wynikają głównie z przeniesienia protonu w stanie podstawowym.

Na Rys. 5.12 (a) pokazane są krzywe zaniku anizotropii zmierzone w roztworze porficyny w acetonitrylu, w temp. pokojowej, przy trzech centralnych długościach fali impulsów, 545 nm, 595 nm i 625 nm, odpowiadających wzbudzeniu do każdego z trzech podpasm pasma absorpcji Q. Zgodnie z przewidywaniami poziom szumów jest o wiele mniejszy niż w metodzie opisaniej poprzednio. Początkowe wartości anizotropii są bliskie 0.4 dla impulsów o centralnej długości fali 545 nm i 625 nm, z czego można wywnioskować, że wkład absorpcji ze stanu wzbudzonego jest w obu przypadkach bardzo niewielki w porównaniu z sygnałem wybielania i wzmocnieniem w wyniku emisji wymuszonej. Potwierdzają to dodatkowo praktycznie płaskie krzywe opisujące zmiany absorpcji przejściowej w czasie (Rys. 5.12

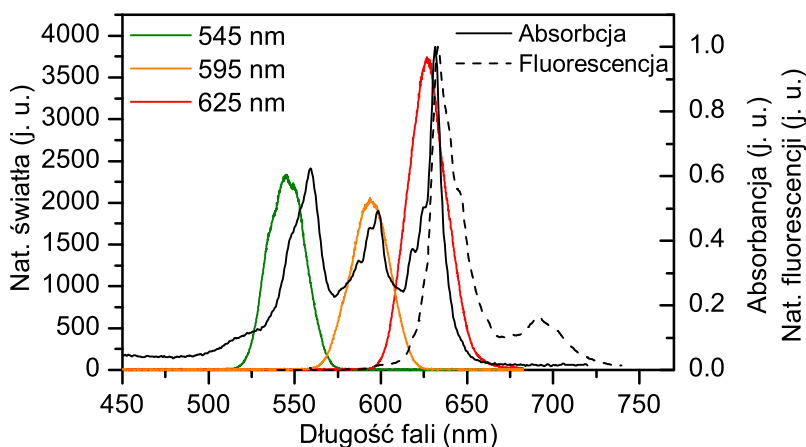


Rysunek 5.13: Szybki zanik wzmocnienia obserwowany dla PC w ACN po wzbudzeniu cząsteczek impulsami laserowymi o centralnej długości fali 550 nm.

(b)), w których nie widać przejawów relaksacji $S_2 \rightsquigarrow S_1$ zachodzącej z wyznaczonym w Rozdziale 5.3 czasem charakterystycznym 0.75 ps. Upraszcza to analizę kinetyk anizotropii, zwłaszcza otrzymanych po wzbudzeniu do stanu S_2 , bo redukuje do zanedbywalnego poziomu wpływ relaksacji $S_2 \rightsquigarrow S_1$ na zmiany anizotropii. W czasie pierwszych pikosekund można za to zauważyć szybkie zmiany absorpcji, które nie są szumem, a rezultatem spójnego wzbudzenia stanów oscylacyjnych o niskiej energii (zostaną one omówione w Rozdziale 5.8), a także bardzo szybki zanik wzmocnienia w pomiarach wykorzystujących impulsy laserowe o centralnej długości fali wynoszącej 545 nm (Rys. 5.13). Jest to dowodem bardzo szybkiego opróżnienia gorących stanów oscylacyjnych stanu S_2 i oznacza, że wewnątrzcząsteczkowa redystrybucja energii oscylacyjnej zachodzi w czasie krótszym niż 100 fs.

Znacznie mniejsza od 0.4 początkowa wartość anizotropii mierzonej za pomocą impulsów o centralnej długości fali 595 nm wynika z tego, że widmo impulsów objęło w tym wypadku oprócz pasma absorpcji do stanu S_2 również fragment pasma absorpcji do stanu S_1 (Rys. 5.14). Zatem jednocześnie wzbudzone były stany S_1 i S_2 , wskutek czego wybielanie było rezultatem zmniejszenia absorpcji do obu tych stanów i z obu zachodziła emisja wymuszona. Komplikuje to niepotrzebnie analizę kinetyk anizotropii, więc najlepszym sposobem na uzyskanie dwóch krzywych w różnym stopniu odzwierciedlających dynamikę tautomerizacji w stanach S_0 i S_1 jest pomiar za pomocą impulsów o centralnych długościach fali bliskich 625 nm i 550 nm.

Anizotropia mierzona przy dowolnej długości fali spada po kilkudziesięciu pikosekundach poniżej oczekiwanej wartości granicznej, 0.13. Wzory wyprowadzone w poprzednim rozdziale uwzględniają dyfuzję rotacyjną jako niezależny od tau-

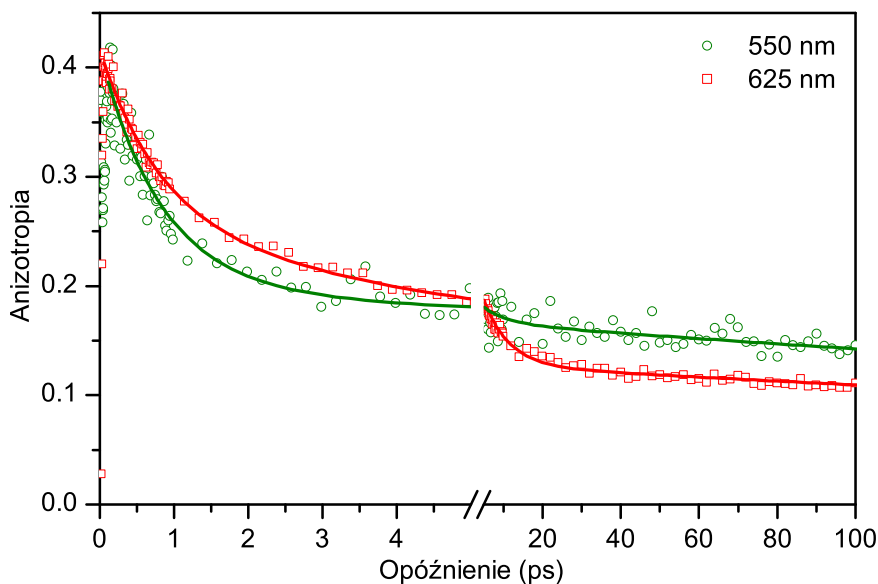


Rysunek 5.14: Widma impulsów generowanych przez układ laserowy podczas pomiarów, których wyniki pokazane są na Rys. 5.12 porównane z widmami absorpcji i fluorescencji porficyny

tomeryzacji mechanizm prowadzący do zmniejszenia anizotropii, jednak nie jest to jedyna możliwa przyczyna. W warunkach tego doświadczenia zanik anizotropii mógłby być również powodowany przez międzycząsteczkowy transfer energii. By stwierdzić, który z tych mechanizmów jest w rzeczywistości odpowiedzialny za obserwowany efekt wystarczyło zmierzyć kinetyki anizotropii przy różnych stężeniach i w rozpuszczalnikach o różnej lepkości.

Ponieważ otrzymane krzywe są bardzo podobne dla roztworów o stężeniach różniących się o rząd wielkości (w zakresie stężeń wykorzystywanych w pomiarach), natomiast wykazują bardzo silną zależność od lepkości rozpuszczalnika, można przyjąć, że jedynym efektem wpływającym na kinetyki anizotropii w stopniu porównywalnym tautomeryzacją jest dyfuzja rotacyjna. W glikolu etylenowym, rozpuszczalniku o największej lepkości spośród zastosowanych, rotacja cząsteczek jest spowolniona do tego stopnia, że w ciągu kilkudziesięciu pikosekund anizotropia osiąga wartości bliskie 0.13, po czym znacznie wolniej maleje (Rys. 5.15). Ułatwia to dopasowanie krzywych teoretycznych i podnosi jego wiarygodność, dlatego w kolejnych pomiarach glikol etylenowy wykorzystywany był jako rozpuszczalnik, o ile było to możliwe.

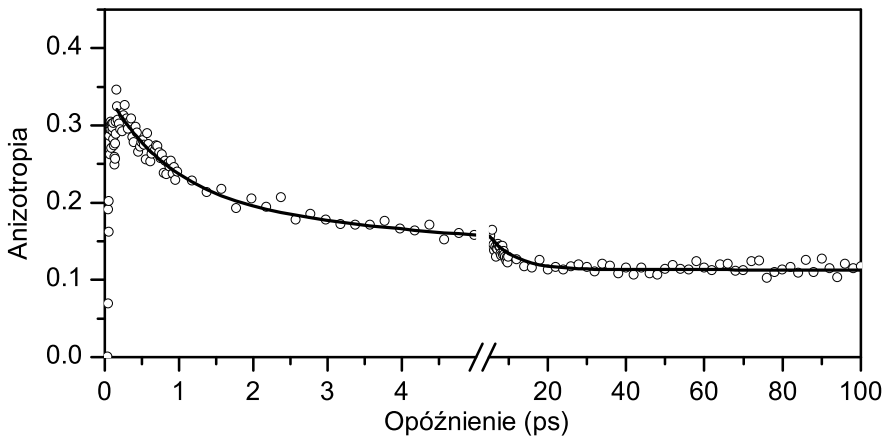
Stałe szybkości tautomeryzacji wyznaczono dopasowując do krzywych doświadczalnych $r(t)$ funkcje o postaci danej wzorami 5.21 i 5.28. W ogólnym przypadku analizy kinetyk anizotropii lepsze rezultaty daje dopasowanie najpierw zaniku fluorescencji lub absorpcji przejściowej dla kąta magicznego, a następnie dopasowanie zaników odpowiedniej wielkości mierzonej przy równoległej i prostopadłej polaryza-



Rysunek 5.15: Zaniki anizotropii absorpcji przejściowej zmierzone w roztworze porficyny w glikolu etylenowym w temp. pokojowej

cji do wzbudzenia, przy zadanym czasie życia fluorescencji (czasie zaniku absorpcji) wyznaczonym w poprzednim kroku.³⁶ Tutaj jednak absorpcja mierzona przy kącie magicznym jest praktycznie stała i sprawdzono, że opisana wyżej procedura nie ma dużej przewagi nad dopasowaniem funkcji wprost do wyznaczonych doświadczalnie wartości anizotropii.

To i następne dopasowania o analogicznym charakterze przeprowadzone zostały w programie Microcal Origin przy użyciu wbudowanego w program algorytmu dopasowania (Levenberg-Marquardt). Narzucone więzy wymuszają, by wartości stałych szybkości reakcji w stanie podstawowym i wzbudzonym były jednakowe dla obu krzywych, podobnie jak czas korelacji rotacyjnej. Pomimo tego minimum funkcji χ^2 odpowiadające optymalnemu dopasowaniu jest płytke i porównywalne z minimami lokalnymi odpowiadającymi innej kombinacji parametrów. Dlatego możliwe jest uzyskanie kilku zestawów parametrów, z których wszystkie mieszczą się w granicach narzuconych przez ich fizyczną interpretację i nie można stwierdzić, który z nich spełnia warunki najlepszego dopasowania. Nie stanowi to na szczęście dużego problemu z punktu widzenia badania procesu tautomerizacji, bo we wszystkich zestawach stałe szybkości są zbliżone i zgodne ze sobą w granicach obliczonych niepewności. Nie można jednak wiarygodnie wyznaczyć innych parametrów



Rysunek 5.16: Zanik anizotropii absorpcji przejściowej dla porficyny w matrycy polichlorku winylu zmierzone przy centralnej długości fali impulsów pompujących i sondujących równej 625 nm. Krzywa obrazuje funkcję dopasowaną przy założeniu, że czasy przeniesienia protonów są takie same jak wyznaczone w pomiarze porficyny rozpuszczonej w glikolu, a rotacja cząsteczek jest całkowicie uniemożliwiona.

występujących w dopasowywanej funkcji.

W rezultacie dopasowania krzywych teoretycznych (linie ciągłe na Rys. 5.15) do zmierzonych kinetyk anizotropii (punkty na tym samym rysunku) otrzymano następujące wartości czasów i stałych szybkości tautomeryzacji:

$$\tau_{PT}^0 = (1.7 \pm 0.1) \text{ ps} \quad , \quad k_{PT}^0 = (5.8 \pm 0.3) \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}$$

$$\tau_{PT}^1 = (13.5 \pm 1.6) \text{ ps} \quad , \quad k_{PT}^1 = (7.4 \pm 0.9) \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1}$$

By sprawdzić, czy rzeczywiście wpływ dyfuzji rotacyjnej można opisać w badanym przypadku za pomocą jednego czasu korelacji rotacyjnej i wyznaczone czasy nie są zafałszowane wykonano także pomiar anizotropii absorpcji przejściowej dla porficyny w matrycy polichlorku winylu (w postaci płytki o grubości 2 mm). W takiej próbce rotacja cząsteczek jest niemożliwa i mierzona kinetyka anizotropii powinna wynikać wyłącznie z tautomeryzacji. Wynik pomiaru wykonanego przy centralnej długości fali impulsów pompujących i sondujących równej 625 nm pokazany jest na Rys. 5.16. Zgodnie z oczekiwaniem anizotropia po kilkudziesięciu pikosekundach stabilizuje się i nie ulega nawet niewielkim zmianom.

Jakość optyczna próbki i jej degradacja w wyniku naświetlania wiązką pompującą przez czas dłuższy niż kilkanaście minut uniemożliwiły wykonanie dla niej

większej liczby pomiarów, w szczególności pomiarów przy długości fali 550 nm, gdzie absorpcja jest mniejsza, a co za tym idzie - mierzony sygnał jest słabszy. Dlatego doświadczenie wykonane z porficyną w matrycy polichloru winylu musi być traktowane jedynie jako pomiar kontrolny, pozwalający sprawdzić wiarygodność wyników otrzymanych dla porficyny rozpuszczonej w glikolu. Najlepsze dopasowanie krzywej prowadzi do uzyskania czasów przeniesienia protonów równych $\tau_{PT}^0 = (1.5 \pm 0.2)$ ps i $\tau_{PT}^1 = (9.4 \pm 1.0)$ ps. Wartości te są mniejsze niż dla porficyny w glikolu, jednak wynika to z dopasowania do jednej tylko krzywej, bowiem wymuszenie czasów przeniesienia protonów takich jak w poprzednim przypadku ($\tau_{PT}^0 = 1.7$ ps, $\tau_{PT}^1 = 13.5$ ps) prowadzi do równie dobrego dopasowania (krzywa ciągła na Rys. 5.16). Oznacza to, że rotacja dyfuzyjna jest poprawnie uwzględniona podczas dopasowywania funkcji, a jej obecność w niewielkim stopniu wpływa na wyznaczone wartości stałych szybkości tautomeryzacji.

Zgodnie z przewidywaniami opartymi na pomiarach rozszczepień tunelowych tautomeryzacja w stanie podstawowym przebiega kilka razy szybciej niż w stanie wzbudzonym, a jej szybkość jest o wiele rzędów wielkości większa niż zmierzona w kryształach metodami NMR. Szybkość reakcji w stanie wzbudzonym jest zgodna z wartością otrzymaną w pomiarach wykorzystujących impulsy superkontinuum do próbkowania zmian absorpcji, jednak niepewność wyników doświadczenia z impulsami quasi-monochromatycznymi jest istotnie mniejsza. Bezpośrednie porównanie z innymi wynikami pomiarów metodami optycznymi — pomiarami anizotropii fluorescencji⁷⁹ — jest jednak niemożliwe, bo w temperaturach powyżej 200 K fluorescencja obserwowana w opisanym doświadczeniu⁷⁹ jest już na tyle zdepolaryzowana, że anizotropia zbliża się do wartości asymptotycznej 0.13 i nawet niewielkie błędy pomiaru anizotropii powodują duże błędy wyznaczonej na tej podstawie stałej szybkości. Dlatego metodą tą wyznaczono szybkość reakcji w stanie wzbudzonym dla temperatur mniejszych od 200 K i porównanie wyników doświadczeń czasowo-rozdzielczych z wynikami pomiarów anizotropii fluorescencji stacjonarnej wymagałoby znacznego obniżenia temperatury badanego roztworu. Jest to wykonalne, gdyż zbudowany do pomiarów anizotropii absorpcji przejściowej układ pozwala na umieszczenie kuwety w kriostacie i zastosowanie rozpuszczalnika, który w niskich temperaturach tworzy szkliwo o dobrych własnościach optycznych, niestety podczas wykonywania opisywanych doświadczeń odpowiedni kriostat nie był dostępny. Z tego powodu pomiary w temperaturach innych niż pokojowa przeprowadzone zostały jedynie w zakresie osiągalnym za pomocą termoelektrycznego układu chłodzącego kuwetę i najniższa uzyskana temperatura to zaledwie -22°C . Czasy przeniesienia atomów wodoru i wartości stałej szybkości tautomeryzacji dla kilku temperatur z przedziału od -22°C do 21°C zebrane są w Tabeli 5.6.

Pomimo znaczących niepewności pomiarowych widać tendencję do wzrostu szybkości reakcji ze wzrostem temperatury. Jest to typowe zjawisko i można je zwykle opisać równaniem Arrheniusa, wyrażającym zależność stałej szybkości reakcji k od temperatury T przy energii aktywacji reakcji E_a . Jeśli reakcja zachodzi tylko jedną ścieżką, to

$$k(T) = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right), \quad (5.29)$$

Tabela 5.6: Czasy przeniesienia atomów wodoru w stanie S_0 (τ_{PT}^0) i S_1 (τ_{PT}^1) oraz stałe szybkości tautomeryzacji (odpowiednio $k_{PT}^0 = 1/\tau_{PT}^0$ i $k_{PT}^1 = 1/\tau_{PT}^1$) wyznaczone dla roztworu porficyny w glikolu w różnych temperaturach.

T (°C)	τ_{PT}^0 (ps)	τ_{PT}^1 (ps)	k_{PT}^0 (10^{11} s^{-1})	k_{PT}^1 (10^{10} s^{-1})
-22	2.1 ± 0.2	18.5 ± 2.3	4.8 ± 0.4	5.4 ± 0.7
-15	2.5 ± 0.1	20.2 ± 2.0	4.1 ± 0.2	5.0 ± 0.5
0	1.8 ± 0.1	15.7 ± 0.9	5.7 ± 0.2	6.4 ± 0.3
15	1.9 ± 0.1	14.7 ± 2.2	5.2 ± 0.4	6.8 ± 1.0
21	1.7 ± 0.1	13.5 ± 1.6	5.8 ± 0.3	7.4 ± 0.9

gdzie A to stała charakterystyczna dla danej reakcji, a $R = 8.31 \frac{\text{J}}{\text{mol K}} = 1.99 \frac{\text{cal}}{\text{mol K}}$ to stała gazowa.

Łatwiej niż wykres $k(T)$ jest analizować wykres $\ln k(T^{-1})$ (wykres Arrheniusa), który, jak widać po zlogarytmowaniu stronami równania 5.29, powinien być liniowy*:

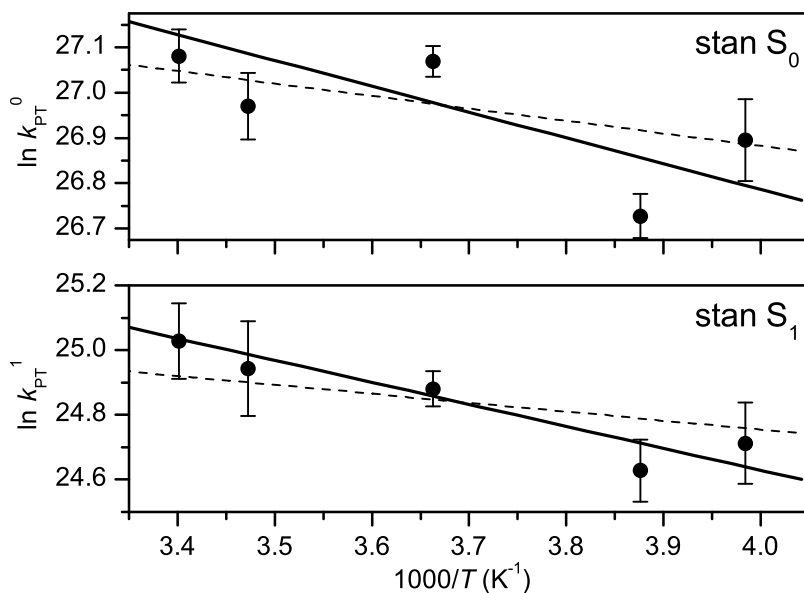
$$\ln k \left(\frac{1}{T} \right) = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T}. \quad (5.30)$$

Wykresy Arrheniusa dla stałych szybkości tautomeryzacji porficyny zmierzonych w opisanych powyżej doświadczeniach pokazane są na Rys. 5.17.

Przy istniejących niepewnościach pomiaru trudno jest w tak małym zakresie temperatur stwierdzić, czy punkty układają się na prostej, a jeżeli tak, to na jakiej. Mimo to warto pokusić się o dopasowanie prostych do punktów pomiarowych, by stwierdzić, czy otrzymane w ten sposób energie aktywacji są sensowne z punktu widzenia obecnej wiedzy na temat porficyny. Proste dopasowane metodą najmniejszych kwadratów są na Rys. 5.17 przedstawione liniami ciągłymi, a odpowiadające im energie aktywacji w stanie S_0 i S_1 są równe odpowiednio $E_a^0 = (1.13 \pm 0.26) \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$ i $E_a^1 = (1.6 \pm 0.5) \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$. Z jednej strony są to wartości mniejsze niż przewidywane na podstawie obliczeń teoretycznych (przypomnijmy: $\approx 6 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$), z drugiej natomiast większe niż energia aktywacji reakcji w stanie wzbudzonym wyznaczona z pomiarów anizotropii fluorescencji⁷⁹ i zgadzająca się doskonale z energią drgania promującego reakcję: $0.55 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$. Duży rozrzut punktów i ich niepewności sprawiają jednak, że ta ostatnia wartość nie jest sprzeczna z wynikami pomiarów czasowo-rozdzielczych. Linie przerywane na Rys. 5.17 przedstawiają proste dopasowane przy założeniu, że energia aktywacji jest równa $0.55 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$ i jak widać nie wybiegają one poza obszar niepewności pomiarowych.

Naturalnym kolejnym krokiem analizy omawianych wyników jest więc sprawdzenie, czy układają się one na jednej prostej z wynikami pomiarów anizotropii fluorescencji. Na Rys. 5.18 umieszczono punkty reprezentujące wyniki pomiarów anizotropii absorpcji przejściowej i cztery wybrane punkty pochodzące z pracy.⁷⁹

* k i A są wielkościami mianowanymi, tradycyjnie jednak przyjęto, że w równaniu Arrheniusa wyrażane są w s^{-1} i jednostkę tę pomija się przy logarytmowaniu

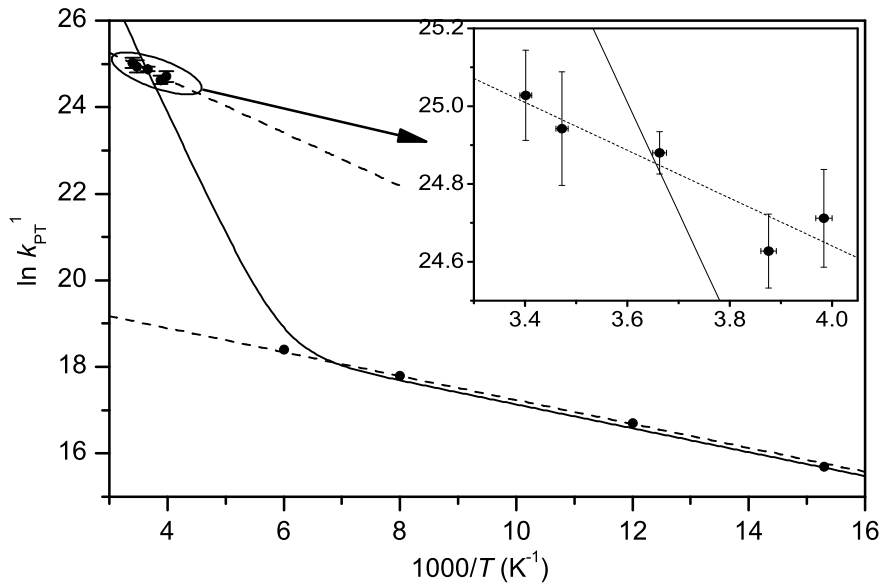


Rysunek 5.17: Wykresy Arrheniusa dla stałych szybkości przeniesienia protonu w porficynie w stanach S_0 (a) i S_1 (b). Linia ciągła obrazuje najlepsze dopasowanie równania Arrheniusa, natomiast linia przerywana — dopasowanie przy ustalonej energii aktywacji równej 0.55 $\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$, wyznaczonej na podstawie pomiarów anizotropii fluorescencji stacjonarnej.⁷⁹

Nie ulega wątpliwości, że oba zestawy danych nie leżą na jednej prostej*. Nie jest to jednak zaskakujące, bowiem dopuszczamy dwa mechanizmy tautomerizacji porficyny: poprzez tunelowanie i klasyczny, nad barierą potencjału. Liniowy, lecz nie poziomy wykres Arrheniusa dla niskich temperatur oznacza, że tunelowanie zachodzi przede wszystkim z aktywowanego termicznie oscylacyjnego stanu wzbudzonego, natomiast udział tunelowania z oscylacyjnego stanu podstawowego jest zanedbywalny. W takiej sytuacji obserwowana stała szybkości reakcji k_{PT} jest sumą stałych szybkości tunelowania $k_t^\dagger$ i reakcji klasycznej k_k , a każda ścieżka ma

*Należy tu zauważyć, że bardzo dużej różnicy stałych szybkości mierzonych w temperaturach poniżej 200 K i w okolicy 273 K nie można wyjaśnić tym, że w przeprowadzonych doświadczeniach cząsteczki znajdowały się w różnych środowiskach — ciekłym glikolu etylenowym i stałym polichloroku winylu, gdyż kinetyki anizotropii absorpcji przejściowej zmierzone w próbce porficyny w polichloroku winylu nie odbiegają od kinetyk zarejestrowanych dla porficyny w glikolu (Rys. 5.15 i 5.16).

[†]Oddziaływanie cząsteczek z otoczeniem w roztworze prowadzi do bardzo szybkiej utraty koherencji funkcji falowych opisujących stan protonów w podwójnej studni potencjału. W rezultacie tunelowanie nie prowadzi do oscylacji funkcji falowej, lecz do wyrównania populacji cząsteczek



Rysunek 5.18: Wykres Arrheniusa dla stałej szybkości przeniesienia protonu w stanie S_1 uwzględniający wyniki pomiarów anizotropii absorpcji przejściowej (pięć wyższych punktów i wstawka) i fluorescencji stacjonarnej⁷⁹ (cztery najniższe punkty). Linia ciągła jest dopasowana przy założeniu dwóch równoległych mechanizmów reakcji: poprzez tunelowanie i nad barierą.

inną energię aktywacji, odpowiednio E_t i E_k :

$$k_{PT}(T) = k_t + k_k = A_t \exp\left(-\frac{E_t}{RT}\right) + A_k \exp\left(-\frac{E_k}{RT}\right). \quad (5.31)$$

Funkcja otrzymana po zlogarytmowaniu równania 5.31,

$$\ln k_{PT} \left(\frac{1}{T} \right) = \ln \left[A_t \exp\left(-\frac{E_t}{RT}\right) + A_k \exp\left(-\frac{E_k}{RT}\right) \right], \quad (5.32)$$

została dopasowana do pokazanych na Rys. 5.18 punktów, przy założeniu, że $E_t = 0.55 \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$. Otrzymana w wyniku dopasowania krzywa jest narysowana na Rys. 5.18 linią ciągłą, a wyznaczona energia aktywacji reakcji nad barierą jest równa $E_k =$

o protonach zlokalizowanych w jednym i drugim minimum. Proces ten można opisać za pomocą stałej szybkości, tak jak reakcję klasyczną.

$(5.6 \pm 0.9) \frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$. Wartość ta zgadza się bardzo dobrze z obliczeniami teoretycznymi i gdyby można było przyjąć, że dopasowanie jest spójne z połączonymi wynikami obu doświadczeń wyjaśniłaby się dotychczasowa niezgodność obliczeń przewidujących wysoką barierę potencjału dla reakcji *trans-trans* z eksperymentami wskazującymi na niewielką energię aktywacji. Jednak nachylenie dopasowanej krzywej jest w obszarze temperatur wokół 0°C o wiele większe niż nachylenie prostej dopasowanej do wyników pomiarów czasowo-rozdzielczych. Nawet uwzględniając duże niepewności pomiarowe nachylenia te nie są zgodne ze sobą w przedziale trzech odchyłen standardowych.

Zgodnie z regułami statystycznej analizy niepewności pomiarowych należy więc stwierdzić, że najprostszy model, w którym istnieją dwie ścieżki tautomeryzacji, klasyczna i poprzez tunelowanie, nie jest zgodny z wynikami pomiarów. Trudno jednak go całkowicie odrzucić, gdyż wynikająca z niego energia aktywacji reakcji klasycznej jest zgodna z przewidywaniami. Należy się raczej spodziewać, że powinien on zostać uzupełniony o dodatkowe, bardziej złożone, mechanizmy reakcji. Krzywa, którą można poprowadzić przez oba zestawy punktów pomiarowych na Rys. 5.18 musi mieć punkt przegięcia i duże nachylenie w obszarze pomiędzy 1/200 K a 1/273 K oraz mniejsze nachylenie poza nim. Oznacza to, że powyżej pewnej temperatury tempo wzrostu szybkości reakcji ze wzrostem temperatury musi spaść. Takiego zachowania nie można wyjaśnić modelem, w którym reakcja przebiega kilkoma równoległymi ścieżkami prowadzącymi wprost od substratu do produktu, bo wówczas tempo reakcji rośnie coraz szybciej, gdy temperatura podnosi się. Konieczne jest więc założenie, że istnieje pewien aktywowany termicznie mechanizm, który hamuje tautomeryzację. Analogicznie do drgania promującego przeniesienie protonów taką rolę mogłoby pełnić drganie zwiększające wzajemną odległość atomów azotu, w którym poruszają się one w przybliżeniu prostopadle do prostej łączącej ich położenia spoczynkowe.

Obecnie brak jednak dowodów potwierdzających powyższą hipotezę, a problem wyjaśnienia złożonej zależności szybkości tautomeryzacji porficyny w stanie wzbudzonym od temperatury pozostaje otwarty. Do jego rozwiązania niezbędne wydają się być pomiary stałych szybkości reakcji przeprowadzone w szerszym zakresie temperatur, przynajmniej od 200 K do 273 K. Opisane tu wstępne rezultaty wskazują, że energia aktywacji reakcji przebiegającej klasyczną ścieżką może być zgodna z dotychczasowymi obliczeniami, a jednocześnie że mechanizm reakcji może być bardziej złożony niż się przyjmuje.

5.6 Szybkość tautomeryzacji pochodnych porficyny

Pomiary anizotropii absorpcji przejściowej pochodnych porficyny zostały wykonane w takich samych warunkach doświadczalnych jak opisane wcześniej pomiary porficyny. Jako podstawowego rozpuszczalnika użyto również glikolu etylenowego, jednak ze względu na jego słabą zdolność rozpuszczania porficyn i niewielką rozpuszczalność niektórych pochodnych roztwory nie były wykonywane poprzez rozpuszczanie badanych związków bezpośrednio w glikolu. Żeby ułatwić i przyspieszyć wykonywanie roztworów do pomiarów czasowo-rozdzielczych najpierw zostały

wykonane roztwory nasycone w alkoholu metylowym, który jest o wiele lepszym rozpuszczalnikiem dla porficyn, a następnie niewielka ilość tych roztworów była dodawana do czystego glikolu, by uzyskać próbkę o dostatecznej absorbancji. W przypadku TTPC i OEPC oznaczało to dodanie 1 części roztworu nasyconego w alkoholu do 5-8 części glikolu, natomiast dla PCRC i CMPC proporcja ta wynosiła 1:3 do 1:2. Z tego względu lepkość roztworów PCRC i CMPC była zdecydowanie mniejsza niż pozostałych próbek. Rotacja alkilo-pochodnych porficyny jest jednak silnie powstrzymywana przez grupy alkilowe o dużych rozmiarach, które działają jak „kotwice” i nawet w takiej mieszaninie alkoholu metylowego i glikolu nie prowadzi do znacznego spadku anizotropii w obserwowanym zakresie opóźnień pomiędzy impulsami pompującymi i sondującymi.

Tam, gdzie było to możliwe pomiary zostały wykonane dla dwóch długości fali - odpowiadającej wzbudzeniu do stanu S_1 (zakres widma odpowiadający barwie czerwonej) i do wyższego podpasma absorpcji do stanu S_2 (zielona barwa światła).

Spośród czterech zbadanych pochodnych porficyny wymienionych w rozdziale 5.2 największe podobieństwo do macierzystej cząsteczki, zarówno pod względem przesunięć chemicznych wewnątrzwęglowych atomów wodoru, odległości pomiędzy atomami azotu jak i własności spektroskopowych wykazuje TTPC. Tautomeryzacja w tej cząsteczce przebiega nieco ponad dwukrotnie szybciej niż w PC, a jej wpływ na kinetykę anizotropii jest analogiczny jak w PC (Rys. 5.19(a)). Anizotropia po wzbudzeniu do stanu S_2 zanika szybciej niż po wzbudzeniu do stanu S_1 , a dla obu pomiarów stabilizuje się po kilkunastu pikosekundach w okolicy wartości 0.13. Czas życia stanu wzbudzonego jest o wiele dłuższy niż zakres opóźnień, dla których wykonano pomiary i — podobnie jak w przypadku PC — obserwowane zmiany absorpcji przejściowej dla kąta magicznego są niewielkie (Rys. 5.19 (b)).

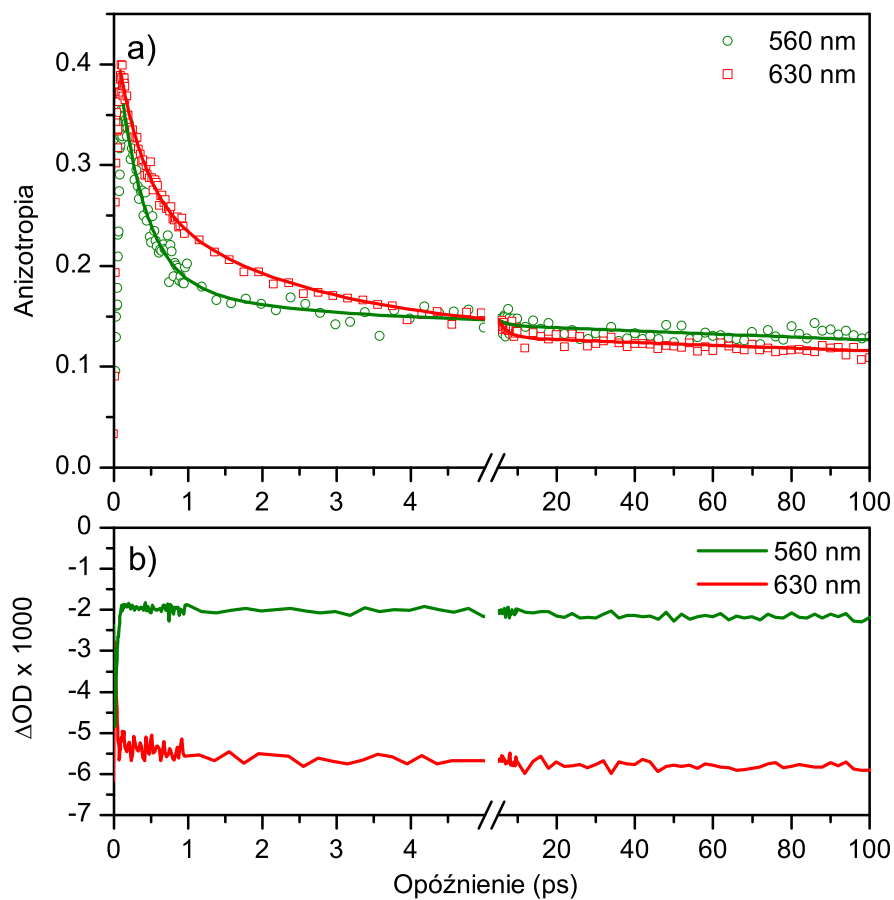
Analiza identyczna jak opisana wcześniej dla PC prowadzi do wyznaczenia następujących czasów przeniesienia atomów wodoru i stałych szybkości tautomeryzacji w TTPC:

$$\begin{aligned}\tau_{PT}^0 &= (.73 \pm 0.04) \text{ ps} \quad , \quad k_{PT}^0 = (13.7 \pm 0.8) \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}, \\ \tau_{PT}^1 &= (4.9 \pm 0.3) \text{ ps} \quad , \quad k_{PT}^1 = (2.0 \pm 0.1) \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}\end{aligned}$$

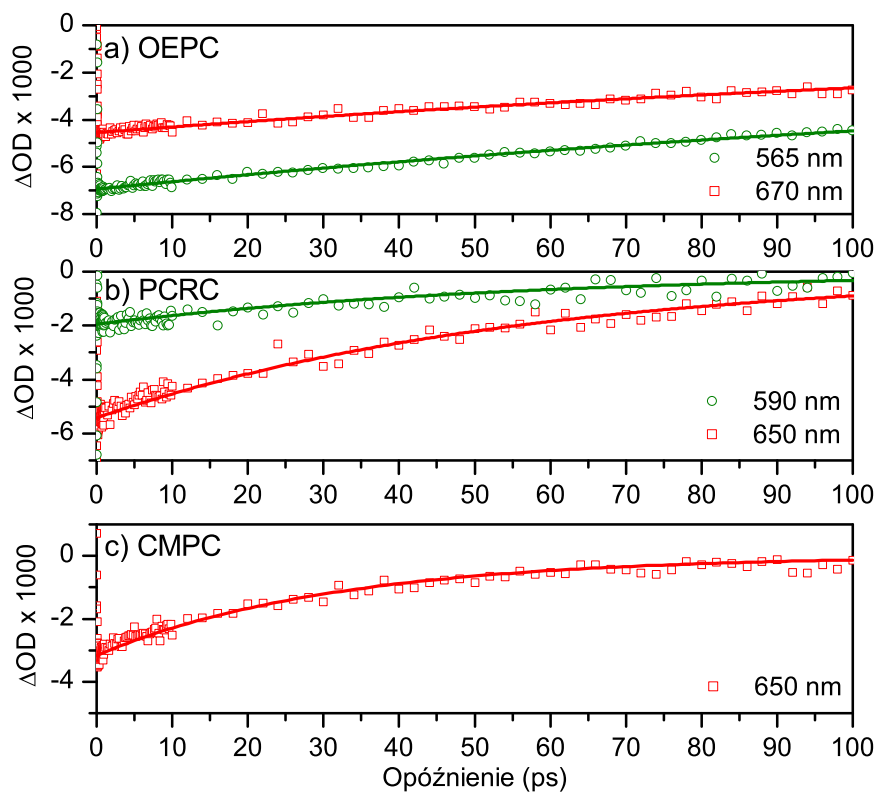
Stosunek czasów przeniesienia protonów w stanach S_1 i S_0 jest w PC i TTPC zbliżony: $\frac{\tau_{PT}^1}{\tau_{PT}^0} = 8 \pm 1$ dla PC i $\frac{\tau_{PT}^1}{\tau_{PT}^0} = 6.7 \pm 0.6$ dla TTPC. Fakt ten oraz podobny charakter zaników anizotropii w obu cząsteczkach pozwalają założyć, że w TTPC podobnie jak w PC nie występuje forma *cis*, a przynajmniej że jej udział jest niewielki i nie wpływa znacząco na obserwowane kinetyki.

Spośród badanych cząsteczek PC i TTPC wyróżnia długi czas życia stanu wzbudzonego — w przypadku pozostałych pochodnych PC zanik absorpcji przejściowej jest wyraźnie zauważalny (Rys. 5.20). Do zmierzonych zależności zmiany gęstości optycznej próbki $\Delta OD(t)$ od opóźnienia pomiędzy impulsami t dla OEPC, PCRC i CMPC dopasowane zostały funkcje postaci

$$\Delta OD(t) = A \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right). \quad (5.33)$$



Rysunek 5.19: (a) Zaniki anizotropii absorpcji przejściowej dla TTPC w glikolu etylenowym zmierzone w temp. pokojowej. (b) Zmiany absorpcji przejściowej dla kąta magicznego.



Rysunek 5.20: Zależność absorpcji przejściowej od opóźnienia pomiędzy impulsami pompującym i sondującym przy kącie magicznym dla alkilopochodnych porficyny: (a) OEPC, (b) PCRC, (c) CMPC.

Wyznaczone w ten sposób czasy życia stanu wzbudzonego τ pochodnych porficyny w badanych roztworach zebrane są w Tabeli 5.7. Wartości τ dla PCRC i CMPC są blisko dwukrotnie większe niż zmierzone w tetrahydrofuranie (THF) za pomocą czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencji⁹² (31 ps i 17 ps), co potwierdza obserwowaną dla tych cząsteczek silną zależność czasu życia stanu S_1 w roztworach od lepkości rozpuszczalnika. Natomiast stosunek τ mierzonego w mieszaninie glikolu etylenowego z metanolem i THF jest w przypadku PCRC i CMPC bardzo podobny (odpowiednio 1.82 i 1.81).

Tabela 5.7: Czas życia stanu wzbudzonego τ pochodnych porficyny będących przedmiotem pomiarów anizotropii absorpcji przejściowej wyznaczony w glikolu etylenowym w temperaturze pokojowej

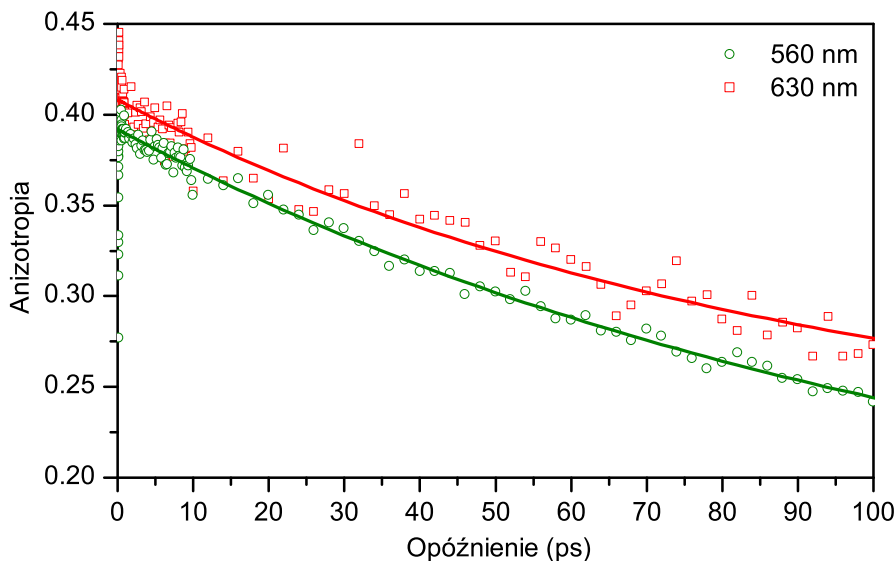
Cząsteczka	τ (ps)
OEPC	180 ± 30
PCRC	56 ± 1
CMPC	31 ± 1

Krótki czas życia stanu wzbudzonego sprawia, że przybliżenie stałości obsadzeń stanów S_0 i S_1 (równanie 5.22) w czasie gdy osiągana jest równowaga populacji obu tautomerów *trans* nie jest spełnione w przypadku cząsteczki OEPC, dla której zanik anizotropii zachodzi w porównywalnej skali czasu co zanik absorpcji przejściowej (Rys. 5.21).

Z tego powodu nie można zastosować wprowadzonego dla PC i słusznego również dla TTPC wzoru (5.28) do wyznaczenia stałych szybkości tautomeryzacji. Teoretycznie można to zrobić modyfikując odpowiednio równania 5.25, by jednak miało to sens należałoby zarejestrować zaniki anizotropii dla kilkukrotnie większego zakresu opóźnień, tak, by dało się je prześledzić do momentu ustalenia się populacji obu form tautomerycznych. Sytuację komplikuje dodatkowo fakt, że skala czasowa przeniesienia protonów jest tu zbliżona do skali czasowej rotacji dyfuzyjnej. Poprzestaniemy więc na dopasowaniu do kinetyk anizotropii jednowykładniczych funkcji,

$$r(t) = r_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_a}\right). \quad (5.34)$$

Pozwala to oszacować szybkość reakcji z dokładnością przynajmniej do rzędu wielkości. Uzyskane w wyniku dopasowania czasy zaniku anizotropii τ_a to (110 ± 20) ps dla pomiaru przy centralnej długości fali impulsów równej 560 nm i (90 ± 15) ps dla 630 nm. Ponieważ wartości te są wyznaczone z początkowych odcinków krzywych, gdzie zmiany powodowane są głównie przez szybszy proces, to można założyć, że wyznaczone wartości odzwierciedlają głównie szybkość tautomeryzacji w stanie podstawowym ($\tau_{PT}^0 \approx 2\tau_a$), a czas przeniesienia protonów w stanie wzbudzonym jest odpowiednio dłuższy. Pamiętając, że jest to jedynie zgrubne przybliżenie, między innymi ze względu na zmianę populacji stanu podstawowego i wzbudzonego, przyjmujemy, iż stałe szybkości tautomeryzacji w stanach S_0 i S_1 są dla cząsteczki



Rysunek 5.21: Zaniki anizotropii absorpcji przejściowej dla OEPC w glikolu etylenowym zmierzone w temperaturze pokojowej.

OEPC rzędu, odpowiednio, 10^{10} s^{-1} i 10^9 s^{-1} .

O ile na przeszkodzie w dokładnym wyznaczeniu stałych szybkości tautomerizacji w OEPC stanął zbyt długi czas przeniesienia protonów w porównaniu z czasem życia stanu S_1 , to w przypadku PCRC i CMPC jest odwrotnie — reakcja przebiega zbyt szybko w porównaniu z czasem trwania impulsów.

Kinetyki anizotropii dla obu cząsteczek zmierzone przy centralnej długości fali impulsów równej 650 nm są bardzo podobne do siebie (Rys. 5.22 (a, c)), co zgadza się z rezultatami pomiarów w wiązkach molekularnych wskazującymi na podobne kształty potencjałów, w których poruszają się wewnętrzne atomy wodoru.⁸³ Można je dobrze dopasować jednowykładniczymi funkcjami (wzór 5.34), z czasem zaniku anizotropii τ_a równym (260 ± 20) fs dla PCRC i (270 ± 20) fs dla CMPC. Jednowykładnicze zaniki oraz wyrażnie mniejsza niż 0.4 anizotropia dla małych opóźnień (bliskich czasowi trwania impulsów pompujących) wskazują, że obserwowany jest w tym wypadku przede wszystkim wolniejszy proces, w stanie wzbudzonym, a czas przeniesienia protonów w stanie podstawowym jest tak krótki, że populacje formy o pierwotnej orientacji momentów przejścia i formy tautomerycznej ulegają w znacznym stopniu wyrównaniu jeszcze w czasie przekrywania się impulsów pompujących i sondujących. Relatywnie krótki czas życia stanu wzbudzonego (kilkadziesiąt ps) nie ma dużego wpływu na kinetyki anizotropii, bo w czasie, gdy anizotropia ulega

istotnym zmianom, absorpcja przejściowa pozostaje praktycznie stała (Rys. 5.22 (b, d)). Można więc przyjąć, że czas przeniesienia protonów w stanie S_1 to w przybliżeniu 0.5 ps i oszacować, że w stanie podstawowym jest on rzędu 100 fs.

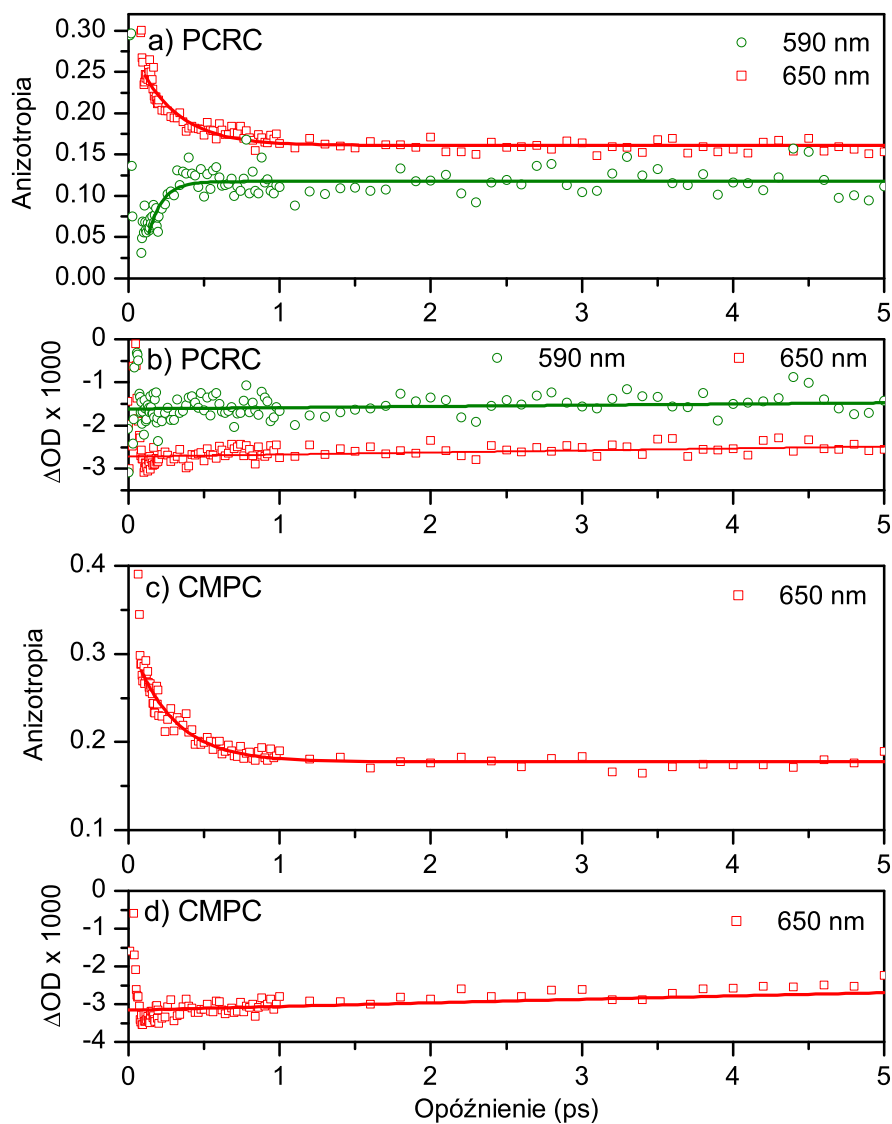
Kinetykę anizotropii absorpcji przejściowej po wzbudzeniu do stanu S_2 udało się wyznaczyć jedynie dla PCRC, gdyż absorpcja przejściowa CMPC okazała się zbyt mała, aby uzyskać użyteczne dane. Zachowanie anizotropii jest tu odmienne niż w przypadku omówionych wcześniej cząsteczek: nie maleje ona, lecz początkowo bardzo szybko rośnie (Rys. 5.22(a)), a wzrost ten można opisać funkcją wykładniczą z czasem charakterystycznym równym (90 ± 20) fs. Przyczyną tego jest na tyle niewielka różnica energii stanów S_1 i S_2 w cząsteczce PCRC, że ultrakrótki impuls laserowy, którego centralna długość fali odpowiada maksimum widma absorpcji o wyższej energii (czyli przejściu $S_2 \leftarrow S_0$) wzbudza również cząsteczki do stanu S_1 . Mierzona anizotropia jest więc wypadkową anizotropii wynikającej z przejść $S_2 \leftarrow S_0$ (spadek w czasie od 0.4 do ok. 0.16*) i $S_1 \leftarrow S_0$ (zmiana od ok. -0.2 do niewielkiej wartości dodatniej) a szybki wzrost anizotropii jest oczekiwanym efektem tautomeryzacji w stanie podstawowym. Sytuację komplikuje dodatkowo fakt, że na anizotropię ma też wpływ emisja wymuszona ze stanów S_2 i S_1 , a jej zmiany w pewnym stopniu mogą też wynikać z relaksacji $S_2 \rightsquigarrow S_1$. Ta ostatnia zachodzi jednak najprawdopodobniej w czasie krótszym niż czas trwania impulsów pompujących, bo nie są widoczne zmiany absorpcji dla opóźnień większych niż czas trwania impulsów.

Zatem i te wyniki wskazują, że czas przeniesienia protonów w stanie S_0 jest dla PCRC rzędu 100 fs. Gdyby przyjąć, że kinetyka anizotropii obserwowana dla 590 nm jest efektem wyłącznie tautomeryzacji w stanie podstawowym, to można by przypisać czasowi przeniesienia protonów w stanie S_0 wartość $\tau_{PT}^0 = (180 \pm 40)$ fs, brak jednak podstaw do takiego założenia i bezpieczniej jest traktować tę liczbę jako wskaźnik rzędu wielkości niż dokładną wartość. Dodatkowym argumentem przemawiającym za taką ostrożnością jest możliwość występowania w PCRC i CMPC pewnej liczby cząsteczek w formie *cis* i reakcji *cis-trans*, modyfikującej obserwowane kinetyki.

Za pomocą czasowo-rozdzielczych pomiarów anizotropii absorpcji przejściowej w porficynie i jej czterech alkilo-pochodnych wyznaczono stałe szybkości tautomeryzacji, k_{PT}^0 i k_{PT}^1 , w temperaturze pokojowej w dwóch związkach, PC i TTPC, oraz oszacowano rząd wielkości k_{PT} w trzech innych cząsteczkach, OEPC, PCRC i CMPC (Tabela 5.8). Uzyskane wyniki są zgodne z jakościowymi przewidywaniami opartymi na pomiarach anizotropii fluorescencji stacjonarnej, wskazującymi na silną zależność czasu przeniesienia atomów wodoru od wzajemnej odległości atomów azotu, pomiędzy którymi są one przenoszone (Tabela 5.1): jej zmniejszenie o 10% powoduje wzrost szybkości reakcji o 3 rzędy wielkości.

Stałe szybkości reakcji w cieczy wykazują jednak silniejszą korelację z wielkością przesunięć chemicznych dla wewnętrznych atomów wodoru (mówiącą o sile

*Podstawniki zmieniają nieznacznie kąt, o jaki obracają się momenty przejść w alkilo-pochodnych porficyny w porównaniu z wartością tego kąta dla porficyny (a więc również wartość anizotropii po długim czasie od wzbudzenia), jednak w tych jakościowych rozważaniach jego dokładna wartość nie jest istotna

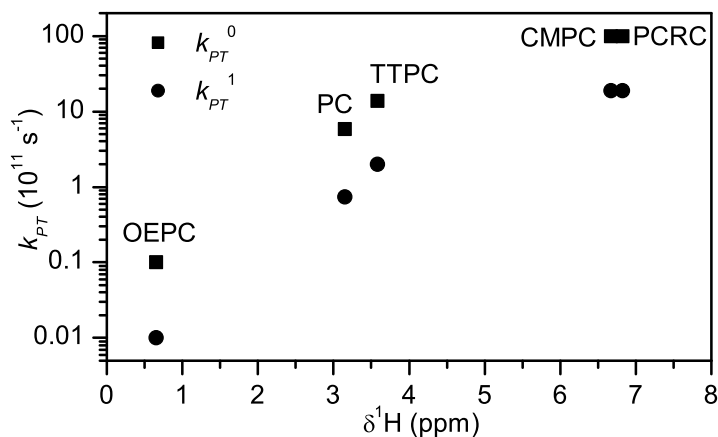


Rysunek 5.22: Kinetyki anizotropii absorpcji przejściowej i kinetyki absorpcji przejściowej dla PCRC i CMPC.

Tabela 5.8: Czasy przeniesienia protonów w stanach S_0 (τ_{PT}^0) i S_1 (τ_{PT}^1) i stałe szybkości tautomeryzacji (odpowiednio k_{PT}^0 i k_{PT}^1) w porficynie i jej pochodnych w temperaturze pokojowej.

	τ_{PT}^0 (ps)	τ_{PT}^1 (ps)	k_{PT}^0 (s^{-1})	k_{PT}^1 (s^{-1})
OEPC	~ 100	$\sim (1 \div 10) \cdot 100$	$\sim 10^{10}$	$\sim 10^9$
PC	1.7 ± 0.1	13.5 ± 1.6	$(5.8 \pm 0.3) \cdot 10^{11}$	$(7.4 \pm 0.9) \cdot 10^{10}$
TTPC	0.73 ± 0.04	4.9 ± 0.3	$(13.7 \pm 0.8) \cdot 10^{11}$	$(2.0 \pm 0.1) \cdot 10^{11}$
CMPC	~ 0.1	0.54 ± 0.04	$\sim 10^{13}$	$(1.9 \pm 0.2) \cdot 10^{12}$
PCRC	~ 0.1	0.52 ± 0.04	$\sim 10^{13}$	$(1.9 \pm 0.2) \cdot 10^{12}$

wiązań wodorowych z atomem azotu będącym akceptorem protonu) niż z rozmiarami wnęki zmierzonymi w fazie krystalicznej. Jest to widoczne dla PC i TTPC, gdyż reakcja w tej ostatniej przebiega szybciej, mimo nieco większej odległości atomów azotu, natomiast porównanie przesunięć chemicznych pozwala prawidłowo przewidzieć relację pomiędzy szybkościami tautomeryzacji w tych cząsteczkach. Na Rys. 5.23 pokazano zależność stałych szybkości reakcji w stanach S_0 i S_1 od wartości przesunięcia chemicznego dla wewnątrzwnęzkowych atomów wodoru. Dla zbadanych cząsteczek ma ona w bardzo dużym przybliżeniu charakter wykładniczy. Informacja ta i wyznaczone stałe szybkości powinny umożliwić weryfikację modeli teoretycznych opisujących przeniesienie protonów w porficynie i jej pochodnych oraz pozwolić przewidzieć niektóre własności innych cząsteczek należących do tej rodziny związków chemicznych.



Rysunek 5.23: Stałe szybkości tautomeryzacji porficyny i jej pochodnych w funkcji przesunięć chemicznych wewnętrznych atomów wodoru.

5.7 Efekt izotopowy

Badania efektu izotopowego — wpływu zastąpienia cięższym izotopem uczestniczących w reakcji atomów wodoru na jej przebieg — pozwalają w wielu przypadkach poznać w pełni mechanizm procesu przeniesienia protonów. Metoda ta okazała się skuteczna w przypadku porfiryiny, cząsteczki będącej protoplastą porficyny, gdzie pomiary NMR szybkości tautomeryzacji w kryształach po zastąpieniu wewnętrznych atomów wodoru atomami deuteru lub trytu doprowadziły do wniosków, że reakcja *trans-trans* przebiega w dwóch etapach: *trans-cis* i następnie *cis-trans*^{89–91} (odmiennie niż w porficynie, według obecnego stanu wiedzy). Analogiczne dane dla porficyny są niezbędne, by skonfrontować obliczenia oparte na różnych modelach reakcji⁷³ z wynikami doświadczeń.

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono wstępne pomiary efektu izotopowego, w dwóch różnych cząsteczkach, w temperaturze pokojowej. Do badań wybrano PC i TTPC ze względu na możliwość dokładnego wyznaczenia szybkości tautomeryzacji w ich przypadku.

Zastąpienie wewnętrznych atomów wodoru atomami deuteru, osiągnięto poprzez rozpuszczenie badanych związków chemicznych w odpowiednio deuterowanych alkoholach, etanolu ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OD}$, EtOD) i *n*-butanolu ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-OD}$, BuOD). Ze względu na ograniczenie wpływu rotacji dyfuzyjnej na uzyskiwane wyniki oraz spójność z wcześniejszymi pomiarami cząsteczek niedeuterowanych lepszym wyborem byłoby użycie deuterowanego glikolu etylenowego jako rozpuszczalnika, uniemożliwił to jednak jego bardzo wysoki koszt. Próba deuterowania glikolu we własnym zakresie, poprzez rozpuszczenie go w ciężkiej wodzie i późniejszą destylację roztworu nie dała pozytywnego rezultatu. Dlatego zdecydowano się na użycie tańszych alkoholi, co jednak jest okupione mniejszą ich lepkością i wyraźnie widocznym wpływem rotacji cząsteczek na zanik anizotropii. Konieczne było więc wykonanie referencyjnych pomiarów w odpowiednich alkoholach niedeuterowanych (EtOH i BuOH) i analizowanie efektu izotopowego dla cząsteczek w roztworach alkoholowych. W TTPC skale czasowe zmian anizotropii spowodowanych tautomeryzacją i rotacją są lepiej rozdzielone niż w PC, gdyż w tej drugiej przeniesienie protonów zachodzi wolniej, a rotacja nie jest spowolniona obecnością podstawników. Dlatego w przypadku porficyny ograniczono się do pomiarów roztworów w butanolu, który ma znacząco większą lepkość niż etanol i w większym stopniu hamuje rotację. Większy i bardziej szczegółowo przeanalizowany zbiór danych otrzymano więc dla TTPC, jednak pozytywne rezultaty doświadczeń przeprowadzonych z obiema cząsteczkami wskazują na pełną możliwość przeprowadzenia bardziej kosztownych eksperymentów, w których cząsteczki byłyby rozpuszczone w deuterowanym glikolu etylenowym, a wyznaczone stałe szybkości reakcji — dokładniejsze.

Przed wykonaniem opisywanych pomiarów nie była znana szybkość reakcji deuterowania porficyny i jej pochodnych w alkoholach, wobec tego pierwsze doświadczenia wykonane zostały w sposób następujący: po dodaniu odpowiedniej ilości kryształków badanego związku do EtOD lub BuOD naczynie z roztworem było napełniane bezwodnym azotem i hermetycznie zamykane, następnie przez pewien czas wstrząsane, a po kilkudziesięciu minutach roztwór był przenoszony do kuwety (o

grubości 2 mm) umieszczonej w układzie pomiarowym. Mimo iż spodziewano się, że kilkadziesiąt minut, które upływały pomiędzy dodaniem związku do rozpuszczalnika a rozpoczęciem pomiarów jest czasem wystarczającym na całkowite zdeuterowanie cząsteczek, obserwowano na bieżąco kinetyki mierzone w kolejnych przejazdach stolika linii opóźniającej (pomiar jednej kinetyki trwał 3 minuty). Wbrew oczekiwaniom, zmiany kształtu otrzymywanych krzywych opisujących zanik anizotropii obserwowano przez kilkanaście godzin. Eksperyment trwał do momentu ustalenia się czasu zaniku anizotropii w próbce. Kinetyki anizotropii dla roztworów PC w BuOH i TTPC w EtOH oraz PC w BuOD i TTPC w EtOD zmierzone po upływie różnych czasów od wykonania roztworów pokazano na Rys. 5.24 i 5.25.

Stosunek sygnału do szumu jest w tych doświadczeniach mniejszy niż w pomiarach, w których kinetyki nie ulegały zmianie, po pierwsze dlatego, że tutaj nie można uśredniać kolejno rejestrowanych kinetyk, co jest standardową techniką w pomiarach czasowo-rozdzielczych. Po drugie, układ laserowy musiał pracować nieprzerwanie przez blisko 20 godzin i zachodzące w tym czasie zmiany temperatury powietrza w pomieszczeniu i na stołach optycznych powodowały, że parametry generowanych impulsów, w szczególności ich energia ulegały zmianom. Nie umożliwia to jednak wyciągnięcia z uzyskanych wyników istotnych wniosków.

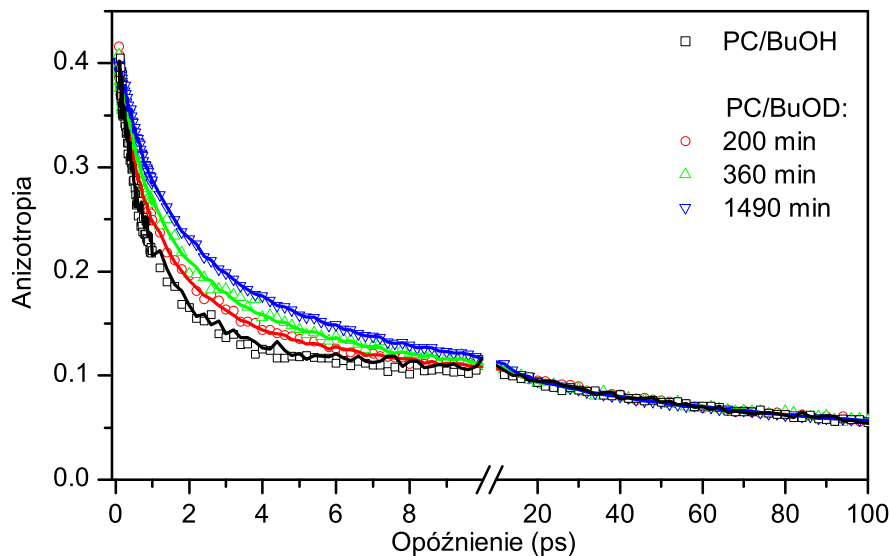
Obserwowane kilkukrotne spowolnienie zaniku anizotropii wraz z upływem czasu od rozpoczęcia reakcji deuterowania pozwala mieć pewność, że obserwujemy rzeczywiście efekt izotopowy. Tego rodzaju dane, które składają się z wielu zmierzonych w różnych momentach reakcji deuterowania zaników anizotropii umożliwiają jednak uzyskanie o wiele bogatszej informacji. Można je, podobnie jak widma absorpcji przejściowej, poddać analizie globalnej i przetestować model reakcji deuterowania, wyznaczyć stałą szybkości wymiany atomów wodoru na atomu deuteru oraz upewnić się, że krzywe mierzone po 24 godzinach od wykonania roztworów reprezentują zaniki anizotropii w cząsteczkach, w których oba wewnętrzne protony zastąpione są deuteronami.

Metoda jest analogiczna do stosowanej w przypadku analizy globalnej danych otrzymanych w wyniku spektroskopii absorpcji przejściowej. Różnica polega na tym, że rolę widm absorpcji przejściowej pełnią teraz kinetyki anizotropii, a skala czasowa reakcji z femto- lub pikosekund przesuwa się do godzin. Można też od razu, zamiast rozkładać obserwowane zmiany czasowe na funkcje wykładnicze, wprowadzić rozkład na funkcje opisujące stężenia cząsteczek o różnym stopniu zdeuterowania, wynikające wprost z modelu reakcji. W tym wypadku jest on prosty i dobrze znany, czego zazwyczaj nie można powiedzieć o modelach ultraszybkich reakcji badanych za pomocą absorpcji przejściowej.

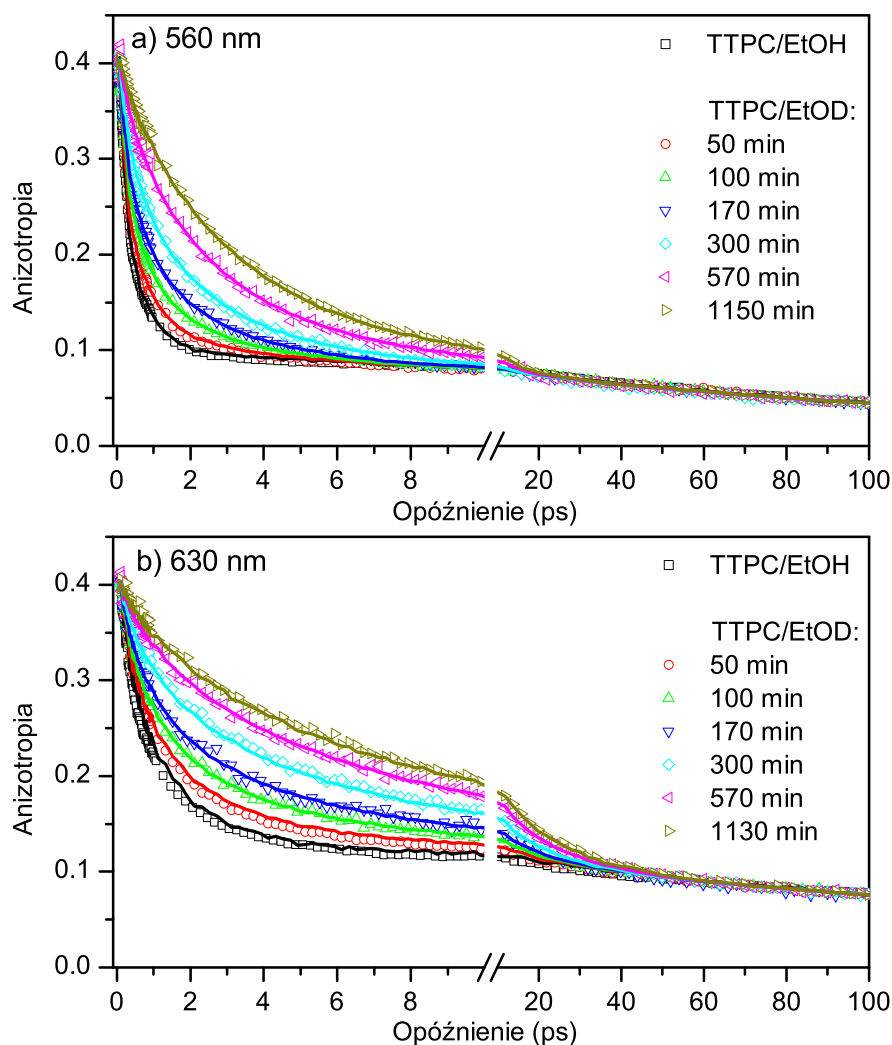
Wartości anizotropii $r(T, t)$ mierzone w chwili T dla opóźnienia pomiędzy impulsami t , można zebrać w macierz $\mathbf{R}$, której wiersze są kinetykami zarejestrowanymi w kolejnych pomiarach*:

$$R_{ij} = r(T_i, t_j) \quad (5.35)$$

*Korzystamy tu z faktu, że pojedynczy pomiar trwa dużo krócej niż zmiany kinetyk spowodowane deuterowaniem



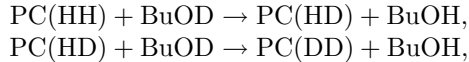
Rysunek 5.24: Punkty – zaniki anizotropii zmierzone przy długości fali impulsów pompujących i sondujących równej 555 nm dla PC w BuOH (kwadraty) oraz PC w BuOD po różnym czasie od wykonania roztworu (pozostałe symbole). Krzywe – zaniki anizotropii odtworzone z danych doświadczalnych w wyniku dopasowania globalnego; najbardziej stroma krzywa, pokrywająca się z zanikiem zmierzonym w roztworze PC w BuOH reprezentuje odtworzony z pomiarów w BuOD zanik anizotropii dla cząsteczki niedeuterowanej.



Rysunek 5.25: Punkty – zaniki anizotropii zmierzone przy długości fali impulsów pompujących i sondujących równej 560 nm (a) i 630 nm (b) dla TTPC w EtOH (kwadraty) oraz TTPC w EtOD po różnym czasie od wykonania roztworu (pozostałe symbole). Krzywe – zaniki anizotropii odtworzone z danych doświadczalnych w wyniku dopasowania globalnego; najbardziej stroma krzywa, pokrywająca się z zanikiem zmierzonym w roztworze TTPC w EtOH reprezentuje wyznaczony z pomiarów w EtOD zanik anizotropii dla cząsteczki niedeutеровanej.

$$\mathbf{R} = \begin{bmatrix} r(T_1, t_1) & r(T_1, t_2) & \cdots & r(T_1, t_n) \\ r(T_2, t_1) & r(T_2, t_2) & \cdots & r(T_2, t_n) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ r(T_N, t_1) & r(T_N, t_2) & \cdots & r(T_N, t_n) \end{bmatrix} \quad (5.36)$$

Zakładamy, że w wyniku oddziaływania porficyny lub jej pochodnej z cząsteczkami deuterowanego rozpuszczalnika wymianie ulega najpierw jeden, a następnie drugi wewnętrzny proton, na przykład (dla PC w BuOH) w następujących reakcjach:



gdzie oznaczeniami (HH), (HD) i (DD) wyróżniono cząsteczki posiadające, odpowiednio dwa protony we wnętrzu, jeden proton i jeden deuteron, dwa deuterony.

Reakcje odwrotne, w których oddziałują cząsteczki PC(HD) i PC(DD) z cząsteczkami BuOH i wymianie ulega związany z PC deuteron na proton są również możliwe, jednak ze względu na bardzo małe stężenie PC ich udział jest zanedbywalnie mały. Przyjmijmy więc, że reakcje deuterowania przebiegają jednokierunkowo.

Z tego samego powodu można uprościć opis kinetyki reakcji i każdy z etapów traktować jako reakcję pierwszego rzędu, mimo że uczestniczą w niej dwie cząsteczki. Ponieważ reakcja nie zmienia praktycznie stężenia cząsteczek rozpuszczalnika, to, jako stałe, można je włączyć do stałej szybkości reakcji. Równania kinetyki reakcji drugiego rzędu*,

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}[\text{PC(HH)}] &= -k_1[\text{PC(HH)}][\text{BuOD}], \\ \frac{d}{dt}[\text{PC(HD)}] &= -k_2[\text{PC(HD)}][\text{BuOD}] + k_1[\text{PC(HH)}][\text{BuOD}], \\ \frac{d}{dt}[\text{PC(DD)}] &= k_2[\text{PC(HD)}][\text{BuOD}], \end{aligned} \quad (5.37)$$

upraszczają się wówczas do następującej postaci:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}[\text{PC(HH)}] &= -k_1[\text{PC(HH)}], \\ \frac{d}{dt}[\text{PC(HD)}] &= -k_2[\text{PC(HD)}] + k_1[\text{PC(HH)}], \\ \frac{d}{dt}[\text{PC(DD)}] &= k_2[\text{PC(HD)}]. \end{aligned} \quad (5.38)$$

Nie należy jednak zapominać o fizycznym sensie stałych szybkości k_1 i k_2 , które są po dokonanych uproszczeniach zależne od stężenia rozpuszczalnika i słuszne jedynie w przypadku, gdy jest ono niezmiennie. Są to jednak typowe warunki, w których dokonuje się deuterowania cząsteczek poprzez rozpuszczenie ich w deuterowanym rozpuszczalniku, zatem otrzymane wyniki będą mogły znaleźć zastosowanie w innych badaniach efektu izotopowego w porficynie i jej pochodnych.

*[X] oznacza stężenie cząsteczek X

Stężenia cząsteczek o różnym stopniu zdeuterowania w chwili T są rozwiązaniami równań 5.38

$$\begin{aligned} [\text{PC}(\text{HH})](T) &= C_0 e^{-k_1 T}, \\ [\text{PC}(\text{HD})](T) &= C_0 \frac{k_1}{k_1 - k_2} (e^{-k_2 T} - e^{-k_1 T}), \\ [\text{PC}(\text{DD})](T) &= C_0 \left[\frac{1}{k_1 - k_2} (k_2 e^{-k_1 T} - k_1 e^{-k_2 T}) + 1 \right], \end{aligned} \quad (5.39)$$

gdzie

$$C_0 = [\text{PC}(\text{HH})](0) = [\text{PC}(\text{HH})](T) + [\text{PC}(\text{HD})](T) + [\text{PC}(\text{DD})](T) \quad (5.40)$$

jest całkowitym stężeniem cząsteczek porficyny w roztworze.

Powyższe rozwiązania, słuszne dla $k_1 \neq k_2$, przybierają w granicznym przypadku $k_1 = k_2 \equiv k$ postać

$$\begin{aligned} [\text{PC}(\text{HH})](T) &= C_0 e^{-kT}, \\ [\text{PC}(\text{HD})](T) &= C_0 kT e^{-kT}, \\ [\text{PC}(\text{DD})](T) &= C_0 [1 - (kT + 1)e^{-kT}]. \end{aligned} \quad (5.41)$$

Korzystając z addytywności anizotropii zapiszmy wyrażenie na jej wartość $r(T, t)$ w chwili T dla opóźnienia pomiędzy impulsami t :

$$r(T, t) = \frac{[\text{PC}(\text{HH})](T) r_{HH}(t) + [\text{PC}(\text{HD})](T) r_{HD}(t) + [\text{PC}(\text{DD})](T) r_{DD}(t)}{C_0}, \quad (5.42)$$

gdzie $r_{HH}(t)$, $r_{HD}(t)$, $r_{DD}(t)$ opisują zanik anizotropii w odpowiedniej formie cząsteczek, zgodnie z równaniami 5.21 i 5.28, są jednak sparametryzowane różnymi stałymi szybkości tautomerizacji.

By uprościć zapis wprowadzimy oznaczenia:

$$\begin{aligned} x_{HH}(T) &= \frac{1}{C_0} [\text{PC}(\text{HH})](T), \\ x_{HD}(T) &= \frac{1}{C_0} [\text{PC}(\text{HD})](T), \\ x_{DD}(T) &= \frac{1}{C_0} [\text{PC}(\text{DD})](T). \end{aligned} \quad (5.43)$$

Wówczas

$$r(T, t) = x_{HH}(T) r_{HH}(t) + x_{HD}(T) r_{HD}(t) + x_{DD}(T) r_{DD}(t). \quad (5.44)$$

Równanie 5.44 pozwala rozseparować macierz $\mathbf{R}$ na iloczyn macierzy, z których jedna opisuje zmiany wywołane deuterowaniem, druga natomiast zmiany będące

skutkiem tautomeryzacji:

$$\mathbf{R} = \mathbf{X} \mathbf{P} = \begin{pmatrix} x_{HH}(T_1) & x_{HD}(T_1) & x_{DD}(T_1) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ x_{HH}(T_N) & x_{HD}(T_N) & x_{DD}(T_N) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} r_{HH}(t_1) & \cdots & r_{HH}(t_n) \\ r_{HD}(t_1) & \cdots & r_{HD}(t_n) \\ r_{DD}(t_1) & \cdots & r_{DD}(t_n) \end{pmatrix} \quad (5.45)$$

Dalszy sposób postępowania jest analogiczny do opisanego w rozdziale 4. Mnożąc równanie 5.45 z lewej strony przez $\mathbf{X}^T$,

$$\mathbf{X}^T \mathbf{R} = \mathbf{X}^T \mathbf{X} \mathbf{P}, \quad (5.46)$$

a następnie przez $(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1}$,

$$(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \mathbf{R} = \mathbf{P}, \quad (5.47)$$

otrzymujemy wyrażenie pozwalające wyznaczyć macierz $\mathbf{P}$, jeśli znana jest macierz $\mathbf{X}$. Zazwyczaj nie znamy jej z góry, jednak przyjmując model i wartości stałych szybkości reakcji (założone stałe szybkości oznaczmy przez k'_1 i k'_2 dla odróżnienia od ich „prawdziwych” wartości k_1 i k_2) oraz korzystając z równań 5.39 lub 5.41 obliczymy sparametryzowaną przez k'_1 i k'_2 macierz $\mathbf{X}_k$. Możemy wówczas wyznaczyć odpowiadającą jej macierz $\mathbf{P}_k$ dla wyników doświadczenia zebranych w macierzy $\mathbf{R}_{\text{exp}} = \mathbf{R} + \mathbf{\Sigma}$ (*explicite* zapisujemy tu wpływ szumu opisanego macierzą $\mathbf{\Sigma}$),

$$\mathbf{P}_k = (\mathbf{X}_k^T \mathbf{X}_k)^{-1} \mathbf{X}_k^T \mathbf{R}_{\text{exp}} \quad (5.48)$$

i odtworzyć macierz $\mathbf{R}_k$ zawierającą wartości anizotropii dla założonych stałych szybkości reakcji deuterowania:

$$\mathbf{R}_k = \mathbf{X}_k \mathbf{P}_k = \mathbf{X}_k (\mathbf{X}_k^T \mathbf{X}_k)^{-1} \mathbf{X}_k^T \mathbf{R}_{\text{exp}}. \quad (5.49)$$

Dopasowanie globalne macierzy $\mathbf{R}_k$ do danych doświadczalnych $\mathbf{R}_{\text{exp}}$ polega na znalezieniu takich wartości k'_1 i k'_2 , dla których $\mathbf{R}_k$ i $\mathbf{R}_{\text{exp}}$ różnią się jak najmniej, czyli (tak jak w Rozdziale 4) na znalezieniu k'_1 i k'_2 minimalizujących funkcję*

$$\begin{aligned} \chi^2(k'_1, k'_2) &\equiv \|\mathbf{R}_k - \mathbf{R}_{\text{exp}}\|^2 = \sum_{i,j} ((R_k)_{ij} - (R_{\text{exp}})_{ij})^2 = \\ &= \text{Tr} [(\mathbf{R}_k - \mathbf{R}_{\text{exp}})^T (\mathbf{R}_k - \mathbf{R}_{\text{exp}})], \end{aligned} \quad (5.50)$$

co jest równoważne dopasowaniu metodą najmniejszych kwadratów. W idealnym przypadku procedura ta prowadzi do znalezienia „prawdziwych” stałych szybkości, $k'_1 = k_1$ i $k'_2 = k_2$, dla których $\mathbf{X}_k = \mathbf{X}$. Wówczas otrzymujemy macierz $\mathbf{R}_{\text{opt}}$, będącą najlepszym dopasowaniem macierzy $\mathbf{R}_{\text{exp}}$:

$$\mathbf{R}_{\text{opt}} = \mathbf{X} (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \mathbf{R}_{\text{exp}} = \mathbf{X} (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T (\mathbf{R} + \mathbf{\Sigma}). \quad (5.51)$$

*Ponieważ nie jest znana niepewność pojedynczego pomiaru, to w definicji χ^2 przyjęto, że jest ona równa 1. Analiza niepewności otrzymanych przy tym założeniu wyników omówiona jest szczegółowo w Rozdziale 4.

Ponieważ

$$\mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{R} = \mathbf{R}, \quad (5.52)$$

to

$$\mathbf{R}_{\text{opt}} = \mathbf{R} + \mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma}. \quad (5.53)$$

Dopasowana macierz $\mathbf{R}_{\text{opt}}$ jest więc, podobnie jak wyniki pomiarów $\mathbf{R}_{\text{exp}}$, sumą „prawdziwych” zmian anizotropii $\mathbf{R}$ i szumu, który w tym wypadku opisany jest macierzą $\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}$:

$$\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}} = \mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma}. \quad (5.54)$$

Podobnie możemy wyznaczyć krzywe będące najlepszym dopasowaniem zaników anizotropii cząsteczek o różnym stopniu zdeuterowania $\mathbf{P}_{\text{opt}}$:

$$\mathbf{P}_{\text{opt}} = (\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{R}_{\text{exp}} = (\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T(\mathbf{R} + \mathbf{\Sigma}) = \mathbf{P} + (\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma}. \quad (5.55)$$

Macierz $\mathbf{R}_{\text{opt}}$ jest bardziej zbliżona do $\mathbf{R}$ niż macierz doświadczalna $\mathbf{R}_{\text{exp}}$, ponieważ

$$\begin{aligned} \|\mathbf{R}_{\text{exp}} - \mathbf{R}\| &= \|\mathbf{\Sigma}\| = \text{Tr}(\mathbf{\Sigma}^T\mathbf{\Sigma}), \\ \|\mathbf{R}_{\text{opt}} - \mathbf{R}\| &= \|\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}\| = \text{Tr}(\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}^T\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}) = \\ &= \text{Tr}\left[(\mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma})^T \mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma}\right] = \\ &= \text{Tr}\left[\mathbf{\Sigma}^T\mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma}\right], \end{aligned} \quad (5.56)$$

a dla dowolnej macierzy kwadratowej $\mathbf{\Sigma}$ zachodzi nierówność

$$\text{Tr}[\mathbf{\Sigma}^T\mathbf{X}(\mathbf{X}^T\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}^T\mathbf{\Sigma}] < \text{Tr}[\mathbf{\Sigma}^T\mathbf{\Sigma}], \quad (*), \quad (5.57)$$

czyli

$$\|\mathbf{R}_{\text{opt}} - \mathbf{R}\| < \|\mathbf{R}_{\text{exp}} - \mathbf{R}\|. \quad (5.58)$$

Oznacza to, że dopasowanie globalne również w tym wypadku pozwala odfiltrować część szumów. Przy założeniu, że $\mathbf{\Sigma}$ zawiera losowe wartości o rozkładzie normalnym wokół zera, stosunek $\|\mathbf{\Sigma}_{\text{opt}}\|/\|\mathbf{\Sigma}\|$ jest w warunkach opisywanych tu doświadczeń rzędu $0.01^\dagger$.

Nie należy jednak zapominać, że powyższe rozważania są słuszne jedynie przy założeniu, że wpływ szumu jest na tyle mały, by minimum funkcji $\chi^2(k'_1, k'_2)$ leżało blisko punktu (k_1, k_2) .

Wyniki pomiarów anizotropii absorpcji przejściowej dla PC w BuOD i TTPC w EtOD w zależności od opóźnienia pomiędzy impulsami i czasu upływającego od wykonania roztworów (ich część przedstawiono na Rysunkach 5.24 i 5.25), poddano opisaną powyżej analizie. Zakres analizowanych danych ograniczono tak, by wyeliminować z niego nieregularne zachowania anizotropii dla najmniejszych opóźnień. Obliczenia przeprowadzono w programie Matlab 7.0.

*Dowód nierówności przedstawiony jest w Dodatku.

[†]Wartość ta dobrze zgadza się z oszacowaniem na końcu Dodatku.

Najpierw przyjęto, że $k_1 \neq k_2$, jednak otrzymywane w wyniku numerycznego poszukiwania minimum funkcji $\chi^2(k'_1, k'_2)$ wartości były prawie identyczne, uznano więc, że obie stałe szybkości są sobie równe i dalsze obliczenia przeprowadzono korzystając z równań 5.41. Dopasowane kinetyki anizotropii dla wybranych czasów T , czyli wiersze macierzy $\mathbf{R}_{\text{opt}}$, przedstawiono liniami ciągłymi na Rysunkach 5.24 i 5.25. Bardzo dobrze pokrywają się one z odpowiadającymi im wynikami pomiarów — wierszami $\mathbf{R}_{\text{exp}}$ (przedstawionymi symbolami).

Mimo że jakość dopasowania założonego modelu, w którym $k_1 = k_2$ jest w pełni satysfakcjonująca, sprawdzono jeszcze, czy nie ma miejsca sytuacja, w której czas wymiany pierwszego protonu k_1^{-1} jest rzędu kilku godzin, a drugiego, k_2^{-1} — bardzo krótki, albo bardzo długi, wielokrotnie przewyższający czas obserwacji. Gdyby tak było, to po kilkunastu godzinach mierzone zaniki anizotropii również przestałyby się znacząco zmieniać. Jednak w pierwszym przypadku nie byłby obserwowany udział formy (HD), a w drugim formy (DD) w zanikach anizotropii. Oba te przypadki odpowiadają sytuacji, gdy w roztworze są tylko dwie formy cząsteczek w stężeniach C_1 i C_2 , których zmiany w czasie opisane są równaniami:

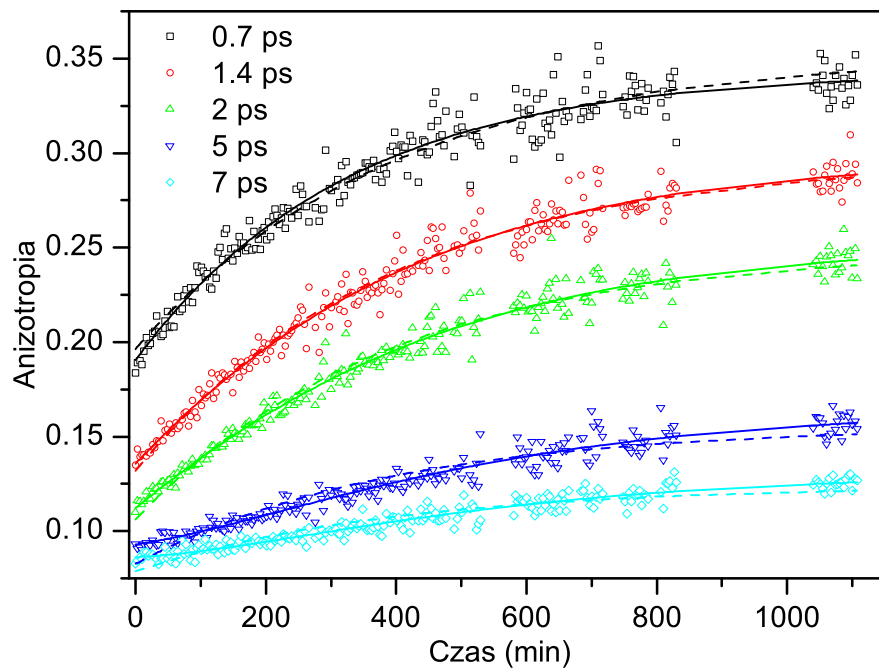
$$\begin{aligned} C_1 &= C_0 e^{-k_1 T}, \\ C_2 &= C_0 (1 - e^{-k_1 T}), \end{aligned} \tag{5.59}$$

By wykluczyć tę możliwość porównano jakość dopasowania modeli opisanych równaniami 5.41 i 5.59 na wynikach pomiarów TTPC w EtOH przy długości fali impulsów równej 560 nm, gdyż w tym doświadczeniu uzyskano najlepszy stosunek sygnału do szumu. Różnicę widać najlepiej porównując z danymi doświadczalnymi wynikające z obu modeli krzywe opisujące zmiany anizotropii w czasie T przy zadanym opóźnieniu pomiędzy impulsami t (czyli wybrane kolumny macierzy $\mathbf{R}_{\text{exp}}$ i $\mathbf{R}_{\text{opt}}$) — Rys. 5.26.

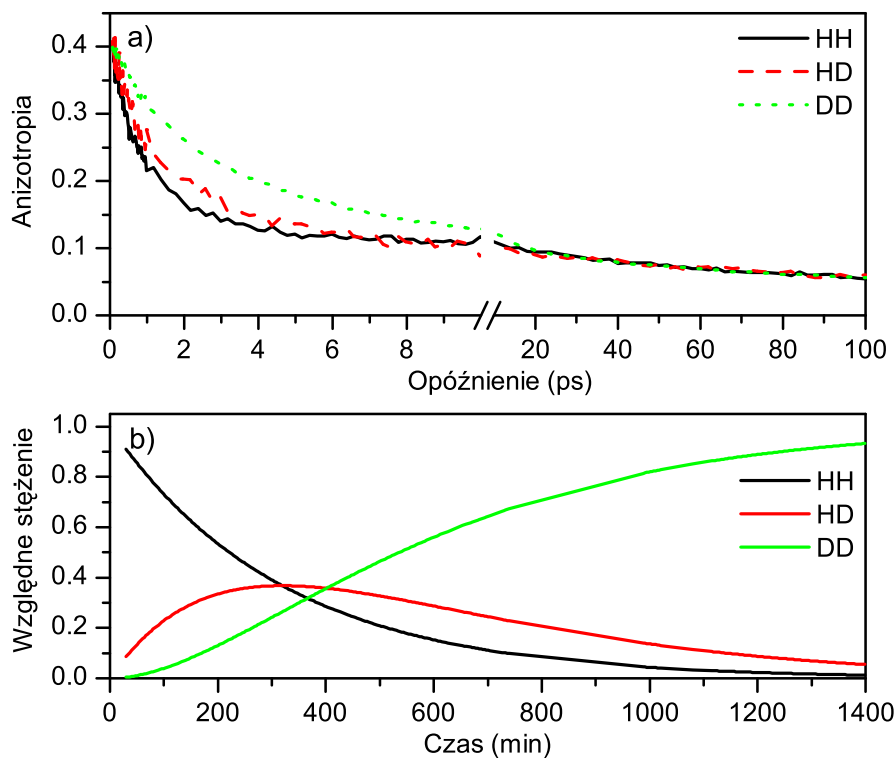
Rozbieżność wyników doświadczeń i modelu opisanego równaniami 5.59 jest najwyraźniejsza w przypadku krzywych dla opóźnień równych 5 ps i 7 ps, szczególnie dla $T < 100$ min, gdzie nie opisują one charakterystycznego przegięcia zbioru punktów pomiarowych. Natomiast model zakładający, że obserwujemy oba etapy reakcji zachodzące z taką samą szybkością w pełni odtwarza wszystkie cechy danych doświadczalnych, są więc wszelkie podstawy, by uznać jego słuszność.

Otrzymane w wyniku dopasowania globalnego wartości stałej szybkości reakcji deuterowania k i wybrane inne parametry dopasowań zebrane są w Tabeli 5.9. Natomiast odtworzone kinetyki anizotropii dla form o różnym stopniu zdeuterowania (wiersze $\mathbf{P}_{\text{opt}}$) i zależność ich względnego stężenia od czasu T (kolumny $\mathbf{X}$) przedstawiono na Rysunkach 5.27 i 5.28. Wykres odtworzonej na podstawie modelu kinetyki anizotropii formy (HH) umieszczono też na rysunkach 5.24 i 5.25, gdzie pokrywa się on z wynikami pomiarów wykonanych w rozpuszczalnikach niedeuterowanych.

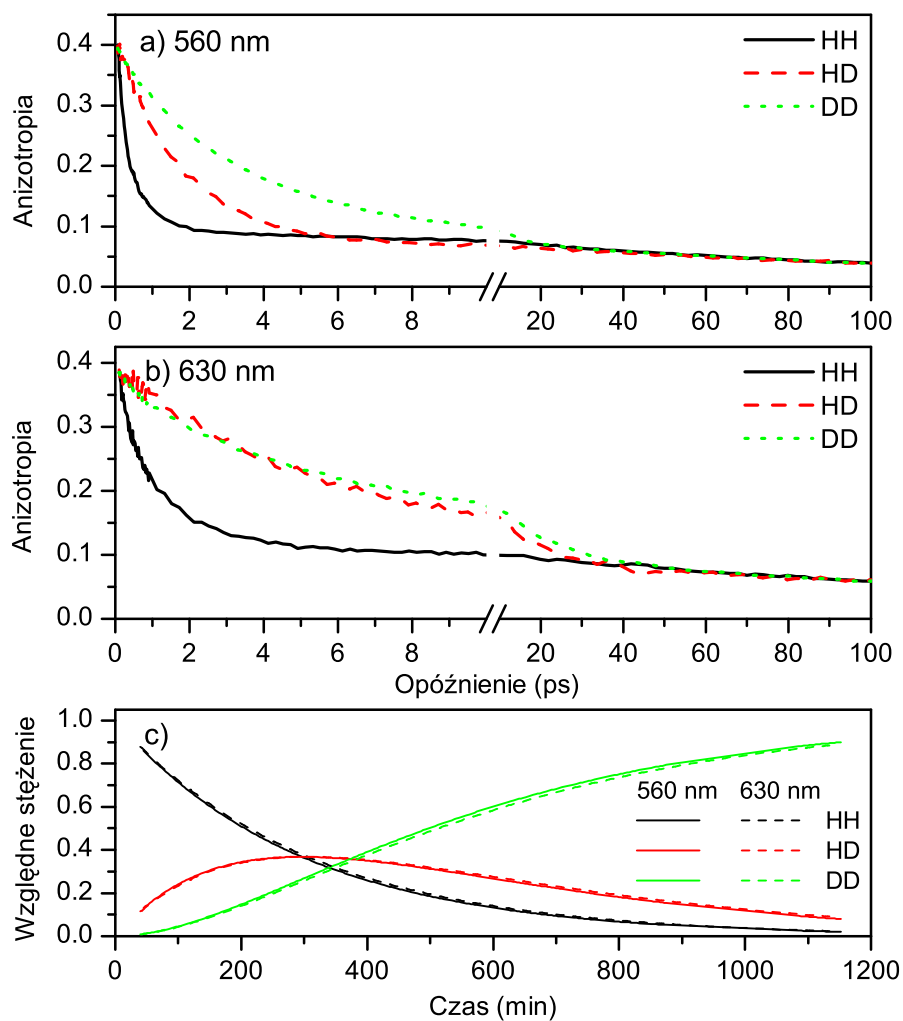
Reakcja deuterowania PC i TTPC przebiega niezwykle wolno, co świadczy o bardzo słabym oddziaływaniu wewnętrznych atomów wodoru ze środowiskiem. Nie ma na to większego wpływu obecność grup t -butylowych w TTPC, które mogłyby



Rysunek 5.26: Porównanie krzywych opisujących zmiany anizotropii przy zadanym opóźnieniu pomiędzy impulsami pompującymi i sondującymi wynikających z modeli opisanych równaniami 5.41 (linie ciągłe) i 5.59 (linie przerywane) z wynikami doświadczenia (punkty)



Rysunek 5.27: a) Odtworzone z pomiarów PC w BuOD kinetyki anizotropii absorpcji przejściowej dla form o różnym stopniu zdeuterowania (wiersze P_{opt}) przy centralnej długości fali impulsów laserowych równej 555 nm. b) Zależność względnego stężenia form o różnym stopniu zdeuterowania od czasu (kolumny **X**)



Rysunek 5.28: a, b) Odtworzone z pomiarów TTPC w EtOD kinetyki anizotropii absorpcji przejściowej dla form o różnym stopniu zdeuterowania (wiersze P_{opt}) przy centralnej długości fali impulsów laserowych równej 560 nm (a) i 630 nm (b). c) Zależność względnego stężenia form o różnym stopniu zdeuterowania od czasu (kolumny X)

Tabela 5.9: Wybrane parametry globalnego dopasowania pomiarów anizotropii PC w BuOD i TTPC w EtOD wykonywanych w różnym czasie po przygotowaniu roztworu. λ – długość fali impulsów laserowych; n – liczba różnych opóźnień, dla których analizowano wyniki; t_1 – minimalne opóźnienie pomiędzy impulsami pompującymi i sondującymi uwzględnione w dopasowaniu globalnym; t_n – maksymalne opóźnienie, dla którego wykonano pomiary; N – liczba kinetyk uwzględnionych w dopasowaniu globalnym; T_1 – czas, jaki upłynął od przygotowania roztworu do rozpoczęcia pomiarów; T_N – czas, jaki upłynął od przygotowania roztworu do wykonania ostatniego pomiaru; k – stała szybkości reakcji zastąpienia atomu wodoru atomem deuteru.

	λ (nm)	n	t_1 (fs)	t_n (ps)	N	T_1 (min)	T_N (min)	k (10^{-5} s^{-1})
PC	555	154	90	102	292	30	1400	5.2 ± 1.1
TTPC	560	142	150	102	231	45	1150	5.6 ± 1.0
TTPC	630	135	185	102	257	40	1135	5.5 ± 1.2

osłaniać wewnątrz cząsteczki TTPC przed cząsteczkami rozpuszczalnika, gdyż szybkość reakcji w „gołej” PC jest bardzo podobna. Wyniki te mają zasadnicze znaczenie dla planowania badań efektu izotopowego w porficynach, gdyż jeśli deuterowanie cząsteczek ma zostać przeprowadzone poprzez rozpuszczenie ich w deuterowanym rozpuszczalniku, to roztwory muszą zostać przygotowane kilkadziesiąt godzin przed właściwymi pomiarami. Powszechna i skuteczna w wielu innych przypadkach praktyka wykonywania roztworów bezpośrednio przed rozpoczęciem eksperymentu może doprowadzić do wyciągnięcia błędnych wniosków, że efekt izotopowy nie występuje, gdyż pomiary zostaną przeprowadzone zanim znaczącą liczbą badanych cząsteczek ulegnie deuteracji.

Pomiary anizotropii w roztworze cząsteczek o różnym stopniu zdeuterowania i analiza globalna teoretycznie pozwalają na odtworzenie kinetyk anizotropii dla formy jednokrotnie zdeuterowanej (HD), niedostępnych bezpośrednim pomiarami. Jest to wielka zaleta tej metody, gdyż modele teoretyczne reakcji przeniesienia atomów wodoru w porficynie przewidują istotnie różne stałe szybkości reakcji dla formy (HD) w zależności od tego, czy przeniesienie obu atomów zachodzi jednocześnie, czy sekwencyjnie, poprzez formę *cis*.⁷³ W przypadku reakcji jednoczesnej zachowanie formy (HD) jest zbliżone do (DD), natomiast dla reakcji sekwencyjnej stała szybkości przeniesienia protonów w formie (HD) leży pomiędzy wartościami obliczonymi dla form (HH) i (DD).

Do wyznaczonych w opisywanych doświadczeniach zaników anizotropii dla cząsteczek PC(HD) i TTPC(HD) należy jednak podchodzić bardzo ostrożnie. O ile kinetyki form (HH) i (DD) wyznaczone za pomocą analizy globalnej można niezależnie sprawdzić poprzez porównanie z wynikami otrzymanymi dla cząsteczek rozpuszczonych w rozpuszczalniku niedeuterowanym i deuterowanym, po długim czasie od wykonania roztworu, to dopasowanie globalne jest jedynym źródłem infor-

macji o kinetyce formy (HD). Co ważniejsze, jej wiarygodne wyznaczenie wymaga danych o bardzo wysokim stosunku sygnału do szumu, gdyż udział formy (HD) w ogólnej liczbie badanych cząsteczek nigdy nie przekracza 40% (Rys. 5.27 (b) i 5.28 (c)), a przez większość czasu jest znacznie mniejszy. Oznacza to, że w łącznym sygnale anizotropii kinetyka tej formy jest niewielkim dodatkiem do kinetyk pozostałych dwóch form. Niezbędna jest więc wysoka stabilność układu doświadczalnego przez cały czas trwania pomiaru – kilkadziesiąt godzin. Tego warunku nie spełnia, niestety, wykorzystany w tej pracy wzmacniacz ultrakrótkich impulsów laserowych. Zarówno energia impulsów jak i położenie wiązki laserowej zmieniają się w czasie pojedynczych godzin, a stabilność „od impulsu do impulsu” maleje znacząco po kilkunastu godzinach pracy. Zmiany te nie są na tyle duże, by uniemożliwiać inne doświadczenia, jednak przeprowadzone symulacje wykazały, że są dostateczne, aby wpływać na kształt otrzymywanej z dopasowania globalnego kinetyki formy (HD). Dlatego pokazanych na Rysunkach 5.27 i 5.28 krzywych nie będziemy szczegółowo analizować, podkreślimy jedynie konieczność powtórzenia doświadczeń w układzie o lepszej stabilności. Współczesne wzmacniacze femtosekundowe, pompowane laserami typu DPSS*, o znacznie mniejszych wymiarach niż omawiany układ (pompowany laserem lampowym), są o wiele mniej wrażliwe na zmiany temperatury i ich stabilność powinna być wystarczająca, by umożliwić wiarygodne wyznaczenie opisaną metodą kinetyki anizotropii dla jednokrotnie deuterowanej porficyny i jej pochodnych.

Stałe szybkości tautomeryzacji PC i TTPC w formach (HH) i (DD) wyznaczono z pomiarów wykonanych niezależnie w roztworach alkoholi deuterowanych i niedeuterowanych. Dzięki temu można było uzyskać krzywe doświadczalne uśrednione po wielu skanach linii opóźniającej, o wyższym stosunku sygnału do szumu niż analogiczne krzywe odtworzone za pomocą analizy globalnej i całkowicie z nimi zgodne. Zastosowana procedura była identyczna do opisanej w rozdziale 5.5. Otrzymane w jej wyniku wartości czasów przeniesienia protonów i stałych szybkości zebrane są w Tabeli 5.10. Ponieważ dla TTPC wykonane zostały pomiary w dwóch różnych rozpuszczalnikach, a wyniki dopasowania dla każdego z nich nie różniły się istotnie, ostateczne stałe szybkości tautomeryzacji zostały wyznaczone poprzez jednoczesne dopasowanie funkcji do dwóch zestawów danych, w EtOH i BuOH oraz EtOD i BuOD (ze względu na różną lepkość tych rozpuszczalników czas korelacji rotacyjnej nie był uwspólnionym parametrem dopasowania). Dopasowane krzywe wraz z wynikami doświadczeń pokazane są na Rysunkach 5.29 i 5.30.

Zwraca uwagę nieco większa szybkość tautomeryzacji obu cząsteczek wyznaczona w roztworach w EtOH i BuOH niż uprzednio w glikolu etylenowym. Powodem może być zmiana własności środowiska, w którym cząsteczki się znajdują, bowiem oddziaływanie z cząsteczkami rozpuszczalnika zmienia dynamicznie potencjał „widziany” przez wewnętrzne atomy wodoru. Nie da się jednak całkowicie wykluczyć, że jest to artefakt wynikający z nieuwzględnienia dwuwykładniczego zaniku anizotropii wskutek dyfuzji rotacyjnej, choć przeczy temu fakt, iż skrócenie czasów przeniesienia protonów jest zbliżone w obu cząsteczkach, mimo znacznie wolniejszej

* *Diode Pumped Solid State*

Tabela 5.10: Czasy przeniesienia protonów w stanach S_0 (τ_{PT}^0) i S_1 (τ_{PT}^1) i stałe szybkości tautomerizacji (odpowiednio k_{PT}^0 i k_{PT}^1) w PC i TTPC w temperaturze pokojowej, w deuterowanych i niedeuterowanych alkoholach. Dwa ostatnie wiersze tabeli zawierają wyniki jednoczesnego dopasowania kinetyk zarejestrowanych w etanolu i butanolu.

Cząst.	Rozp.	τ_{PT}^0 (ps)	τ_{PT}^1 (ps)	k_{PT}^0 (10^{11} s^{-1})	k_{PT}^1 (10^{11} s^{-1})
PC	BuOH	1.30 ± 0.03	8.0 ± 0.3	7.7 ± 0.2	1.25 ± 0.05
	BuOD	5.6 ± 0.2	39 ± 3	1.8 ± 0.1	0.25 ± 0.02
TTPC	EtOH	0.48 ± 0.01	3.0 ± 0.1	21 ± 1	3.3 ± 0.1
	EtOD	4.8 ± 0.1	27 ± 2	2.1 ± 0.1	3.7 ± 0.3
	BuOH	0.50 ± 0.01	2.9 ± 0.1	20 ± 1	3.4 ± 0.1
	BuOD	3.5 ± 0.1	22 ± 1	2.9 ± 0.1	0.45 ± 0.02
	EtOH BuOH	0.50 ± 0.01	3.0 ± 0.1	20 ± 1	3.3 ± 0.1
	EtOD BuOD	4.0 ± 0.1	23 ± 1	2.5 ± 0.1	0.43 ± 0.02

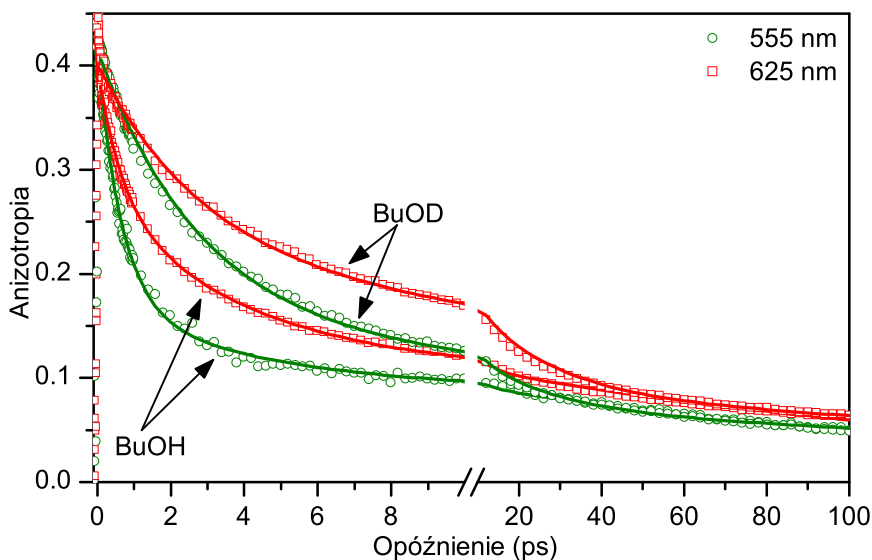
rotacji TTPC. Ponadto w przypadku TTPC efekt ten jest praktycznie identyczny w obu alkoholach, mimo ich różnej lepkości. Wyjaśnienie wymagałoby systematycznych badań wpływu rozpuszczalnika na tautomerizację porficyn w roztworach, a te są, niestety, bardzo utrudnione, gdyż jedynie w środowiskach o dużej lepkości szybkość reakcji może być dobrze zmierzona.

Spadek szybkości tautomerizacji spowodowany efektem izotopowym jest w obu badanych cząsteczkach kilkukrotny (w PC blisko dwa razy mniejszy niż w TTPC, Tabela 5.11). Oznacza to, że nawet w temperaturze pokojowej udział tunelowania w reakcji jest znaczący, co zgadza się z przypuszczeniem, że bariera potencjału jest wysoka w porównaniu z energią drgania promującego przeniesienie protonów poprzez modulację odległości pomiędzy atomami azotu.

Tabela 5.11: Stosunek szybkości tautomerizacji form (HH) i (DD) w stanach S_0 i S_1 dla PC i TTPC w roztworze w temperaturze pokojowej.

Cząsteczka	S_0	S_1
PC	4.3 ± 0.3	5.0 ± 0.4
TTPC	8.0 ± 0.5	7.7 ± 0.4

Pozytywny rezultat przeprowadzonych doświadczeń wskazuje na celowość przeprowadzenia dalszych pomiarów, najlepiej w deuterowanym glikolu etylenowym lub innym rozpuszczalniku, bardziej lepkiem niż użyte lekkie alkohole. Jeśli pomiary takie zostaną wykonane w układzie o wysokiej stabilności długoczasowej, to możliwe

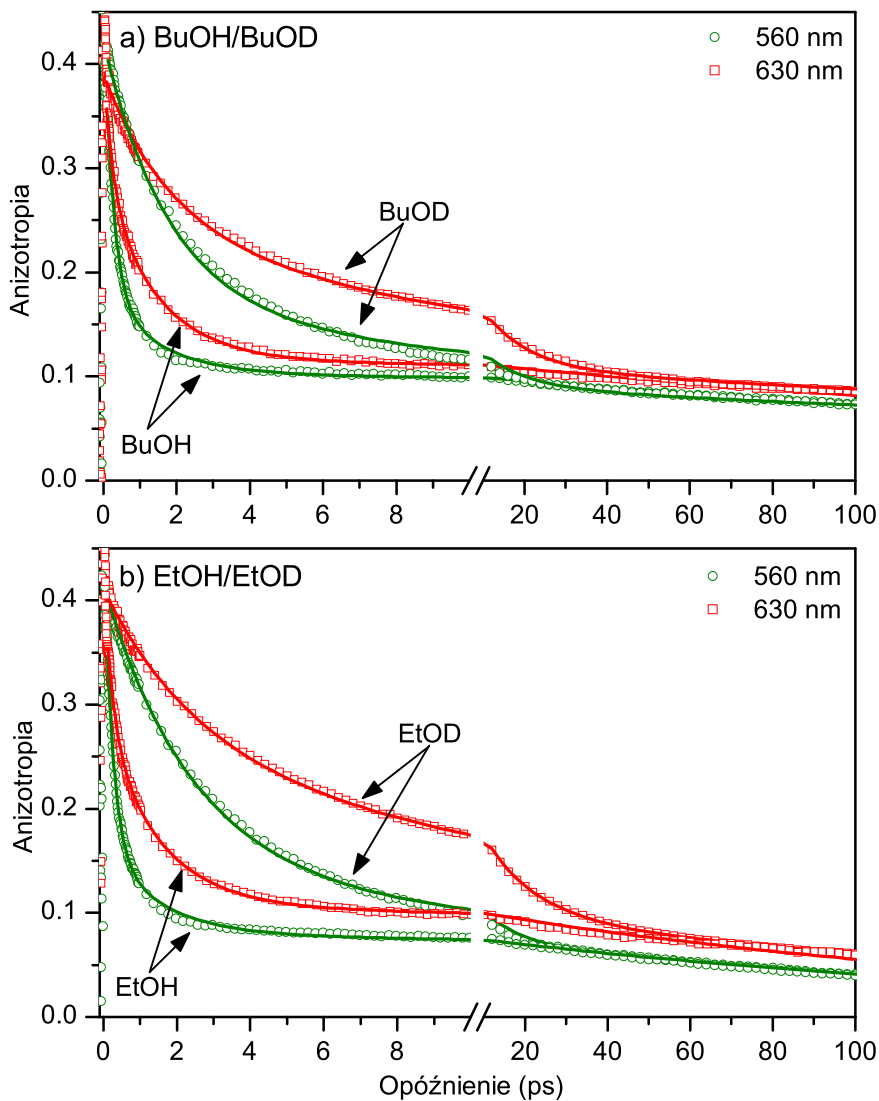


Rysunek 5.29: Zaniki anizotropii absorpcji przejściowej w PC w roztworach w BuOH i BuOD w temperaturze pokojowej wraz z dopasowanymi krzywymi.

będzie wyznaczenie stałych szybkości tautomerizacji w jednokrotnie zdeuterowanych cząsteczkach, ważnych ze względu na ich silną zależność od mechanizmu reakcji. By powiększyć zbiór danych, które można porównać z wynikami obliczeń warto również przeprowadzić pomiary w różnych temperaturach, najlepiej w szerokim zakresie temperatur, co wymaga jedynie użycia odpowiedniego kriostatu.

Wyniki badań efektu izotopowego w pochodnych porficyny, PCRC i CMPC, za pomocą technik czasowo-rozdzielczych zostały przedstawione w pracy [92]. Jej autorzy wykonali pomiary kinetyk fluorescencji z femtosekundową zdolnością rozdzielczą przy kącie magicznym w formach (HH) i (DD) przy różnych długościach fali po wzbudzeniu cząsteczek w pasmie Soret. W doświadczeniach tych nie zaobserwowano żadnych zmian wywołanych deuterowaniem i na tej podstawie stwierdzono, że tautomerizacja zarówno w formie (HH) jak i (DD) w stanie S_1 zachodzi w czasie krótszym niż rozdzielczość czasowa układu pomiarowego, 50 fs. Wniosek ten jest sprzeczny z wyznaczonym z pomiarów zaniku anizotropii absorpcji przejściowej czasem przeniesienia protonów w stanie wzbudzonym w cząsteczkach niedeuterowanych wynoszącym ok. 500 fs (Rozdział 5.6).

Należy więc przypuszczać, że deuterowanie nie wpływa na kinetyki fluorescencji przy kącie magicznym, a jedynie na kinetyki jej anizotropii, która w omawianych



Rysunek 5.30: Zaniki anizotropii absorpcji przejściowej w TTPC w roztworach w BuOH i BuOD (a) oraz EtOH i EtOD (b) w temperaturze pokojowej wraz z dopasowanymi krzywymi.

doświadczeniach nie była rejestrowana. Nie jest to zaskakujący wniosek, gdyż silna zależność czasu życia stanu wzbudzonego od lepkości rozpuszczalnika w PCRC i CMPC sugeruje, że energia wzbudzenia rozpraszana jest przy udziale drgań o dużej amplitudzie całego szkieletu cząsteczki,⁹² a te prawdopodobnie bardzo słabo zależą od atomów wodoru znajdujących się we wnętrzu.

Alternatywnym wytłumaczeniem jest brak wpływu deuterowania na szybkość tautomerizacji PCRC i CMPC, jednak wydaje się to mało prawdopodobne w świetle pomiarów PC i TTPC, gdzie spowolnienie reakcji jest duże. Nie można również wyjaśnić braku obserwacji efektu izotopowego w PCRC i CMPC przedwczesnym pomiarem, przed całkowitym zdeuterowaniem cząsteczek, gdyż autorzy monitorowali widma absorpcji stacjonarnej, które różnią się nieznacznie dla form (HH) i (DD).

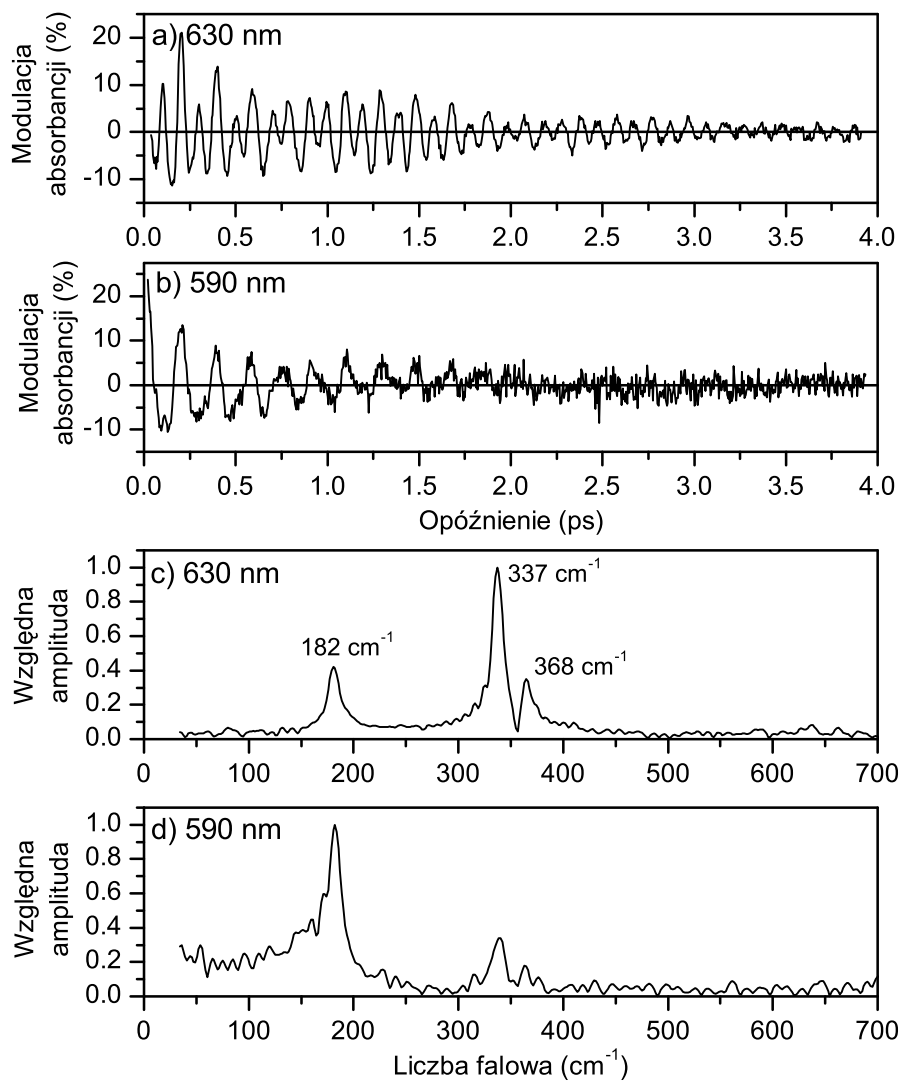
Na zakończenie opisu badań efektu izotopowego w PC i TTPC warto jeszcze zauważyć, że w jednym doświadczeniu zmierzono dwie analogiczne wielkości, stałą szybkości wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia protonów i stałą szybkości przeniesienia protonów i deuteronów pomiędzy cząsteczkami PC lub TTPC i cząsteczkami rozpuszczalnika, a wyznaczone wartości różnią się o 17 rzędów wielkości.

5.8 Oscylacje absorpcji przejściowej

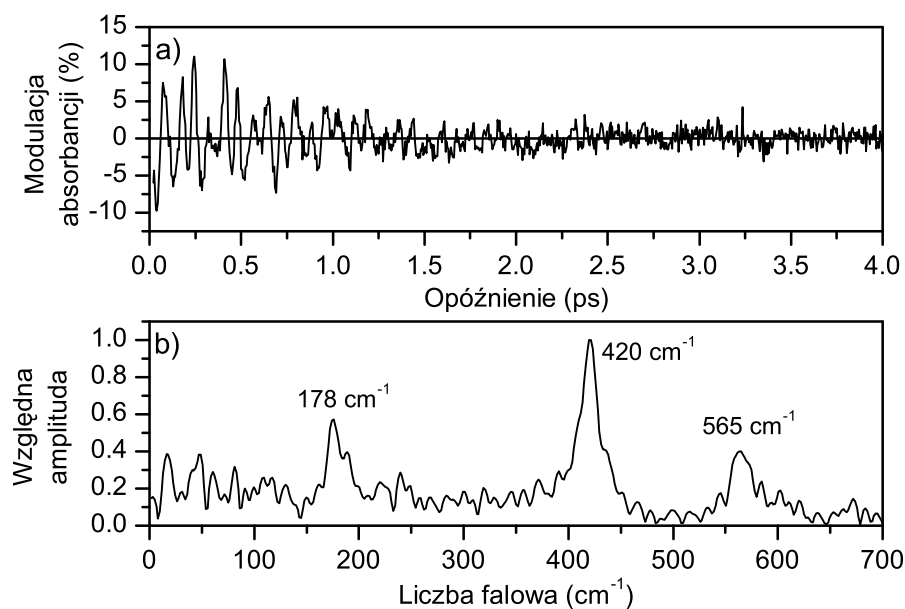
W kinetykach absorpcji przejściowej dla PC i TTPC mierzonych przy wzbudzeniu do stanu S_1 lub S_2 , bez dużego nadmiaru energii oscylacyjnej, wyraźnie widoczne są oscylacje sygnału dla niedużych opóźnień. Można je było zauważyć na Rysunkach 5.12 i 5.19, wówczas jednak odłożyliśmy ich omówienie do niniejszego rozdziału. By lepiej się im przyjrzeć wykonane zostały odrębne pomiary absorpcji przejściowej w zakresie opóźnień do kilku pikosekund, z krokiem czasowym 5 fs, a wysoką rozdzielczość czasową uzyskano wykonując pomiary w kuwecie o grubości 1 mm. Ponieważ w omawianych teraz doświadczeniach nie miała znaczenia szybkość dyfuzji rotacyjnej, za to wymagany był wysoki stosunek sygnału do szumu, badane związki rozpuszczono w acetonitrylu lub alkoholu metylowym, co pozwoliło uzyskać stężenia znacznie większe niż osiągalne w glikolu. Oscylacje o amplitudzie wyraźnie większej niż poziom szumów zaobserwowano jedynie w PC i TTPC, po wzbudzeniu w dwóch pasmach Q o najniższej energii (630 nm i 590 nm).

W celu oddzielenia oscylacji od zmian absorpcji spowodowanych zanikiem stanu wzbudzonego dopasowano do zmierzonych kinetyk absorpcji przejściowej funkcje jednowykładnicze. Następnie podzielono kinetyki doświadczone przez dopasowane funkcje i od rezultatu dzielenia odjęto 1, otrzymując krzywe mówiące o głębokości modulacji sygnału (Rys. 5.31 (a, b) i 5.32 (a)).

Modulacja absorpcji przejściowej wynosi kilkanaście procent dla małych opóźnień i stosunkowo powoli maleje, tak, że nawet dla opóźnień większych niż 3 ps jest wciąż widoczna w przypadku PC wzbudzanej impulsami o długości fali 630 nm. Nieregularne zmiany sygnału wskazują, że uczestniczą w nim co najmniej 2 drgania o różnych częstościach. Potwierdzają to widma oscylacji obliczone za pomocą transformaty Fouriera, które zarówno dla PC jak i TTPC ujawniają obecność 3 różnych drgań (Rys. 5.31 (c, c) i 5.32 (b)). Ich częstości wyznaczone zostały poprzez



Rysunek 5.31: Krzywe opisujące modulację absorpcji przejściowej PC po wzbudzeniu impulsami o centralnej długości fali 630 nm (a) i 590 nm (b) oraz ich transformaty Fouriera (c, d).



Rysunek 5.32: Krzywa opisująca modulację absorpcji przejściowej TTPC po wzbudzeniu impulsami o centralnej długości fali 630 nm (a) oraz jej transformata Fouriera (b)

dopasowanie do widm funkcji Lorentza; okresy drgań i odpowiadające im wartości liczby falowej zebrane są w Tabeli 5.12. Te ostatnie w przypadku PC są bardzo bliskie liczbom falowym drgań cząsteczki wyznaczonym na podstawie widm absorpcji zmierzonych w matrycach gazów szlachetnych i azotu,⁷⁴ wynoszących, odpowiednio, 178–181 cm^{-1} , 335–341 cm^{-1} , 360–363 cm^{-1} oraz w wiązce molekularnej⁸³ (178 cm^{-1} , 341 cm^{-1} i 364 cm^{-1}).

Dzięki temu łatwo jest zinterpretować obserwowane oscylacje jako przejaw ewolucji pakietu falowego wzbudzonego ultrakrótkim impulsem światła o widmie dostatecznie szerokim, by objąć kilka-kilkanaście poziomów oscylacyjnych drgań o niskiej częstotliwości (Rozdział 2.5). Zjawisko to było wielokrotnie obserwowane w czasowo-rozdzielczych badaniach przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym.^{39, 40, 43} Tutaj są jednak dwie możliwości — drgania te mogą być wywołane wprost w stanie wzbudzonym lub w stanie podstawowym, poprzez proces ramanowski. Trudno je odróżnić na podstawie częstotliwości drgań, gdyż są one bardzo zbliżone.⁷⁴ Prawdopodobnie do obserwowanych oscylacji przyczyniają się drgania w obu stanach elektrowych, jednak z większym udziałem stanu wzbudzonego, gdyż proces ramanowski

Tabela 5.12: Okresy drgań obserwowanych w kinetykach absorpcji przejściowej PC i TTPC (T), odpowiadające im liczby falowe (ν) i liczby falowe drgań obserwowanych w wiązce molekularnej⁸³ (ν_{mol}).

Cząsteczka	$T(\text{fs})$	$\nu(\text{cm}^{-1})$	$\nu_{mol}(\text{cm}^{-1})$
PC	183.5 ± 0.3	181.7 ± 0.3	178
	98.8 ± 0.1	337.3 ± 0.1	341
	90.7 ± 0.1	367.7 ± 0.3	364
TTPC	187.3 ± 0.7	178.0 ± 0.7	
	79.4 ± 0.1	420.0 ± 0.3	
	59.0 ± 0.1	565.3 ± 0.7	

ma znacznie mniejszą wydajność niż bezpośrednie wzbudzenie optyczne.

Przypuszczenie to można dodatkowo potwierdzić porównując czasy spójności drgań obserwowanych po wzbudzeniu do stanów S_2 i S_1 . Czasy te wyznaczono dopasowując do krzywych opisujących modulacje absorpcji funkcje postaci

$$\Delta A = \exp\left(-\frac{t}{t_c}\right) \sum_{i=1}^N C_i \sin\left(2\pi \frac{t}{T_i} + \phi_i\right), \quad (5.60)$$

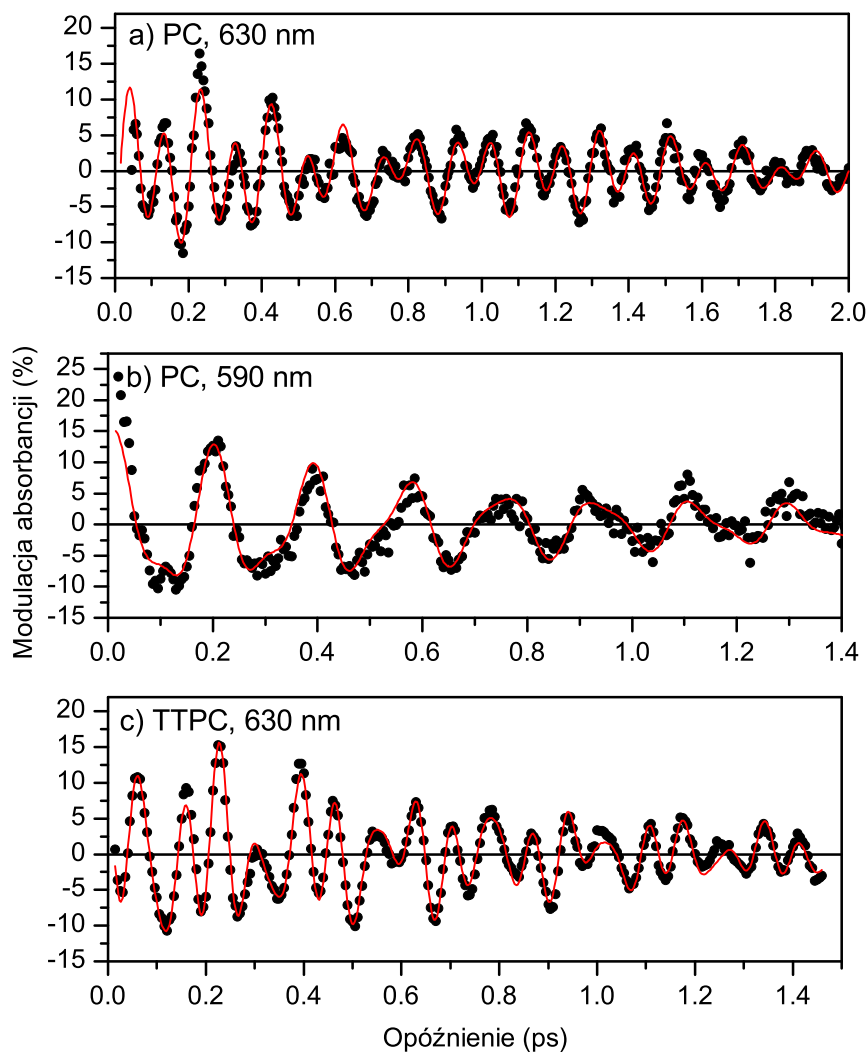
gdzie czas spójności t_c oraz współczynniki C_i i fazy ϕ_i były parametrami dopasowania, natomiast okresy drgań T_i zostały ustalone za pomocą transformaty Fouriera. Dopasowane funkcje wraz z krzywymi doświadczalnymi pokazane są na Rys. 5.33.

Czas spójności drgań jest w przypadku PC równy (1.59 ± 0.04) ps, jeśli cząsteczki wzbudzane są impulsami o centralnej długości fali 630 nm i maleje do (850 ± 50) ps, gdy centralna długość fali impulsów wzrasta do 590 nm. Jest to zrozumiałe, jeśli oscylacje zachodzą w stanie wzbudzonym, gdyż wówczas dostarczony nadmiar energii oscylacyjnej sprzyja szybszej dekoherencji. Nie ma natomiast powodu, by czas spójności drgań wzbudzonych w procesie ramanowskim w stanie podstawowym zależał od centralnej długości fali impulsu, przy zachowanej szerokości widma.

Drgania obserwowane w TTPC po wzbudzeniu do stanu S_1 zanikają blisko dwukrotnie szybciej niż w PC ($t_c = (870 \pm 50)$ ps). Przyczyna leży zapewne w znacznie większej liczbie drgań własnych tej cząsteczki, co podobnie jak nadmiar energii oscylacyjnej sprzyja utracie spójności.

Drganie o najniższej energii spośród obserwowanych w PC przypisano na podstawie opisywanych wcześniej pomiarów anizotropii fluorescencji promującą rolę w procesie tautomeryzacji.⁷⁹ Zbliża ono do siebie atomy azotu, pomiędzy którymi przenoszony jest proton, zwiększając siłę wiązania wodorowego (Rys. 5.34(a)). Obserwowana w absorpcji przejściowej ewolucja pakietu falowego wzbudzonego w tym drganiu wskazuje, że o ile w przypadku reakcji w stanie S_0 jest ono aktywowane termicznie, to na przeniesienie protonów w stanie S_1 ma wpływ optyczne wzbudzenie tego drgania.

Nie określono roli pozostałych obserwowanych drgań (Rys. 5.34(b, c)) w procesie tautomeryzacji PC. Jedno z nich (341 cm^{-1}) również zmienia nieco wzajemną

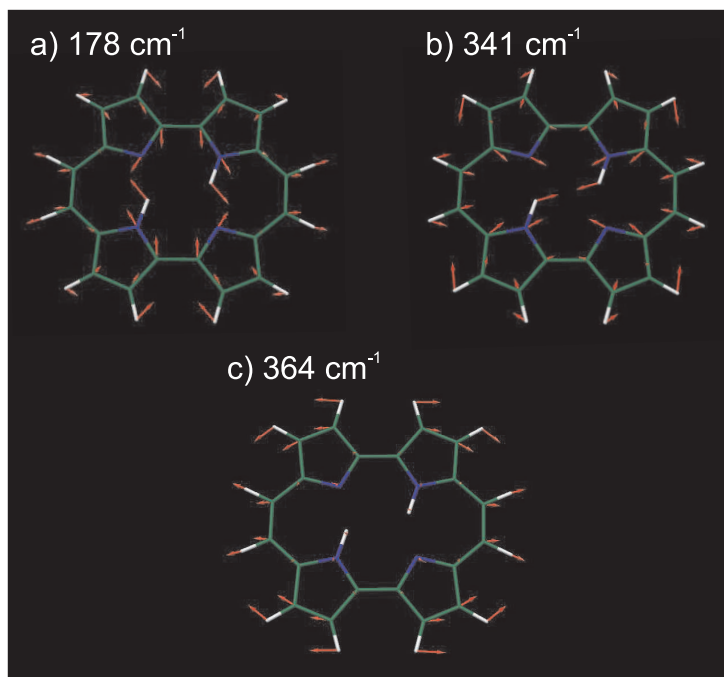


Rysunek 5.33: Dopasowanie oscylacji w kinetykach absorpcji przejściowej PC (a, b) i TTPC (c) za pomocą sumy trzech drgań zanikających wykładniczo.

odległość atomów azotu, drugie natomiast (364 cm^{-1}) wychyla je nieco z płaszczyzny cząsteczki, mogąc jedynie osłabiać wiązanie wodorowe.

Można oczekiwać, że ewolucja pakietu falowego będzie modulowała prawdopodobieństwo tautomeryzacji, sprawiając, że na krzywej opisującej zanik anizotropii pojawiają się „schodki”, które będą bardziej strome, gdy odległość pomiędzy atomami azotu zmniejsza się i bardziej płaskie, gdy wzrasta. Taka modulacja, jeśli rzeczywiście zachodzi, jest bardzo niewielka. Precyzyjne pomiary anizotropii dla małych opóźnień pokazały, że w przypadku PC jest ona maskowane inną modulacją, która dokładnie odzwierciedla modulację widoczną w sygnale absorpcji przejściowej. Najprawdopodobniej jest to artefakt wynikający z niedoskonałości układu pomiarowego lub skutek absorpcji ze stanu wzbudzonego.

Podobnie jest dla TTPC, tu jednak modulacja anizotropii zachodzi przede wszystkim z częstością odpowiadającą drganiu o najniższej energii, co mogłoby potwierdzać wpływ ewolucji pakietu falowego na prawdopodobieństwo tautomeryzacji. Efekt ten jest jednak zbyt mały, by przywiązywać do niego wagę. Ponadto ze względu na o wiele bardziej skomplikowaną strukturę widm elektronowo-oscylacyjnych nie są obecnie dostępne dane na temat drgań własnych TTPC, z którymi można by porównać otrzymane wyniki i utożsamić obserwowane częstości z konkretnymi drganiami.



Rysunek 5.34: Obliczone za pomocą metody B3LYP/6-31G(d,p) drgania własne cząsteczki PC, których częstotliwości odpowiadają częstotliwościom oscylacji w kinetykach absorpcji przejściowej.⁹³ Podane liczby falowe zostały wyznaczone na podstawie pomiarów w wiązce molekularnej.⁸³

Rozdział 6

Podsumowanie

W pracy przedstawiono wyniki czasowo-rozdzielczych badań spektroskopowych porficyny i jej wybranych pochodnych. Pomiary absorpcji przejściowej porficyny, w których zmiany gęstości optycznej roztworu po wzbudzeniu optycznym próbkowane były impulsami światła białego pozwoliły scharakteryzować procesy relaksacji oscylacyjnej i konwersji wewnętrznej. Uzyskane rezultaty wykorzystano, by zaplanować pomiary anizotropii absorpcji przejściowej, w których zmiany absorbancji próbkowane były impulsami *quasi-monochromatycznymi*. Celem tych doświadczeń było wyznaczenie szybkości przeniesienia wewnętrznych atomów wodoru w badanych cząsteczkach zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym.

Wyniki potwierdzają wniosek wyciągnięty z rezultatów pomiarów anizotropii fluorescencji stacjonarnej, iż proces przeniesienia protonów w cząsteczkach w roztworze przebiega kilka rzędów wielkości szybciej niż w kryształach. Zebrane dane pozwolą zweryfikować istniejące modele tej reakcji.

Zbadano także zależność szybkości tautomeryzacji porficyny od temperatury w przedziale wokół 0°C. Porównanie stałych szybkości reakcji w tym zakresie temperatur z wynikami uzyskanymi inną metodą dla temperatur niższych od 200 K wskazuje na złożoność mechanizmu tautomeryzacji. Zachodzi ona dwoma różnymi kanałami, ale być może także jest hamowana w wyższych temperaturach przez aktywowane termicznie mody drgań niskiej częstości. Rezultat tego doświadczenia wskazuje na konieczność wykonania dokładnych pomiarów w zakresie temperatur 100-300 K, które mogą dostarczyć interesujących informacji na temat wpływu drgań szkieletu cząsteczki na przebieg reakcji.

Scharakteryzowano również wpływ efektu izotopowego na szybkość reakcji, wykonując pomiary anizotropii absorpcji przejściowej dwóch spośród badanych cząsteczek rozpuszczonych w deuterowanych alkoholach. Stwierdzono przy tym, że wymiana wewnętrznych protonów na deuterony przebiega niezwykle wolno (ponad 20 godzin), co świadczy o słabym oddziaływaniu zlokalizowanych wewnątrz cząsteczki atomów wodoru z otoczeniem. Ciągła rejestracja kinetyk anizotropii w czasie procesu deuterowania umożliwiła wyznaczenie stałych szybkości poszczególnych etapów tej reakcji. Zastąpienie obu atomów wodoru atomami deuteru prowadzi do kilkukrotnego wydłużenia czasu tautomeryzacji, z czego można wyciągnąć wniosek, że

nawet w temperaturze pokojowej prawdopodobieństwo tunelowania jest znaczące w porównaniu z prawdopodobieństwem reakcji zachodzącej wskutek przeniesienia atomów ponad barierą potencjału. Dokładna analiza kinetyk anizotropii zarejestrowanych w roztworze cząsteczek, które nie uległy jeszcze pełnemu zdeuterowaniu wskazuje, że jeśli doświadczenie takie zostanie przeprowadzone przy użyciu układu laserowego o wysokiej stabilności długoczasowej, to możliwe będzie wyznaczenie szybkości tautomerizacji w cząsteczce, w której tylko jeden wewnętrzny proton zastąpiony został deuteronom.

W dwóch cząsteczkach zaobserwowano oscylacje absorpcji przejściowej dla małych opóźnień pomiędzy impulsami pompującymi i sondującymi. W przypadku porficyny ich częstość jest zbliżona do częstości drgań szkieletu cząsteczki zmierzonych w wiązce molekularnej. Na tej podstawie zinterpretowano obserwowane oscylacje jako przejaw ewolucji pakietów falowych wzbudzonych krótkim impulsem pompującym o szerokim widmie.

W pracy omówiono także zastosowane techniki pomiarowe i przedstawiono szczegółowo układy zbudowane w celu przeprowadzenia opisanych doświadczeń. Zwrócono też dużą uwagę na procedury wykorzystane podczas opracowywania wyników, szczególnie na analizę globalną, która okazała się cennym narzędziem wspomagającym interpretację nie tylko widm absorpcji przejściowej ale także kinetyk anizotropii mierzonych w roztworze zawierającym cząsteczki o różnym stopniu zdeuterowania.

Dodatek

W Rozdziale 4 skorzystano z nierówności

$$\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma} \mathbf{E}^T (\mathbf{E} \mathbf{E}^T)^{-1} \mathbf{E} \boldsymbol{\Sigma}^T] < \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \boldsymbol{\Sigma}],$$

a w Rozdziale 5 z nierówności

$$\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \mathbf{X} (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \boldsymbol{\Sigma}] < \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \boldsymbol{\Sigma}],$$

by pokazać, że macierz odtworzona w wyniku dopasowania globalnego zawiera mniej szumów niż bezpośredni wynik pomiaru.

W obu tych nierównościach $\boldsymbol{\Sigma}$ jest macierzą kwadratową $m \times m$ o dowolnych elementach, a $\mathbf{E}$ i $\mathbf{X}$ to macierze prostokątne, przy czym rozmiar $\mathbf{E}$ to $n \times m$, a rozmiar $\mathbf{X}$ to $m \times n$, gdzie $m > n$ ($\mathbf{E}$ jest „pozioma”, a $\mathbf{X}$ „pionowa”). Dlatego też pierwsza nierówność sprowadza się do drugiej przez proste podstawienie $\mathbf{E}' = \mathbf{E}^T$ i $\boldsymbol{\Sigma}' = \boldsymbol{\Sigma}^T$. Wiersze $\mathbf{E}$ i kolumny $\mathbf{X}$ są liniowo niezależne.

Znajdźmy wartości własne λ operatora $\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T$. Równanie własne ma postać:

$$\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T x = \lambda x$$

Pomnóżmy je z lewej strony przez $\mathbf{X}^T$,

$$\mathbf{X}^T \mathbf{X} (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T x = \lambda \mathbf{X}^T x,$$

otrzymując, po uproszczeniu, równanie

$$\mathbf{X}^T x = \lambda \mathbf{X}^T x,$$

z którego wynika, że niezerowe wartości własne są równe 1. Ich liczbę znajdziemy obliczając ślad $\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T$, gdyż jest on niezależny od bazy, a więc taki jak liczba wartości własnych równych 1, bo

$$\text{Tr} [\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T] = \text{Tr} [\text{diag}(1, \dots, 1, 0, \dots, 0)],$$

gdzie $\text{diag}(\lambda_i)$ oznacza macierz diagonalną o wartościach λ_i na głównej przekątnej, a $\text{diag}(1, \dots, 1, 0, \dots, 0)$ jest postacią $\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T$ w bazie diagonalizującej.

Korzystając z faktu, że $\text{Tr}[\mathbf{AB}] = \text{Tr}[\mathbf{BA}]$ możemy łatwo obliczyć

$$\text{Tr} [\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T] = \text{Tr} [\mathbf{X}^T \mathbf{X} (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1}] = \text{Tr} [\text{id}_n] = n,$$

gdzie id_n oznacza macierz jednostkową $n \times n$. Zatem tylko n wartości własnych jest różnych od 0, podczas gdy rozmiar $\mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T$ to $m \times m$.

Ponownie korzystając z własności śladu, dostajemy

$$\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \boldsymbol{\Sigma}] = \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma} \boldsymbol{\Sigma}^T \text{diag}(1, \dots, 1, 0, \dots, 0)] < \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma} \boldsymbol{\Sigma}^T \text{id}_m],$$

gdyż wartości na diagonalu $\boldsymbol{\Sigma} \boldsymbol{\Sigma}^T$ są dodatnie (są to sumy kwadratów elementów $\boldsymbol{\Sigma}$). Ponieważ

$$\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma} \boldsymbol{\Sigma}^T \text{id}_m] = \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma} \boldsymbol{\Sigma}^T] = \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \boldsymbol{\Sigma}],$$

to ostatecznie

$$\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \boldsymbol{\Sigma}] < \text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \boldsymbol{\Sigma}],$$

co należało pokazać.

Jeśli $\boldsymbol{\Sigma}$ zawiera wartości losowe, tak jak w przypadku szumu w pomiarach absorpcji przejściowej, to można także oszacować, że dla dużych m

$$\frac{\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \mathbf{X}(\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \boldsymbol{\Sigma}]}{\text{Tr} [\boldsymbol{\Sigma}^T \boldsymbol{\Sigma}]} \sim \frac{n}{m},$$

co pozwala określić stopień eliminacji szumów przez dopasowanie globalne w utworzonej macierzy.

Podziękowania

Autor dziękuje za pomoc okazaną w czasie wykonywania badań opisanych w niniejszej rozprawie następującym osobom:

- Panu prof. Czesławowi Radzewiczowi za opiekę naukową, pomoc w rozwiązywaniu napotkanych problemów i swobodę pozostawioną w pracy badawczej,
- Pani prof. Annie Grabowskiej za wprowadzenie w tematykę cząsteczek foto-reaktywnych i liczne cenne dyskusje,
- Panu prof. Jackowi Walukowi za zainteresowanie autora tematyką podwójnego przeniesienia atomów wodoru w porfircynach i pomoc w interpretacji wyników doświadczeń,
- Elenie Luzinie i Nataszy Urbańskiej za wielokrotną pomoc w przygotowaniu do pomiarów badanych związków chemicznych,
- Włodzimierzowi Natorfowi za wskazanie sposobu dowiedzenia nierówności przedstawionej w Dodatku,
- Weronice Walat za konsultacje tekstów w języku angielskim,
- koleżankom i kolegom z Laboratorium Procesów Ultraszybkich i Centrum Laserowego za miłą współpracę i stymulujące dyskusje,
- Ojcu, Andrzejowi Ficie, za pomoc okazywaną przez wszystkie lata nauki oraz za stworzenie optymalnych warunków pracy podczas pisania rozprawy doktorskiej.

Bibliografia

- [1] G. Mourou, W. Knox, Appl. Phys. Lett. **36**, 623 (1980).
- [2] D. V. O'Connor, and D. Phillips, *Time-Correlated Single Photon Counting* (Academic Press, 1984).
- [3] M. A. Duguay, Prog. Opt. **14**, 161 (1976).
- [4] E. Gilibert, A. Decl  my, C. Rulli  re, Rev. Sci. Instrum. **58**, 11 (1987).
- [5] H. Mahr, M. D. Hirsch, Opt. Commun. **13**, 96 (1975).
- [6] J. Shah, IEEE J. Quant. Electron. **24**, 276 (1988).
- [7] R. Schanz, S. A. Kovalenko, V. Kharlanov, N. P. Ernsting, Appl. Phys. Lett. **79**, 566 (2001).
- [8] P. Fita, Y. Stepanenko, C. Radzewicz, Appl. Phys. Lett. **86**, 021909 (2005).
- [9] T. Wilhelm, J. Piel, E. Riedle, Opt. Lett. **22**, 1494 (1997).
- [10] G. Cerullo, M. Nisoli, S. De Silvestri, Appl. Phys. Lett. **71**, 3616 (1997).
- [11] X.-H. Chen, X.-F. Han, Y.-X. Weng, J.-Y. Zhang, Appl. Phys. Lett. **89**, 061127 (2006).
- [12] X.-F. Han, X.-H. Chen, Y.-X. Weng, and J.-Y. Zhang, J. Opt. Soc. Am. B **24**, 1633 (2007) oraz P. Fita, C. Radzewicz, *Comment on „Ultrasensitive femtosecond time-resolved fluorescence spectroscopy for relaxation processes by using parametric amplification”* wys  lany do J. Opt. Soc. Am. B.
- [13] G. Porter, Proc. R. Soc. Ser. A **200**, 284 (1950).
G. Porter, Disc. Faraday Soc. **9**, 60 (1950).
- [14] T.H. Maiman, Nature **187**, 493 (1960).
T.H. Maiman, Phys. Rev. Lett. **4**, 564 (1960).
- [15] R.L. Fork, C.H. Brito-Cruz, P.C. Becker, C.V. Shank, Opt. Lett. **12**, 483 (1987).
- [16] J.W. Shelton, J.A. Armstrong, IEEE J. Quantum. Electron. **QE-3**, 696 (1967).
- [17] *Symposium on Metastable Species of the American Chemical Society National Meeting*, San Francisco, 31 marca - 3 kwietnia 1968; patrz tak  że informacja w spisie literatury w ^[18].

- [18] R.I. Scarlet, J. F. Figueira, H. Mahr, Appl. Phys. Lett. **13**, 71 (1968).
- [19] M.R. Topp, P.M. Rentzepis, R.P. Jones, Chem. Phys. Lett. **9**, 1 (1967).
- [20] R.R. Alfano, S.L. Shapiro, Phys. Rev. Lett. **24**, 584 (1970).
- [21] A. Brodeur, S.L. Chin, J. Opt. Soc. Am. B **16**, 637 (1999).
- [22] G.E. Bush, R.P. Jones, P.M. Rentzepis, Chem. Phys. Lett. **18**, 178 (1973).
- [23] C.A. Varma, P.M. Rentzepis, Chem. Phys. Lett. **19**, 162 (1973).
- [24] J.M. Wiesenfeld, E.P. Ippen, Chem. Phys. Lett. **67**, 213 (1979).
- [25] C.H. Brito Cruz, R.L. Fork, W.H. Knox, C.V. Shank, Chem. Phys. Lett. **132**, 341 (1986).
- [26] S. A. Trushin, K. Kosma, W. Fuß, W. E. Schmid, Opt. Lett. **32**, 2432 (2007).
- [27] W. Fuß, K. Kosma, W. E. Schmid, S. A. Trushin, *Ring opening of cyclohexadiene studied with 10 fs resolution: coherent oscillations indicate the reaction coordinate*, plakat na konferencji Femtochemistry and Femtobiology 8, Oxford, 22-27 lipca 2007.
- [28] E.P. Ippen, C.V. Shank, A. Dienes, Appl. Phys. Lett. **21**, 348 (1972).
- [29] E.P. Ippen, C.V. Shank, Appl. Phys. Lett. **24**, 373 (1974).
- [30] J.A. Giordmaine, R.C. Miller, Phys. Rev. Lett. **14**, 973 (1965).
J.A. Giordmaine, R.C. Miller, Appl. Phys. Lett. **9**, 298 (1966).
- [31] M. Dantus, M. J. Rosker, A. H. Zewail, J. Phys. Chem. **89**, 6128 (1988).
- [32] P. J. Reid, S. D. Wickham, R. Mathies, J. Chem. Phys. **96**, 5720 (1992).
- [33] J. Oberlé, G. Jonusauskas, E. Abraham, C. Rullière, Chem. Phys. Lett. **241**, 281 (1995).
J. Oberlé, G. Jonusauskas, E. Abraham, C. Rullière, Opt. Commun. **124**, 616 (1996).
- [34] D. S. Larsen, I. H. M. van Stokkum, M. Vengris, M. A. van der Horst, F. L. de Weerd, K. J. Hellingwerf, R. van Grondelle, Biophysical J. **87**, 1858 (2004).
- [35] R. J. H. Clark, R. E. Hester, *Time Resolved Spectroscopy*, Advances in Spectroscopy **18** (Wiley, Nowy Jork 1989).
- [36] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (wyd. II, Kluwer Academic, Nowy Jork, 1999).
- [37] H. J. Eichler, P. Günter, D. W. Pohl w *Laser Induced Dynamic Gratings* (Springer, Berlin, Heidelberg 1985).
- [38] A. Szabo. J. Chem. Phys. **81**, 150 (1984).
- [39] S. Lochbrunner, A. J. Wurzer, E. Riedle, J. Chem. Phys. **112**, 10699 (2000).
- [40] N. P. Ernstring, S. A. Kovalenko, T. Senyushkina, J. Saam, V. Farztdinov, J. Phys. Chem. A **105**, 3443 (2001).

- [41] P. Kowalczyk, C. Radzewicz, J. Mostowski, I. A. Walmsley, Phys. Rev. A **42**, 5622 (1990).
- [42] T. J. Dunn, J. N. Sweetser, I. A. Walmsley, C. Radzewicz, Phys. Rev. Lett. **70**, 3388 (1993).
- [43] S. Lochbrunner, K. Stock, V. de Waele, E. Riedle, *Ultrafast Excited State Proton Transfer: Reactive dynamics by multidimensional wavepacket motion w Femtochemistry and Femtobiology: Ultrafast Dynamics in Molecular Science*, ed. A. Douhal, J. Santamaria (World Scientific Publishing House, 2002).
- [44] K. Wynne, R. M. Hochstrasser, Chem. Phys. **171**, 179 (1993).
- [45] C. Galli, K. Wynne, S. M. LeCours, M. J. Therien, R. M. Hochstrasser, Chem. Phys. Lett. **206**, 493 (1993).
- [46] S. Raghavan, R. S. Knox, J. H. Eberly, Chem. Phys. Lett. **326**, 207 (2000).
- [47] K. R. Naqvi, R. E. Dale, Chem. Phys. Lett. **357**, 147 (2002).
- [48] P. Fita, *Femtosekundowa dynamika stanów wzbudzonych cząsteczek organicznych*, praca magisterska (Warszawa, 2003).
- [49] A. Dragonmir, J.G. McInerney, N. Nikogosyan, Appl. Opt. **41**, 4365 (2002).
- [50] K. Ekvall, P. van der Meulen, C. Dholand, L.-E.Berg, S. Pommeret, R. Naskręcki, J.-C. Mialocq, J. App. Phys. **87**, 2340 (2000).
- [51] R. Naskręcki, *Femtosekundowa spektroskopia absorpcji przejściowej* (Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań, 2000).
- [52] S.A. Kovalenko, A.L. Dobryakov, J. Ruthmann, N.P. Ernsting, Phys. Rev. A **59**, 2369 (1999).
- [53] M. Ziółek, M. Lorenc, R. Naskręcki, App. Phys. B **72**, 843 (2001).
- [54] M. Ziółek, R. Naskręcki, M. Lorenc, J. Karolczak, J. Kubicki, A. Maciejewski, Opt. Comm. **197**, 467 (2001).
- [55] J.-E. Lofroth, J. Phys. Chem. **90**, 1160 (1986).
- [56] I. H. M. van Stokkum, D. S. Larsen, R. van Grondelle, Biochimica et Biophysica Acta **1657**, 82 (2004).
- [57] P. Fita, E. Luzina, T. Dziembowska, C. Radzewicz, A. Grabowska, J. Chem. Phys. **125**, 184508 (2006).
- [58] *Numerical recipes in C: The art of scientific computing*. (Cambridge University Press, Cambridge, 1992), wersja *on-line*.
- [59] E. Vogel, M. Koecher, H. Schmickler, and J. Lex., Angew. Chem. Int. Ed. **25**, 257 (1986).
- [60] E. D. Sternberg, D. Dolphin, Tetrahedron **54**, 4151 (1998).

- [61] W. M. Campbell, A. K. Burrell, D. L. Officer, K. W. Jolley, *Coord. Chem. Rev.* **248**, 1363 (2004).
- [62] Z. Liu, A. A. Yasseri, J. S. Lindsey, D. F. Bocian, *Science* **302**, 1543 (2003).
- [63] J. Waluk, *Tautomerization in Porphycenes w Hydrogen-Transfer Reaction*, ed. J. T. Hynes i inni (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007).
- [64] G. Jori, M. Koecher, E. Vogel, and A.D. Cross, *Porphycene anti-cancer agents and treatment methods*, U.S. Patent 4913907 (1990).
- [65] E. Vogel, C. Richert, T. Benninghaus, M. Mueller, A. D. Cross, *Porphycene compounds for photodynamic therapy*, U. S. Patent 5179120 (1993).
- [66] E. Vogel, P. A. Koch, A. Rahbar, A. D. Cross, *Derivatives of porphycene for photodynamic therapy of cancer*, U. S. Patent 5244671 (1993).
- [67] A. Ogiso, S. Inoue, H. Tsukahara, T. Nishimoto, T. Misawa, T. Koike, *Optical recording medium and porphycene compound*, U. S. Patent 6627288 B1 (2003).
- [68] M. F. Shibl, M. Tachikawa, O. Kuehn, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 1368 (2005).
- [69] M. Shibl, *Mechanisms of Double Proton Tautomerization and Quantum Control of Tautomerism in Enantiomers by Light*, rozprawa doktorska (Freie Universitaet Berlin, 2006). Dostępną w internecie pod adresem <http://www.diss.fu-berlin.de/2006/622/indexe.html>
- [70] T. Udagawa, M. Tachikawa, *J. Chem. Phys.* **125**, 244105 (2006).
- [71] M. Pietrzak, M. F. Shibl, M. Broering, O. Kuehn, H.-H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 296 (2007).
- [72] M. F. Shibl, M. Pietrzak, H.-H. Limbach, O. Kuehn, *ChemPhysChem* **8**, 315 (2007).
- [73] Z. Smedarchina, M. F. Shibl, O. Kuehn, A. Fernandez-Ramoz, *Chem. Phys. Lett.* **436**, 314 (2007).
- [74] A. Starukhin, E. Vogel, J. Waluk, *J. Phys. Chem. A* **102**, 9999 (1998).
- [75] B. Wehrle, H.-H. Limbach, M. Koecher, O. Ermer, E. Vogel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **26**, 934 (1987).
- [76] U. Langer, C. Hoelger, B. Wehrle, L. Latanowicz, E. Vogel, H.H. Limbach, *J. Phys. Org. Chem.* **13**, 23 (2000).
- [77] J. Sepioł, Y. Stepanenko, A. Vdovin, A. Mordziński, E. Vogel, J. Waluk, *Chem. Phys. Lett.* **296**, 549 (1998).
- [78] J. Waluk, E. Vogel, *J. Phys. Chem.* **98**, 4530 (1994).
- [79] M. Gil, J. Waluk, *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 1335 (2007).
- [80] H. P. Trommsdorff, *Photo-induced and spontaneous proton tunneling in molecular solids w Advances in Photochemistry, Vol. 24*, Ed. D. C. Neckers, D. H. Volman, G. v. Buenau, (John Wiley & Sons, Inc, 1998)

- [81] A. Vdovin, B. Dick, A. Slenczka, J. Waluk, w przygotowaniu.
- [82] Y. Nosenko, J. Jasny, M. Pietraszkiewicz, A. Mordziński, *Chem. Phys. Lett.* **399**, 331 (2004).
- [83] A. Vdovin, J. Sepioł, N. Urbańska, M. Pietraszkiewicz, A. Mordziński, J. Waluk, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 2577 (2006).
- [84] J. Waluk, komunikacja prywatna (2007).
- [85] M. Lausmann, I. Zimmer, J. Lex, H. Lueken, K. Wieghardt, E. Vogel, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **33**, 736 (1994).
- [86] P. F. Aramendia, R. W. Redmond, S. Nonell, W. Schuster, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, E. Vogel, *Photochem. Photobiol.* **44**, 555 (1986).
- [87] J. S. Baskin, H.-Z. Yu, A. H. Zewail, *J. Phys. Chem. A* **106**, 9837 (2002).
- [88] J. Dobkowski, V. Galievsky, M. Gil, J. Waluk, *Chem. Phys. Lett.* **394**, 410 (2004).
- [89] J. Braun, M. Schlabach, B. Wehrle, M. Koecher, E. Vogel, H. H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 6593 (1994).
- [90] J. Braun, H. H. Limbach, P. G. Williams, H. Morimoto, D. E. Wemmer, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 7231 (1996).
- [91] Z. Smedarchina, W. Siebrand, T. A. Wildman, *Chem. Phys. Lett.* **143**, 395 (1988).
- [92] M. Gil, J. A. Organero, J. Waluk, A. Douhal, *Chem. Phys. Lett.* **422**, 142 (2006).
- [93] Rysunki otrzymane dzięki uprzejmości prof. Jacka Waluka.

