

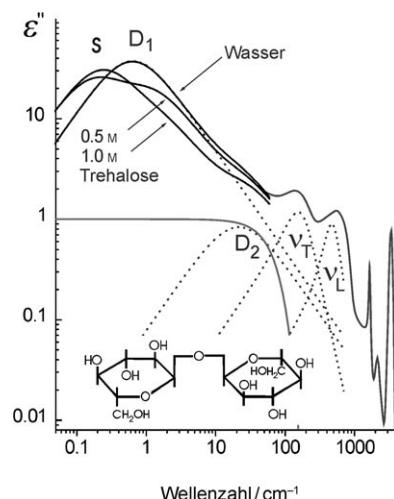
# Terahertz-Absorptionsspektroskopie einer Flüssigkeit mithilfe einer Polaritätssonde: Anwendung auf Trehalose-Wasser-Mischungen\*\*

Mohsen Sajadi, Yathrib Ajaj, Ilya Ioffe, Hermann Weingärtner\* und Nikolaus P. Ernsting\*

Wasser ist wichtig für die Struktur, Stabilität und Funktion von Biomolekülen. Es vermag die Energielandschaft der molekularen Erkennung oder Proteinfaltung zu vereinfachen, und häufig kontrolliert Wasser die native Stabilität.<sup>[1,2]</sup> Der Protonentransfer durch lokale Wassernetzwerke benötigt eine korrelierte Bewegung von H-Brücken,<sup>[3]</sup> und konformative Veränderungen von Proteinen scheinen an die Dynamik von umgebendem Wasser und Hydratwasser gekoppelt zu sein.<sup>[4]</sup> Um solche Prozesse zu verstehen, muss man das Schwingungsspektrum der Grenzfläche zwischen dem Biomolekül und Wasser beobachten. Deren Dynamik ist verteilt über verschiedene Zeitskalen, von schnellen Schwingungsmoden bis hin zu langsamer diffusiver Reorientierung. In Flüssigkeiten mit niedriger Viskosität, wie z.B. Wasser, beinhaltet das „diffusive Regime“ Prozesse auf der Piko- bis Nanosekunden-Zeitskala (entsprechend Wellenzahlen von  $\nu < 1.5 \text{ cm}^{-1}$ ) welche durch Mikrowellen(MW)-Spektroskopie erfasst werden können. Auf der Hochfrequenz-Seite ( $> 1000 \text{ cm}^{-1}$  für Wasser) werden *innermolekulare* Schwingungen routinemäßig mit Infrarot-Spektroskopie beobachtet. Doch meistens fehlt Information über die *intermolekulare* Schwingungs- und Librationsdynamik, die sich im mittleren Frequenzbereich abspielt, im THz-Bereich ( $\leq 30 \text{ cm}^{-1}$ ) und im Fern-Infraroten (FIR,  $30\text{--}250 \text{ cm}^{-1}$ ). In diesem mittleren Bereich werden Prozesse von H-Brücken erwartet. Leider ist die Erzeugung und Detektion von Licht hier schwierig. Auch ist die Antwort der Biomolekül-Wasser-Grenzfläche nicht besonders verschieden von derjenigen des reinen Wassers. Es wird deutlich, dass lokale spektroskopische Methoden benötigt werden, die den Beitrag der Wasser-Volumenphase vermeiden und die Absorptionsmessung auf die Grenzfläche konzentrieren.

Für die Polaritätssonde *N*-Methyl-6-chinolon (MQ, siehe Abbildung 3) konnten wir zeigen, dass die zeitaufgelöste Stokes-Verschiebung der Fluoreszenz (time-resolved Stokes shift, TRSS) das Infrarotspektrum der umgebenden Flüssig-

keit abbildet.<sup>[5]</sup> Der Abstand für eine Wechselwirkung reicht bis ca.  $15 \text{ \AA}$ ;<sup>[6]</sup> räumliche Auflösung dieser Größenordnung kann deshalb erreicht werden, indem man die Probe chemisch an eine supramolekulare Struktur anbindet. Aber bisher blieb eine Frage offen: Wie kann man die (unbekannten) dielektrischen Eigenschaften der Umgebung aus einer gemessenen TRSS-Kurve erhalten? Dieser Schlüsselschritt wird hier vorgestellt und mit einer wässrigen Trehalose<sup>[7–12]</sup> (Abbildung 1) wird von eini-



**Abbildung 1.** Das Spektrum für dielektrischen Verlust in reinem Wasser (graue und entsprechende schwarze Linie) wird durch gelöste Trehalose verändert. Die intermolekularen Moden  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $v_T$  und  $v_L$  von reinem Wasser sind getrennt gezeichnet als gestrichelte Linien. Die Mode S wird der Rotationsdiffusion der hydratisierten Zuckermoleküle zugeordnet. Die schwarzen Kurven wurden aus der zeitaufgelösten Stokes-Verschiebung der Fluoreszenz von zugefügtem Methylchinolon gewonnen. Das Beobachtungsfenster (grau) wird durch die effektive Zeitauflösung bestimmt.

gen Organismen in trockenen Erdregionen synthetisiert, um sich gegen osmotischen Druck und Erfrieren zu schützen.<sup>[7]</sup> Der Zucker verändert die H-Brückenstruktur von Wasser<sup>[8]</sup> und dessen kollektive Dynamik.<sup>[9,10]</sup> Trehalose ist deshalb ein interessantes biomolekulares Modell, um den praktischen Gebrauch und das spektroskopische Potenzial von MQ zu demonstrieren.

Die Art des Spektrums, das aufgenommen werden muss, ist in Abbildung 1 dargestellt. Die Abbildung zeigt den dielektrischen Verlust  $\epsilon''(\omega)$  von reinem Wasser bis hoch zu Infrarotfrequenzen.<sup>[13–16]</sup> Dieses Spektrum repräsentiert den Untergrund, auf dem Veränderungen durch Biomoleküle

[\*] Y. Ajaj, Prof. H. Weingärtner

Lehrstuhl II, Fakultät für Chemie und Biochemie  
Ruhr-Universität Bochum  
Universitätsstraße 150, 44780 Bochum (Deutschland)  
E-Mail: hermann.weingaertner@rub.de

M. Sajadi, Dr. I. Ioffe, Prof. N. P. Ernsting  
Institut für Chemie, Humboldt Universität zu Berlin  
Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin (Deutschland)  
E-Mail: nernst@chemie.hu-berlin.de

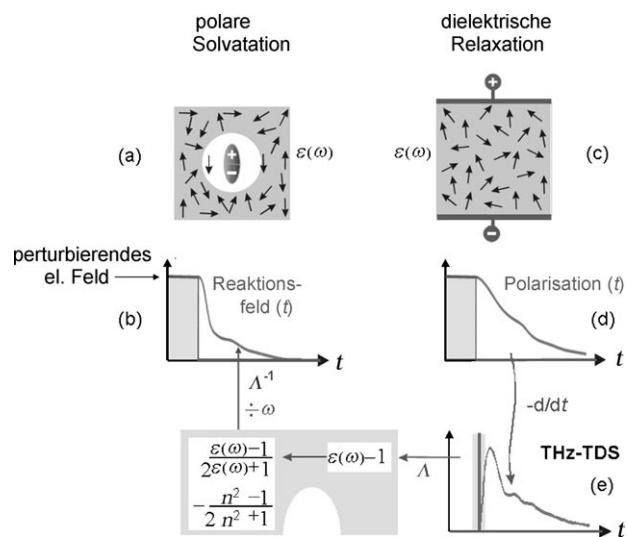
[\*\*] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Unterstützung durch die Projekte ER 154/9-1 und WE 899/10-3 in der Forschergruppe FOR 436.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200904997> zu finden.

registriert werden müssen, und deshalb sei es hier beschrieben.  $\epsilon''(\omega)$  ist im Wesentlichen die Verteilung der Oszillatorenstärke,  $\alpha(\omega)/\omega$ , erhältlich aus dem Lichtabschwächungskoeffizienten  $\alpha(\omega)$ .<sup>[17,18]</sup> Diese Größe bestimmt auch<sup>[18]</sup> (bis auf eine Konstante) die dielektrische Dispersion  $\epsilon'(\omega)$  und damit die komplexe Permittivität  $\epsilon(\omega) = \epsilon'(\omega) - i\epsilon''(\omega)$ . Das Spektrum kann durch mehrere Banden beschrieben werden.<sup>[16]</sup> Die FIR-Bande  $\nu_T$  bei  $200\text{ cm}^{-1}$  ist zwar schwach, doch sie trägt ziemliche Oszillatorenstärke, entsprechend einer translatorischen Schwingung des OH···O-Netzwerks.<sup>[16]</sup> Rotationsdiffusion wird bei niedrigsten Frequenzen, d.h. im MW-Bereich um  $20\text{ GHz}$ , beobachtet und dargestellt durch einen dominanten Debye-Term  $D_1$  zusammen mit einem schwachen Debye-Term  $D_2$ .<sup>[13,14]</sup> Libratorische Bewegung von Wasser wird als eine Bande  $\nu_L$  um  $500\text{ cm}^{-1}$  beobachtet.<sup>[14-16]</sup> Alle genannten Banden sind breit (im Vergleich mit der Frequenz des Maximums) weil intramolekulare Bewegung leicht gestört wird, weshalb die entsprechende Kohärenz stark gedämpft ist, im Vergleich mit innermolekularen Schwingungen die als schmale Linien oberhalb von  $1000\text{ cm}^{-1}$  erscheinen.

Die Zugabe von Trehalose sollte spektrale Veränderungen über den gesamten Bereich verursachen, einschließlich der THz-Region ( $1\text{ THz} = 33\text{ cm}^{-1}$ ), die hier betrachtet wird. Wenn z.B. die Trehalose-Konzentration graduell auf  $1.2\text{ M}$  erhöht wird, so verringert sich der Abschwächungskoeffizient bei  $80\text{ cm}^{-1}$  um fast 20%.<sup>[11]</sup> Hier wird weitergehend gemessen, wie die Banden in Abbildung 1 sich verändern und welche neuen Banden erscheinen, und zu diesem Zweck wird MQ, zusätzlich gelöst, als „molekulares Spektrometer“ benutzt. Wir nehmen einen realistischen Ausdruck an für  $\epsilon(\omega)$  und erhalten daraus analytisch  $R(t)$ , eine Form für die spektrale Relaxationsfunktion, die den Angleich der zeitaufgelösten Stokes-Verschiebung erlaubt. Diese neue Art der TRSS-Spektroskopie wird nachstehend erläutert.

Das Sondenmolekül funktioniert als mikroskopische THz-Lichtquelle, indem seine Ladungsverteilung durch Lichtanregung in wenigen Femtosekunden verändert wird (Abbildung 2a).<sup>[5,19,20]</sup> Im Fall von MQ verringert die  $S_0 \rightarrow S_1$ -Anregung bei  $400\text{ nm}$  das Dipolmoment  $\mu$  von  $10.8\text{ D}$  auf  $5.8\text{ D}$ ,<sup>[21]</sup> d.h., das lokale elektrische Feld wird instantan heruntergeschaltet. Das neue Feld wirkt auf benachbarte Gruppen mit partiellen Ladungen, die Gruppen reorientieren sich, und zusammen erzeugen sie ein zeitveränderliches Reaktionsfeld  $R(t)$  (Abbildung 2b). Dieses wird vom Sondenmolekül wiederum berichtet, nämlich durch eine Emissionsfrequenz, die linear von  $R(t)$  abhängt. (In diesem Sinn werden „Reaktionsfeld“ und „spektrale Relaxationsfunktion“ synonym verwendet.) Die Sonde ist deshalb nicht nur Lichtquelle, sondern auch Detektor. Zum Vergleich betrachten wir ein klassisches Experiment zur dielektrischen Relaxation (Abbildung 2c): Ein Kondensator, der die Flüssigkeit enthält, wird plötzlich elektrisch entladen. Die vorherige Polarisation klingt dann mit einem charakteristischen Zeitverhalten  $P(t)$  ab (Abbildung 2d). Über Zeitableitung erhält man die Response- oder Antwortfunktion auf einen  $\delta$ -förmigen Puls (Abbildung 2e); diese Antwort kann direkt mit THz-Spektroskopie in der Zeitdomäne (THz-TDS) erhalten werden.<sup>[13,14]</sup> Die dielektrische Suszeptibilität  $\chi_P = \epsilon(\omega) - 1$



**Abbildung 2.** Brücke zwischen Spektroskopien: Die polare Solvation (a) kann, bei geeigneter molekularer Sonde, im Rahmen einer Kontinuum-Theorie modelliert werden. Eine wesentliche Rolle spielt dabei die frequenzabhängige dielektrische Permittivität  $\epsilon(\omega)$  des Mediums. Diese wird gewöhnlich mithilfe der dielektrischen Relaxation (c) oder THz-Zeitdomänen-Spektroskopie (e) gemessen. Stattdessen beobachten wir in der vorliegenden Arbeit die Solvationsdynamik von Methylchinolon mit Femtosekunden-Zeitauflösung (b) und bestimmen daraus  $\epsilon(\omega)$  quantitativ. ( $\mathcal{A}$  bedeutet Laplace-Transformation, und der Einfachheit halber wurde  $n_{\text{cav}} = 1$  angenommen.)

wird erreicht durch Laplace-Transformation  $\mathcal{A}$  der Responsefunktion.

Eine Brücke von der dielektrischen Relaxation zur Solvation einer dipolaren Probe wird durch Gleichung (1) hergestellt:<sup>[18]</sup>

$$\chi_{\text{dip}}(\omega) \propto \frac{\epsilon(\omega) - 1}{2\epsilon(\omega) + n_{\text{cav}}^2} - \frac{n_{\infty}^2 - 1}{2n_{\infty}^2 + n_{\text{cav}}^2} \quad (1)$$

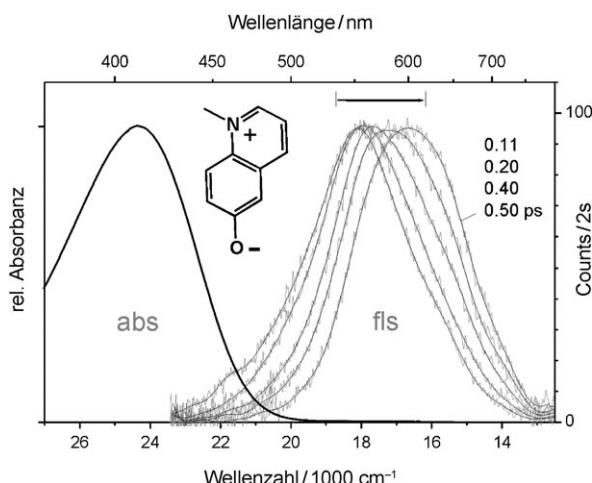
Hier ist  $\chi_{\text{dip}}(\omega)$  die Suszeptibilität des Dipol-Reaktionsfeldes  $R(t)$  hinsichtlich Änderungen von  $\mu$ ,  $n_{\infty}$  ist der Brechungsindex des Mediums bei optischen Frequenzen, und  $n_{\text{cav}}$  repräsentiert die Polarisierbarkeit des gelösten Farbstoffmoleküls.<sup>[18,22]</sup> Gleichung (1) basiert auf einer einfachen Kontinuum-Theorie, die, wie wir empirisch zeigten, quantitativ für MQ gilt.<sup>[5]</sup> Für reines Wasser bis  $100\text{ cm}^{-1}$  wird die komplexe Permittivität  $\epsilon(\omega)$  durch zwei Debye-Terme gut beschrieben (vgl. Abbildung 1).<sup>[13,14]</sup> Um spektrale Veränderungen durch die Zugabe von Trehalose beschreiben zu können, verwenden wir fortan einen dreifachen Debye-Ansatz zusammen mit einem Hintergrundterm  $\epsilon_{\infty} \cong n_{\infty}^2$  für elektronische Verschiebungen im optischen Bereich [Gl. (2)]:

$$\epsilon(\omega) = \frac{\epsilon_0 - \epsilon_1}{1 + i\omega\tau_1} + \frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{1 + i\omega\tau_2} + \frac{\epsilon_2 - \epsilon_{\infty}}{1 + i\omega\tau_3} + \epsilon_{\infty} \quad (2)$$

Jede Mode ist charakterisiert durch eine Debye-Relaxationszeit  $\tau_k$  und eine Amplitude  $\Delta\epsilon_k = \epsilon_{k-1} - \epsilon_k$ .

Nach Passage durch Gleichung (1) und Division durch  $s = i\omega$  (äquivalent zur Zeitintegration, vgl. Abbildung 2) wird die inverse Laplace-Transformation  $\mathcal{A}^{-1}$  analytisch durchgeführt.

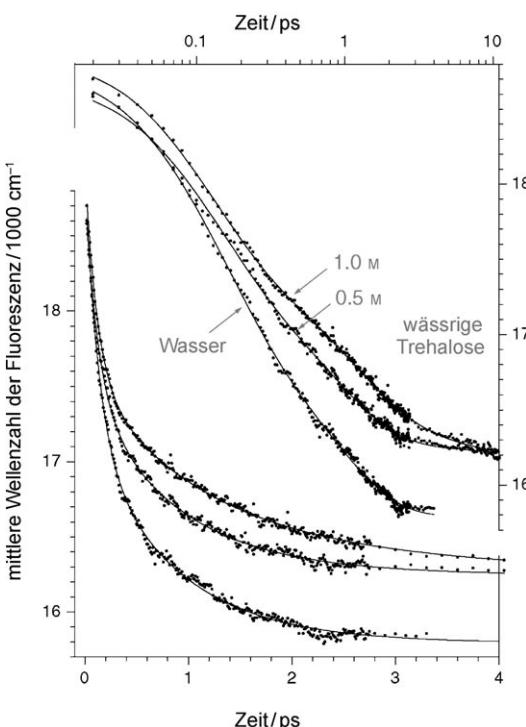
Die eingehenden Parameter sind  $\tau_1, \tau_2, \tau_3$ , zusammen mit  $\varepsilon_0, \varepsilon_1, \varepsilon_2, \varepsilon_\infty$  und  $n_{\text{cav}}$ . Sie bestimmen eine dreifach-exponentielle Form für das Reaktionsfeld  $R(t)$ , wie in den Hintergrundinformationen beschrieben wird. In dem entsprechenden Experiment wird MQ mit Femtosekunden-Pulsen bei 400 nm optisch angeregt, und danach wird das komplette Fluoreszenzspektrum mit Breitband-Hochkonversion gemessen.<sup>[23,24]</sup> Die zeitliche Apparatefunktion hatte eine volle Halbwertbreite von 85 fs. Abbildung 3 zeigt das Absorptionspektrum und einige zeitabhängige Fluoreszenzspektren



**Abbildung 3.** Absorptions(abs)- und Fluoreszenz(fls)-Spektren der Polaritätssonde MQ (Einschub) in wässriger Trehalose (1 M). Der Farbstoff wird mit 40-fs-Pulsen bei 400 nm optisch angeregt. Danach wird die sich entwickelnde Fluoreszenz mit Breitband-Hochkonversion zeitlich aufgelöst (85 fs fwhm der Apparatefunktion). Der Pfeil zeigt die insgesamt beobachtete Verschiebung der Bande.

( $\propto$  Quantenverteilung über Wellenzahlen). Aus der mittleren Emissions-Wellenzahl  $\langle \nu \rangle$  als Funktion der Zeit wird die spektrale Relaxationsfunktion  $R(t)$  gebildet, die ausschließlich von der Solvatisierung bestimmt ist.<sup>[5]</sup> Abbildung 4 zeigt experimentelle Kurven für 0.0, 0.5 und 1.0 M Trehalose-Lösungen in Wasser.

Diese Datenpunkte werden angeglichen durch Optimierung von  $\varepsilon(\omega)$ , wodurch die schwarzen Interpolationslinien in Abbildung 4 erhalten werden. Das Verhalten bei niedrigen Frequenzen wird aus separaten Mikrowellen-Messungen importiert, über die in den Hintergrundinformationen berichtet wird. Für die Optimierung werden  $\varepsilon_1, \varepsilon_2, \varepsilon_\infty, \tau_1, \tau_2, \tau_3$  variiert, während  $\varepsilon_0$  gleich dem MW-Wert gesetzt ist. (Dieser Bezug auf MW-Daten wird nicht mehr nötig sein, sobald  $R(t)$  mit höherer Präzision gemessen werden kann, vor allem im späten Zeitbereich.) Der Brechungsindex  $n_{\text{cav}}$  der Kavität wird durch die effektive Polarisierbarkeit der Sonde und das Volumen der Kavität bestimmt.<sup>[18,5]</sup> Zurzeit muss dieser Parameter noch wie folgt behandelt werden: Die bekannte  $\varepsilon(\omega)$ -Funktion für reines Wasser wird zunächst benutzt, um für diesen Fall  $n_{\text{cav}} = 2.3$  zu finden. Parallel dazu wird das THz-Absorptionsspektrum für reines Wasser berechnet.<sup>[21]</sup> Bei den Zuckerlösungen ist zu beachten, dass die  $\varepsilon(\omega)$ -Kurve, die aus den TRSS-Messungen herausgezogen wird, von dem Wert abhängt, der für  $n_{\text{cav}}$  angenommen worden war. Folglich hängt



**Abbildung 4.** Die mittlere Wellenzahl der Fluoreszenz (Punkte) relaxiert nach optischer fs-Anregung auf mehreren Zeitskalen. Angleiche mit Kontinuum-Theorie (Linien) ergeben  $\varepsilon(\omega)$  für jede Lösung (schwarze Linien in Abbildung 1).

auch das daraus berechnete  $\alpha(\omega)$  von  $n_{\text{cav}}$  ab.<sup>[17,18]</sup> Diese Abhängigkeit kann dazu benutzt werden,  $n_{\text{cav}}$  durch Absorptionsmessung bei einer festen Wellenzahl zu fixieren. Havenith und Mitarbeiter<sup>[11]</sup> fanden, dass 0.5 M (1.0 M) Trehalose den Wasser-Absorptionskoeffizienten bei  $80 \text{ cm}^{-1}$  um 7.2% (16.4%) herabsetzt. Um diese Beobachtung zu reproduzieren, muss das  $n_{\text{cav}}$  für MQ in reinem Wasser leicht verändert werden, und zwar auf 2.26 (2.0). Diese Veränderung ist gleichbedeutend mit einer Vergrößerung der Kavität mit zunehmender Zucker-Konzentration.

Die resultierenden  $\varepsilon''(\omega)$ -Kurven sind in Abbildung 1 mit schwarzen Linien dargestellt. Sie sind glatt verbunden mit den MW-Ergebnissen und gehorchen der bekannten Abschwächung bei  $80 \text{ cm}^{-1}$ . Wenn die Trehalose-Konzentration auf 0.5 M und weiter auf 1.0 M erhöht wird, so beobachten wir folgende Veränderungen:

- 1) Eine neue Relaxationsmode S erscheint bei 7.1 GHz. Sie wird der Rotationsdiffusion der solvatisierten Trehalose-Moleküle zugeordnet, analog zu Ergebnissen aus der dielektrischen Relaxation von Maltotriose<sup>[25]</sup> und Glucose-Lösungen,<sup>[26,27]</sup> die mit depolarisierter Raman-Streuung bestätigt wurden.<sup>[28]</sup>
- 2) Die Dynamik der Lösungen ist von derjenigen des reinen Wassers verschieden. Die Rotationsmode  $D_1$  verliert Amplitude und wird blauverschoben („wird schneller“), wenn die Trehalose-Konzentration 0.5 M erreicht, und sie wird weiter stark geschwächt bei Erhöhung der Konzentration auf 1.0 M. Die Mode  $D_2$  des reinen Wassers bei höherer Frequenz (ca. 0.14 THz oder  $5 \text{ cm}^{-1}$ ) scheint weniger beeinflusst zu sein. Unsere Beobachtungen sind

konsistent mit dynamischen Studien,<sup>[9,10,29,30]</sup> die zeigten, dass gelöste Zuckermoleküle die tetraedrische Konfiguration von Wassermolekülen verändern.

- 3) Zwischen  $D_2$  und  $v_L$  werden keine neuen Prozesse beobachtet. Insbesondere erhalten wir keine neue Information bei 2.5 THz, weil hier die Daten zur FIR-Abschwächung von Havenith und Mitarbeitern<sup>[11]</sup> verwendet wurden. Diese Autoren fanden nicht-ideales quadratisches Verhalten mit zunehmender Trehalose-Konzentration, das sie der Überlappung von dynamischen Hydrathüllen zuordneten. Die gelöste Sonde MQ sollte sich zunehmend in solchen Überlappungsregionen befinden, was erklärt, warum der Radius der Kavität in ähnlicher Art von der Zucker-Konzentration abhängt.

Zusammenfassend: Die spektrale Relaxation  $R(t)$  der Fluoreszenz von *N*-Methyl-6-chinolon verläuft auf Zeitskalen 0.100–100 ps. Aus der gemessenen  $R(t)$ -Funktion wurde die frequenzabhängige Permittivität der Umgebung erhalten, und zwar bis etwa 100 cm<sup>-1</sup>. Der Schlüssel dafür liegt in einer analytischen Verbindung  $\varepsilon(\omega) \rightarrow R(t)$ , die zum Datenan- gleich benötigt wird. Messungen mit Trehalose-Wasser-Lösungen dienten dazu, das Verfahren zu etablieren und zu testen. Es ermöglicht,  $\varepsilon(\omega)$  in einem kleinen Bereich um das Sondenmolekül zu messen, und zwar mit großer spektraler Bandbreite. Durch kovalente Anbindung des Sondenmoleküls an eine supramolekulare Struktur kann so eine lokale THz-FIR-Spektroskopie realisiert werden.

Eingegangen am 6. September 2009  
Online veröffentlicht am 3. Dezember 2009

**Stichwörter:** Fluoreszenz · Terahertz-Spektroskopie · Trehalose · Wasser · Zeitaufgelöste Stokes-Verschiebung

- 
- [1] Y. Levy, J. N. Onuchic, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2006**, *35*, 389–415.  
 [2] P. Auffinger, Y. Hashem, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2007**, *17*, 325–333.  
 [3] D. Marx, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 1848–1870; G. Mathias, D. Marx, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6980–6985.  
 [4] H. Frauenfelder, G. Chena, J. Berendzena, P. W. Fenimore, H. Janssonb, B. H. McMahon, I. R. Stroec, J. Swensond, R. D. Young, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 5129–5134, zit. Lit.  
 [5] J. L. Pérez-Lustres, S. A. Kovalenko, M. Mosquera, T. Senyushkina, W. Flasche, N. P. Ernsting, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5779–5783; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5635–5639.  
 [6] S. Sen, D. Andreatta, S. Y. Ponomarev, D. L. Beveridge, M. A. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1724–1735.  
 [7] J. H. Crowe, L. M. Crowe, *Science* **1984**, *223*, 701–703.  
 [8] M. C. Donnamaria, E. L. Howard, J. R. Grigera, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1994**, *90*, 2731–2735.  
 [9] S. Magazu, V. Villari, P. Migliardo, G. Maisano, M. T. F. Telling, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 1851–1855.  
 [10] M. E. Gallina, P. Sassi, M. Paolantoni, A. Morresi, R. S. Cataliotti, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 8856–8864.  
 [11] M. Heyden, E. Bründermann, U. Heugen, G. Niehues, D. M. Leitner, M. Havenith, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5773–5779.  
 [12] T. Arikawa, M. Nagai, K. Tanaka, *Chem. Phys. Lett.* **2008**, *457*, 12–17.  
 [13] T. J. Kindt, C. A. Schmuttenmaer, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 10373–10379.  
 [14] C. Rønne, S. R. Keiding, *J. Mol. Liq.* **2002**, *101*, 199–218.  
 [15] J. E. Bertie, Z. Lan, *Appl. Spectrosc.* **1996**, *50*, 1047–1057.  
 [16] A. Y. Zasetsky, V. I. Gaiduk, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5599–5606.  
 [17] J. B. Bircks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley-Interscience, New York, **1970**.  
 [18] C. J. F. Böttcher, *Theory of Electric Polarization*, 2. Aufl., Elsevier, Amsterdam, **1993**.  
 [19] G. I. Groma, J. Hebling, I. Z. Kozma, G. Varo, J. Hauer, J. Kuhl, E. Riedle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 6888–6893.  
 [20] J. Léonard, E. Portuondo-Campa, A. Cannizzo, F. van Mourik, G. van der Zwan, J. Tittor, S. Haacke, M. Chergui, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 7718–7723.  
 [21] Siehe Hintergrundinformationen.  
 [22] J. Ruthmann, S. A. Kovalenko, D. Ou, N. P. Ernsting, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 5466–5468.  
 [23] L. Zhao, L. P. Lustres, V. Farztdinov, N. P. Ernsting, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 1716–1725.  
 [24] M. Sajadi, T. Obernhuber, S. A. Kovalenko, M. Mosquera, B. Dick, N. P. Ernsting, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 44–55.  
 [25] S. Mashimo, N. Miura, T. Umehara, *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 6759–6765.  
 [26] H. Weingärtner, A. Knocke, S. Boresch, P. Höchtl, O. Steinhauer, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 1463–1472.  
 [27] K. Fuchs, U. Kaaeze, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 7137–7144.  
 [28] D. Fioretto, L. Comez, M. E. Gallina, A. Morresi, L. Palmieri, M. Paolantoni, P. Sassi, F. Scarponi, *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *441*, 232–236.  
 [29] C. Branca, S. Magazu, G. Maisano, P. Migliardo, *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 281–287.  
 [30] M. Paolantoni, P. Sassi, A. Morresi, S. Santini, *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 024504.
-