Spectroscopie infrarouge impulsionnelle appliquée au transfert de ligands dans les hémoprotéines

Thomas Polack

▶ **To cite this version:**

Thomas Polack. Spectroscopie infrarouge impulsionnelle appliquée au transfert de ligands dans les hémoprotéines. Physique Atomique [physics.atom-ph]. Ecole Polytechnique X, 2003. Français. NNT : . tel-00005255

HAL Id: tel-00005255

https://pastel.hal.science/tel-00005255

Submitted on 8 Mar 2004

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de doctorat de l'École Polytechnique

Spécialité :

Physique Quantique

par

Thomas Polack

pour obtenir le titre de Docteur de l'École Polytechnique

Sujet :

Spectroscopie infrarouge impulsionnelle appliquée au transfert de ligands dans les hémoprotéines

soutenue le 13 novembre 2003 devant le jury composé de

M.	Bertrand Girard	Président
M.	Bernard Bourguignon	Rapporteur
M.	Majed Chergui	Rapporteur
Mme	Antigoni Alexandrou	Directrice de Thèse
M.	Stefan Franzen	
M.	Jean-Louis Martin	

Remerciements

Je remercie Jean-Louis Martin de m'avoir accueilli au Laboratoire d'Optique et Biosciences. Ce travail ne lui doit pas seulement un excellent environnement, il aura aussi profité de son dynamisme, de son optimisme ainsi que de son expertise.

Je remercie Bernard Bourguignon, Majed Chergui, Stefan Franzen, Bertrand Girard et Jean-Louis Martin d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Je tiens en particulier à remercier Bernard Bourguignon et Majed Chergui pour avoir endossé la lourde tâche de rapporteur et Bertrand Girard pour avoir assuré la présidence de ce jury.

Il me tient à cœur de remercier Antigoni Alexandrou, ma directrice de thèse, pour avoir su orienter mon travail et guider mes efforts, pour avoir été présente au plus près des détails expérimentaux malgré le travail que la position de sous-directrice lui a donné. Son jugement scientifique, son engagement et sa persévérance mais aussi son optimisme et son enthousiasme ont porté ce travail le long de ces quelques années où elle m'a accordé à la fois son temps et son espace. Merci Antigoni de m'avoir accompagné le long de cette trajectoire.

Ce travail a aussi eu la chance de bénéficier d'un environnement de haute qualité : la présence de Manuel Joffre, Marten Vos et Jean-Louis Martin aux points critiques de ce travail s'est révélée extrêmement précieuse. Ce travail est placé sous leur influence, aussi bien pour les techniques de spectroscopie que pour leurs connaissances des processus biologiques.

Au cours de ce travail, j'ai eu la chance de pouvoir user du marbre avec Emmanuel Péronne et Jennifer Ogilvie. C'est au côté d'Emmanuel que j'ai fait mes premiers pas sur la planète femtoseconde. Merci Manu, pour cette introduction aux subtilités expérimentales et pour toutes nos discussions. Le travail avec Jennifer a vraiment été très agréable. Sans aucun doute, son travail expérimental a changé la physionomie de ce manuscrit. Merci beaucoup Jen.

Souvent, ce travail a sollicité les compétences techniques du laboratoire. Moteurs, montures, et choppers de précision sortent de l'atelier des mécaniciens, merci à Marcel Bierry et à Jean-Marc Sintes. Pour les synchronisations, la programmation du dernier opus du DSP et autres asservissements, merci Xavier Solinas. En particulier, la réalisation du chopper rapide nous a permis d'améliorer considérablement le rapport signal à bruit des expériences. Merci enfin à Claude Hamel pour ses coups de main, le dénichage et l'usinage de matériaux optiques en tout genre.

Merci aussi à tous ceux qui ont bien voulu prêter leur temps et leur attention à la relecture du manuscrit, merci en particulier à Nadia Belabas, Manuel Joffre, Marten Vos et Jean-Louis Martin.

Merci au secrétariat pour m'avoir simplifié, avec efficacité, la vie administrative, merci donc à Françoise Pétrequin et à Laure Lachapelle.

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté, pour les discussions scientifiques et moins scientifiques que nous avons eu ensemble, je remercie tous ceux avec qui j'ai partagé un bureau pendant ces années : Emmanuel, Nadia, Cathie, Wafa et Antigoni.

Merci encore à tous ceux dont j'ai un jour poussé la porte pour leur demander soit de l'aide, soit un conseil, soit encore un peu de leur savoir, merci donc à Manuel Joffre, Marten Vos, Ursula Liebl, Michel Négrerie, Nadia Belabas, Eric Pilet, Cathie Ventalon, Adeline Bonvalet, Marie-Claire Schanne-Klein, Anny Slama-Schwok, Jean-Christophe Lambry, Martin-Pierre Sauviat, Guilhem Gallot, François Hache et André Campos.

Je tiens finalement à remercier tous ceux qui ont aussi contribué (et qui sûrement continuent encore) à faire du laboratoire un endroit agréable à vivre, merci à Emmanuel Beaurepaire, Noëlle Yamada, Sergei Kruglik, et à tous les thésard(e)s et post-docs, Emmanuel Péronne, Nadia Belabas, Cathie Ventalon, Wafa Amir, James Fraser, Jennifer Ogilvie, Eric Pilet, Adeline Darmon, Anthony Colas, Thibault Dartigalongue, Thierry Boulesteix, Ana-Maria Pena, Andreea Sodolescu, Simona Cianetti, Clément Gautier, Anne Colonna, Delphine Débarre, Sébastien Graziani, Kevin Kubarych, Gérard Lipowsky, Jie Pan et Latifa Bouzhir-Sima.

Table des matières

Introduction **i**

1 Transfert de ligands dans les hémoprotéines **1**
1.1 Transfert de ligand dans les hémoprotéines . . . 1
1.1.1 Hémoprotéines . . . 1
1.1.2 La myoglobine . . . 3
1.1.3 Transfert du ligand CO dans la myoglobine . . . 5
1.1.3.1 Méthode expérimentale . . . 6
1.1.4 Spectres d'absorption visible et infrarouge de la carboxymyoglobine . 7
1.1.4.1 Absorption visible . . . 7
1.1.4.2 Le domaine infrarouge . . . 7
1.1.5 Expériences précédentes . . . 12
1.2 Configurations expérimentales . . . 12
1.2.1 Expériences pompe-sonde . . . 12
1.2.2 Expériences de détection du champ émis . . . 13

2 Calcul de la fonction de réponse non-stationnaire **15**
2.1 Formalisme général : Fonction de réponse . . . 16
2.1.1 Réponse linéaire non-stationnaire . . . 16
2.1.2 Lien avec une susceptibilité non-linéaire . . . 17
2.1.3 Interaction du milieu avec une pompe de durée finie . . . 17
2.2 La réponse impulsionnelle $r(t,t')$ . . . 18
2.2.1 Modélisation par un système à deux niveaux . . . 18
2.2.2 Expression de la polarisation . . . 19
2.3 Aspects tensoriels . . . 20
2.3.1 Calcul de la réponse tensorielle pour un milieu photosélectif . . . 21
2.3.2 Expression de la polarisation différentielle . . . 23
2.3.3 Angle magique et anisotropie . . . 23
2.3.3.1 Expériences pompe-sonde . . . 24
2.3.3.2 Expériences de détection homodyne . . . 24
2.3.4 Application à notre cas : l'hème . . . 25
2.4 Largeur spectrale du profil d'absorption . . . 25
2.5 Expression de la fonction de réponse impulsionnelle . . . 27
2.6 Simulations des expériences . . . 28
2.6.1 Expériences pompe-sonde . . . 28

2.6.1.1 Signal d'absorption différentielle intégré spectralement . . . 28
2.6.1.2 Approximation dans la limite d'une raie fine 29
2.6.2 Expériences de détection du champ émis 30
2.6.2.1 Mesure idéale du champ émis 31
2.6.2.2 Expression à l'aide de la fonction de réponse 31
2.6.2.3 Différentes configurations expérimentales 32
2.6.2.4 Détection homodyne autoréférencée : quantité mesurée . . . 34

3 Zoologie des fonctions de réponse 35
3.1 Introduction 35
3.1.1 Intensité transmise et champ rayonné 35
3.1.2 Cas d'une réponse linéaire stationnaire 36
3.1.3 Cas d'une réponse non linéaire-stationnaire 37
3.2 Spectre dépendant du temps 38
3.2.1 Expression du spectre mesuré 39
3.2.2 Spectre stationnaire et non-stationnaire 39
3.2.3 Spectre impulsionnel 39
3.2.4 Effets de cohérence 40
3.2.4.1 Introduction 40
3.2.4.2 Résolution temporelle 43
3.3 Point de vue fréquence-fréquence 43
3.3.1 Présentation 44
3.3.2 Quantités mesurées dans les expériences 44
3.3.2.1 Expériences intégrées spectralement 45
3.3.2.2 Expériences résolues spectralement 45
3.3.2.3 Expériences bidimensionnelles 45
3.3.3 Cas d'un changement de fréquence instantané 46
3.3.3.1 Calcul de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ 46
3.3.3.2 Spectre impulsionnel dépendant du temps 48
3.3.3.3 Observation des effets de cohérence 50
3.3.4 Lien avec les expériences de Raman impulsionnel 53
3.4 Point de vue temps-fréquence 53
3.4.1 Présentation 55
3.4.2 Signal d'absorption intégré spectralement 55
3.4.3 Signal de détection homodyne 56
3.4.3.1 Fonction de Wigner d'une séquence de deux impulsions . . . 56
3.4.4 $\mathcal{R}^W(t,\omega)$: Précisions et utilisation 57

4 Mise en œuvre expérimentale 59
4.1 Source laser 59
4.1.1 Source Amplifiée 59
4.1.2 Amplification paramétrique optique et génération d'infrarouge moyen 60
4.2 Caractérisation 63
4.2.1 Spectromètre Infrarouge 63
4.2.2 Corrélation entre impulsion visible et impulsion infrarouge 64

4.3 Échantillons de carboxymyoglobine 65
4.3.1 Préparation de l'échantillon 65
4.3.2 Dissociation de la liaison Fe-CO par l'impulsion pompe 66
4.4 Détection différentielle 67
4.4.1 Hacheur mécanique rapide 68
4.4.2 Détecteurs infrarouges 69
4.4.3 Détection utilisant une référence 69
4.4.3.1 Linéarité des détecteurs 70
4.4.3.2 Soustraction des intensités 70
4.4.4 Superposition pompe-sonde 73
4.5 Expérience de détection du champ émis 73
4.5.1 Configurations expérimentales 73
4.5.1.1 Notre première approche 73
4.5.1.2 Interférométrie dans l'infrarouge moyen 74
4.5.1.3 Utilisation d'un asservissement en phase passif 74
4.5.1.4 Détection d'un terme d'interférence champ émis-référence . 74
4.5.2 Réalisation 76
4.5.2.1 Interféromètre asservi 76
4.5.2.2 Somme de fréquences pour la détection du terme d'interférence 79

5 Résultats expérimentaux et simulations 81
5.1 Expériences pompe-sonde 82
5.1.1 Présentation 82
5.1.2 Utilisation de différentes sondes infrarouges 82
5.2 Analyse des données expérimentales 86
5.2.1 Simulations 86
5.2.1.1 Description du transfert de ligand dans MbCO 86
5.2.1.2 Calcul numérique : précisions 87
5.2.2 Ajustements, simulations des résultats expérimentaux 87
5.2.2.1 Changement de force d'oscillateur instantané 88
5.2.2.2 Paramètres décrivant le transfert du CO 88
5.2.2.3 Changement progressif de la fréquence vibrationnelle du CO 89
5.2.2.4 Effet d'une dérive de fréquence de la sonde 90
5.2.3 Élargissement spectral de la raie vibrationnelle du CO 92
5.2.3.1 Expériences intégrées spectralement 92
5.2.3.2 Comparaisons à des expériences résolues spectralement . . . 92
5.2.3.3 Élargissement et effets de cohérence 95
5.2.4 La force d'oscillateur comme sonde du transfert du CO 96

Conclusions 99

A Notations et conventions utilisées 103
A.1 Transformée de Fourier, Quantités complexes 103
A.2 Champ électrique des impulsions brèves 104
A.3 Temps et délais 104

A.4 Réponse linéaire 104
A.5 Formulaire 105

B Convolution par une pompe de durée finie **107**

C Approximation adiabatique **109**

D Calcul pour la représentation temps-fréquence **111**

E Expression du terme croisé interférométrique **113**

Références **115**

Introduction

Le transfert de ligands — ou de petites molécules telles que O_2, NO, CO, CN... — dans les hémoprotéines est un processus au cœur de nombreuses fonctions biologiques : stockage et transport de ligands, catalyse enzymatique, voire encore détection de ligands. Une compréhension détaillée de ce mécanisme est donc cruciale pour élucider les principes et la mécanique à l'œuvre dans l'accomplissement des tâches essentielles à la vie réalisées par ces hémoprotéines communes à de très nombreux organismes.

L'aptitude de ces protéines à accomplir leur fonction s'appuie en particulier sur l'aptitude de ces protéines à

- discriminer les différents ligands par un accès sélectif à leur site de liaison : l'hème ;
- transférer de façon réversible le ligand de la poche de l'hème vers le solvant.

Les différentes étapes du transfert de ligand ont lieu à des échelles de temps couvrant plusieurs ordres de grandeur. Les étapes les plus rapides s'accomplissent à l'échelle de temps des mouvements des atomes, c'est-à-dire à l'échelle femtoseconde. Nous nous sommes intéressés au cours de cette thèse aux premières étapes de ce transfert de ligands. Ces étapes correspondent à l'événement initial, localisé sur l'hème auquel l'ensemble de la protéine va répondre : la dissociation du ligand de l'hème. Dans cette étude, l'utilisation d'impulsions femtosecondes permet d'obtenir une grande richesse d'informations sur les mécanismes moléculaires impliqués dans ces processus qui peuvent être à l'origine de l'extrême efficacité de la fonction de la protéine.

Les configurations expérimentales proposées et mises au point dans cette thèse devraient permettre d'acquérir des informations précises sur les mécanismes se déroulant dans toutes les hémoprotéines. Nous avons choisi de montrer leur intérêt dans la myoglobine, une hémoprotéine très étudiée et facilement disponible. La fixation du ligand CO à son site actif est bien caractérisée, à la fois lorsque le ligand est lié au Fer de l'hème et lorsque ce même ligand se trouve toujours dans la poche de l'hème dans un site spécifique appelé «docking site».

Le processus de dissociation et de transfert dans la carboxymyoglobine a déjà été étudié par diverses techniques. Cependant, malgré les nombreuses données qui existent déjà sur le transfert de ligand dans la carboxymyoglobine, les premières étapes de la dissociation et du transfert du ligand restent méconnues. Nous avons donc choisi d'utiliser une configuration expérimentale qui nous permette d'avoir accès aux premiers instants qui suivent la dissociation du ligand. Notre montage expérimental femtoseconde utilise une pompe visible ainsi que des impulsions dans l'infrarouge moyen qui sondent le transfert de ligands. L'utilisation d'impulsions infrarouges nous permet d'être directement sensible aux propriétés vibrationnelles du ligand. La sensibilité de la vibration du ligand à son environnement, à sa position dans la cage protéique et aux différentes liaisons qu'il peut établir fait du domaine moyen-infrarouge

une zone spectrale très intéressante, capable d'obtenir des informations très directes sur le ligand au cours de son transfert.

Cependant, la finesse des raies vibrationnelles du CO rend difficile l'obtention d'une information à la fois spectrale et temporelle lorsque la dynamique observée est plus rapide que le temps de déphasage de la vibration. Pour contourner cet obstacle, nous avons, d'une part, utilisé une première configuration expérimentale dans laquelle l'absorption est intégrée spectralement et d'autre part, mis en place une deuxième configuration expérimentale dans laquelle le champ émis par le ligand au cours du transfert est directement mesuré.

La première configuration expérimentale a permis d'observer un effet inattendu : une décroissance progressive de la force d'oscillateur du ligand CO suite à sa dissociation. Cette force d'oscillateur pourrait être un indicateur de sa position à l'intérieur de la poche de l'hème. La deuxième configuration qui permet d'accéder au champ émis par le CO en amplitude et en phase devrait donner des informations plus complètes sur la force d'oscillateur et la fréquence instantanée du ligand.

Le chapitre **1** introduit le transfert de ligands dans les hémoprotéines, en particulier dans les protéines de type globine telles que la myoglobine. Il présente les caractéristiques infrarouges du ligand CO sur lesquelles sont basées nos expériences et rappelle les expériences déjà effectuées dans la carboxymyoglobine.

Le chapitre **2**, théorique, présente le formalisme de la réponse linéaire non-stationnaire sur lequel est basé le modèle que nous utilisons pour réaliser les simulations de nos résultats expérimentaux.

Le chapitre **3** est motivé par la compréhension des effets de polarisation perturbée et leur manifestation dans différentes configurations expérimentales. Il étudie la fonction de réponse linéaire non-stationnaire sous un aspect spectral et spectro-temporel.

Le chapitre **4** présente le montage expérimental que nous avons utilisé pour réaliser nos expériences ainsi que les innovations apportées au cours de ce travail.

Le chapitre **5** présente les résultats expérimentaux que nous avons obtenus sur le transfert du ligand CO dans la myoglobine, ainsi que leur interprétation à la lumière des simulations et de résultats précédemment obtenus.

Chapitre 1

Transfert de ligands dans les hémoprotéines

Ce chapitre détaille le cadre dans lequel se placent les expériences que nous avons menées dans ce travail. Nous présentons succinctement les hémoprotéines (section **1.1.1**) et nous approfondissons le cas de la myoglobine, système protéique modèle très étudié que nous avons utilisé dans nos expériences (section **1.1.2**). Nous présentons ensuite les caractéristiques du transfert de ligands dans la myoglobine (section **1.1.3**) et les caractéristiques spectrales de la carboxymyoglobine sur lesquelles nous nous appuyons pour réaliser nos expériences (section **1.1.4**) ; Nous présentons en particulier les modifications des propriétés vibrationnelles du ligand au cours du transfert. Nous rappelons ensuite les expériences déjà effectuées dans la myoglobine utilisant la vibration du CO dans le moyen infrarouge pour étudier le transfert de ligands (section **1.1.5**).

Nous détaillons ensuite (section **1.2**) les différentes expériences que nous avons effectuées et envisagées au cours de ce travail de thèse.

1.1 Transfert de ligand dans les hémoprotéines

1.1.1 Hémoprotéines

Les hémoprotéines sont des protéines qui possèdent un ou plusieurs groupements appelés hèmes. L'**hème** est enchâssé dans le squelette polypeptidique de la protéine auquel il est lié.[1] Ce constituant non-protéique (il n'est pas composé d'acides aminés) joue un rôle primordial dans la fonction de l'hémoprotéine qui le contient et en constitue un des sites actifs importants. C'est une molécule plane (une porphyrine) au cœur de laquelle se trouve un atome métallique (Fer) entouré de quatre atomes d'Azote (voir figure 1.1). Cet atome métallique est à la base de la chimie variée dont l'hème est capable. C'est en liant différentes petites molécules que nous appellerons **ligands** : O_2, CO, NO, CN... ou en changeant ses états d'oxydation et de spin que l'atome central de l'hème va permettre à la protéine qui le contient d'accomplir sa fonction : stockage et transport de ligands pour la myoglobine et

1. Pour désigner les parties non protéiques qui, comme l'hème, interviennent dans la fonction des protéines, le terme de cofacteur, ou encore de groupement prosthétique est employé.

l'hémoglobine, transport d'électrons dans le cas du cytochrome c, catalyse enzymatique pour la cytochrome c oxydase, production de molécules de signalisation (NO) pour la NO-synthase et encore détection de ligands par les senseurs à hème bactériens FixL et Dos (O_2) ou la guanylate cyclase soluble (NO). Cette liste non exhaustive[2] donne une idée du large éventail des fonctions connues[3] des hémoprotéines.

Dans toutes ces hémoprotéines, la gestion de l'entrée et de la sortie des ligands du site de liaison du ligand se fait de façon adaptée à leur fonction. Par exemple, dans FixL, Dos et la guanylate cyclase, la dissociation du ligand physiologique CO et NO, est suivie d'une recombinaison rapide (fonction détecteur de ligand) [4, 5] alors que dans la NO-synthase, la dissociation du NO est suivie d'un départ vers l'extérieur de la protéine (fonction synthèse de ligand pour une utilisation autre part) [6]. Ce «trafic» de ligand a donc un rôle essentiel, intimement lié à la fonction à accomplir. Dans le cas de la cytochrome c oxydase, une participation de mouvements concertés de l'environnement protéique au transfert de ligand a même été démontrée [7, 8].

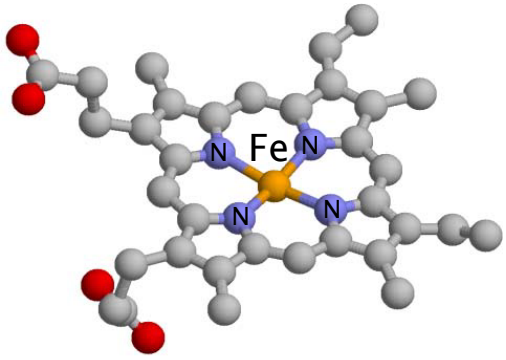

FIG. 1.1 : *L'hème : l'atome de Fer central est lié à quatre atomes d'Azote. Cette structure laisse vacants sur le Fer deux sites de coordination placés de part et d'autre du plan de l'hème. Cette figure à été réalisée avec le logiciel Rasmol à partir de la structure 1ABS de la myoglobine (Brookhaven Protein Data Bank).*

Si l'hème, par l'intermédiaire de son atome métallique central, est très réactif, il ne possède pas à lui seul les qualités de sélectivité chimique qui permettent de rendre compte de la diversité des fonctions accomplies par les hémoprotéines. Le rôle de la chaîne polypeptidique est donc lui-aussi essentiel : il va canaliser le potentiel réactif de l'hème pour assurer la spécificité de la réaction chimique nécessaire à la fonction de l'hémoprotéine [9].

La charpente polypeptidique protège le cofacteur hémique du solvant en créant autour de l'hème un arrangement spatial particulier d'acides aminés dédié à la fonction de la protéine : la **poche de l'hème**. C'est seulement lorsqu'il est spécifiquement inséré dans la matrice protéique qui module ses propriétés que l'hème est rendu biologiquement fonctionnel. Par exemple, l'affinité du CO pour un hème en solution est 25000 fois supérieure à celle de

2. Ces protéines font l'objet d'études au Laboratoire d'Optique et Biosciences.

3. Toutes les fonctions des hémoprotéines ne sont pas déterminées ; c'est le cas en particulier de la cytoglobine [1] et de la neuroglobine [2]. Très récemment, un nouveau rôle de l'hème dans la régulation des canaux Potassium a été découvert [3].

l'O_2. Ce rapport est réduit à 250 pour un hème placé à l'intérieur de la protéine. Cette modification d'affinité relative permet aux hémoprotéines de ne pas fixer le CO produit de façon endogène pendant la dégradation de l'hème.[4] L'enzyme cytochrome c oxydase, dont le rôle dans la chaîne respiratoire est de réduire l'O_2 en eau en utilisant les électrons apportés par le cytochrome c, place un atome de Cuivre face à l'atome de Fer central de l'hème. Cet atome de Cuivre pourrait jouer le rôle d'une porte d'entrée sélective pour les ligands pouvant se fixer sur le Fer.

1.1.2 La myoglobine

La myoglobine et sa proche parente l'hémoglobine, sont des protéines très étudiées. Toutes deux sont des protéines modèles dans l'étude du transfert de ligands. Ce sont les premières protéines dont la structure tridimensionnelle a été résolue par diffraction de rayons X [10,11].

L'**hémoglobine** est une protéine constitué de quatre sous-unités de globine qui possèdent chacune un hème ; ces sous-unités possèdent chacune une structure tridimensionnelle très proche de celle de la myoglobine [12]. L'hémoglobine réalise le transport d'O_2 dans l'organisme en modulant son affinité pour l'O_2 selon son environnement. Ce changement d'affinité de la protéine s'appuie sur le fonctionnement concerté de ses différentes sous-unités : ce mécanisme a servi de modèle au développement du concept de coopérativité [13] dans les systèmes protéiques.

L'hémoglobine est aussi un des premiers systèmes dans lequel nous possédons une description de la base mécanique qui donne à la protéine son caractère allostérique [14] ; c'est-à-dire sa capacité à changer d'activité par une modification conformationnelle sous l'effet de la liaison d'un effecteur, en l'occurrence la liaison avec le ligand O_2.

La **myoglobine** sur laquelle nous nous concentrons maintenant, est un système protéique modèle. C'est une protéine monomérique qui ne possède pas la structure quaternaire nécessaire à la fonction «complexe» de l'hémoglobine (coopérativité). Elle se trouve principalement dans les muscles et permet le stockage d'oxygène au voisinage des mitochondries. Récemment, un rôle dans l'élimination du NO lui a également été attribué [15,16].

La myoglobine (figure 1.2) est une protéine compacte de dimensions $\sim 4.5 \times 3.5 \times 2.5$ nm^3, comportant 153 acides aminés, de poids moléculaire 17.2 kD. Elle est constituée de huit hélices α (désignées par les lettres A à H) repliées autour de l'hème. Ce type de chaîne polypeptidique est appelé **globine**. Plus que la seule homologie de séquence relativement faible entre les différentes types de globines, c'est la conservation d'une structure tridimensionnelle (*globin fold*) composée d'hélices α qui place l'hème au milieu de résidus non polaires et d'un nombre restreint ($\sim$10) de résidus clés très bien conservés qui caractérisent la chaîne polypeptidique de la superfamille des globines.

La nomenclature (commune aux globines) nomme les résidus selon l'hélice dans laquelle ils se trouvent (E7 désigne par exemple le septième acide aminé, compté du côté N- vers le côté C-terminal, de la cinquième hélice).[5] Dans le cas d'une protéine particulière, l'acide

4. Ce rapport est tout de même suffisant pour faire de CO un poison provoquant l'anoxie.

5. Les résidus se trouvant dans les «coudes» entre deux hélices sont nommés d'après les deux hélices

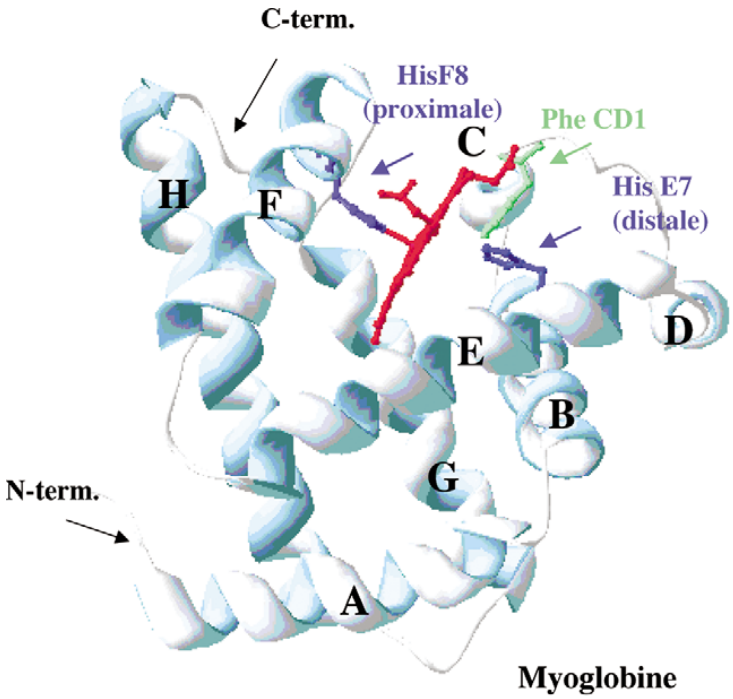

FIG. 1.2 : *Structure de la myoglobine de cachalot. Huit hélices α entourent l'hème dans une structure globin fold. Les trois résidus F8, E7 et CD1 explicitement montrés sont extrêmement bien conservés parmi toutes les globines. Cette figure est reproduite de la référence [17].*

aminé est aussi spécifié par sa position dans la chaîne polypeptidique ; ainsi, dans le cas de la myoglobine, E7 est une histidine appelée His^{64} [12, 18, 19].

Le gène qui code cette chaîne polypeptidique est constitué de trois exons :

- un exon N-terminal codant pour les résidus 1 à 30 ;
- un exon central codant pour les résidus 31 à 105 ;
- un exon C-terminal codant pour les résidus 106 à 153.

L'exon central code pour la plupart des résidus présents dans la poche de l'hème, il constitue la quasi-totalité du fragment 32-139 de la myoglobine appelé «mini-myoglobine» qui est une forme capable de lier des ligands de façon réversible. Cependant, les changements conformationnels liés à la liaison d'un ligand sont trop importants pour faire de cette «mini-myoglobine» une forme fonctionnelle. Les fragments C- et N-terminal ont pour rôle d'amortir la forte réponse conformationnelle de cette sous-unité et d'atteindre la «masse critique» nécessaire à l'activité biologique de la myoglobine [20].

Tous les résidus se trouvant à l'intérieur de la myoglobine sont des résidus non polaires [12], à l'exception de deux histidines jouant des rôles importants (voir figures 1.2 et 1.3) :

- l'histidine 93 (His^{93}) dite proximale (F8) qui est liée de façon covalente au cinquième site de coordination du Fer de l'hème (voir figure 1.1). Cette histidine fait partie des résidus clés conservés dans la chaîne de globine. Dans le cas de l'hémoglobine, cette histidine proximale (F8) joue un rôle particulièrement important. C'est par l'intermédiaire de ce résidu que se répercutent sur la chaîne polypeptidique les modifications conformationnelles de l'hème (passage de la porphyrine d'une forme en dôme à une conformation plane) associées à la présence d'un ligand sur le Fer ;
- l'histidine 64 (His^{64}) dite distale (E7). Cette histidine n'est pas liée au Fer mais est située en face du sixième site de coordination de l'hème, le site de fixation du ligand. C'est le résidu en plus forte interaction avec le ligand fixé sur l'hème. En particulier, la liaison hydrogène que cette Histidine établit avec le ligand vient influencer les caractéristiques vibrationnelles du ligand [21, 22]. His^{64} joue sûrement un grand rôle dans la capacité de la myoglobine à discriminer entre le poison CO et l'O_2 utile [23, 24].

Ainsi s'esquisse, de l'hème jusqu'à la protéine entière, une hiérarchie de structures (hème–poche de l'hème–protéine entière) qui permettent, selon l'image du *protein-quake* [25], de répercuter de manière contrôlée, à l'échelle globale de la protéine, des modifications locales se déroulant sur l'hème, à l'échelle atomique.

1.1.3 Transfert du ligand CO dans la myoglobine

Le passage des ligands du site de l'hème au solvant et la discrimination des ligands site de fixation font partie intégrante du mécanisme à la base de la fonction de beaucoup d'hémoprotéines. Nous nous sommes donc intéressés à ce mécanisme dans le cas de la myoglobine et nous avons utilisé le CO comme ligand. Le périple du ligand de la poche de l'hème jusqu'au solvant illustre bien qu'à la hiérarchie d'échelles spatiales précédemment décrite

adjacentes (par exemple CD1 est le premier résidu du «coude» qui sépare les hélices C et D).

correspond une hiérarchie d'échelles de temps. Après dissociation du Fer de l'hème, le CO va sortir de la protéine en passant par une série d'étapes intermédiaires.

- A l'échelle ps et ns, le CO dissocié se trouve dans un site à l'intérieur de la poche de l'hème : le «**docking site**» [26]. Ce «docking site» a été identifié comme étant constitué des résidus Leu29, Val68 et Ile109 [27, 28](figure 1.3).
- A l'échelle ns et μs, le CO quitte le «docking site» et la poche de l'hème pour trouver son chemin à travers la protéine en passant par des cavités formées par le squelette protéique (dénommées Xe1 à Xe4) [29, 30, 31].
- Enfin, l'échelle ms correspond à la sortie du ligand de la protéine [28].

Nos expériences étudient la toute première étape du passage du ligand de l'hème jusqu'au solvant et nous emploierons le terme de transfert de ligand pour désigner le transfert du ligand du Fer de l'hème au «docking site». Cette première étape a lieu à l'échelle de quelques centaines de femtosecondes.

1.1.3.1 Méthode expérimentale

Pour suivre ce transfert, nous utilisons des impulsions laser femtosecondes. Celles-ci nous permettent de suivre la dissociation du ligand par l'intermédiaire des changements d'absorption associés au transfert. Ces expériences font intervenir deux domaines spectraux distincts :

- Nous utilisons une impulsion à 400 nm dans le domaine **visible** pour initier le transfert de ligand, par la rupture de la liaison Fe-CO. Cette impulsion femtoseconde est dite impulsion de pompe. La rupture de la liaison Fe-CO suite à une excitation électronique de l'hème s'effectue de façon quasi-instantanée ($\leq$ 50-100 fs) d'après les expériences d'absorption résolues en temps effectuées dans le visible [32, 33, 34, 35, 36].
- Nous utilisons ensuite dans différentes expériences des impulsions dans le domaine **infrarouge** autour de 5 μm qui correspond au domaine de la fréquence vibrationnelle du CO. Au cours de son transfert de l'hème jusqu'au «docking site», les propriétés vibrationnelles du CO vont être modifiées, par exemple, la fréquence vibrationnelle du CO dépend du site de fixation [26, 37]. Cette fréquence est également influencée par les résidus environnants de la poche de l'hème, par l'intermédiaire de la formation de liaisons hydrogènes [22] et plus généralement par le champ électrique local dû à l'environnement protéique [38, 39, 40, 41]. Ces modifications entraînent le changement des propriétés optiques de l'échantillon dans l'infrarouge grâce auxquelles nous pouvons suivre l'évolution du ligand.

  Cette impulsion est l'impulsion sonde infrarouge des expériences pompe-sonde. L'utilisation d'impulsions infrarouges permet d'être directement sensible aux propriétés du ligand, contrairement aux expériences utilisant une sonde dans le visible qui ne sont sensibles qu'à l'état électronique de l'hème. Nous présentons à la section 1.2 différentes expériences qui utilisent des impulsions infrarouges pour obtenir des informations sur le transfert du ligand.

L'utilisation du CO à la place du ligand physiologique O_2 facilite l'étude du transfert de ligand. Pour nos expériences, il possède un avantage crucial par rapport à l'O_2 : l'absorption

infrarouge du CO est beaucoup plus forte que celle de l'O_2 (ou de NO). Par ailleurs, le rendement quantique (*quantum yield*) du processus de dissociation est de 1 : un ligand CO est dissocié par photon visible absorbé [35].

Le CO, gaz toxique, n'est *a priori* pas un ligand physiologique pour la myoglobine, l'hémoglobine et la cytochrome c oxydase. Néanmoins, un rôle physiologique pour ce gaz capable de diffuser à travers les membranes cellulaires vient d'être découvert chez les mammifères [42, 43]. D'après ces publications récentes, le CO, qui est produit pendant la dégradation de l'hème, inhibe la liaison sur l'ADN d'un facteur de transcription qui régule l'expression d'une centaine de gènes dont une partie intervient dans le cycle circadien. Cette découverte vient s'ajouter à celle d'une protéine-senseur de CO, appelée CooA [44, 45], dans la bactérie *Rhodospirullum rubrum* ainsi qu'à celle d'un rôle de neurotransmetteur pour le CO qui, comme le NO, se lie sur l'hème de la guanylate cyclase pour moduler son activité catalytique et la production de cGMP (guanosine 3',5'-monophosphate) [46].

1.1.4 Spectres d'absorption visible et infrarouge de la carboxymyoglobine

1.1.4.1 Absorption visible

Le spectre visible de l'hème est représenté à la figure 1.4, il comporte deux bandes d'absorption : la bande de Soret située autour de 400 nm et la bande Q (500–600 nm). C'est par l'intermédiaire de la bande de Soret, due à une transition électronique π-$\pi^\star$ de l'hème, que nous déclenchons le transfert de ligand : en utilisant cette transition, une impulsion de pompe à 400 nm porte l'hème dans un état électronique excité se trouvant sur une surface de potentiel dissociative pour la liaison Fe-CO. De même, il est aussi possible de s'appuyer sur l'absorption de la bande Q pour initier la dissociation.

Nous utilisons aussi le spectre d'absorption visible pour caractériser nos échantillons.

Le spectre d'absorption visible du système d'électrons π de l'hème est sensible à l'état d'oxydation du Fer ainsi qu'à la fixation de différents ligands. Les expériences qui utilisent une sonde dans le visible sont donc très sensibles à l'état de l'hème et à la présence d'un ligand fixé sur le Fer. Cependant, les informations qu'une telle sonde peut obtenir sur un ligand non fixé à l'hème sont plus limitées. L'apport d'une sonde infrarouge est donc de pouvoir donner des indications très directes sur le ligand non lié à l'hème, pendant le transfert de celui-ci vers le «docking site» par exemple.

1.1.4.2 Le domaine infrarouge

Autour de 5 μm, la vibration du CO est clairement identifiable. En effet, la raie d'absorption du CO se situe en dehors des bandes d'absorption infrarouges liées au squelette polypeptidique (bandes amides I et II) [48]. Lors de son transfert de son site de fixation covalente sur l'hème au «docking site», les caractéristiques vibrationnelles du CO sont fortement modifiées. En particulier, la force d'oscillateur et la fréquence de résonance du CO est modifiée au cours du transfert.

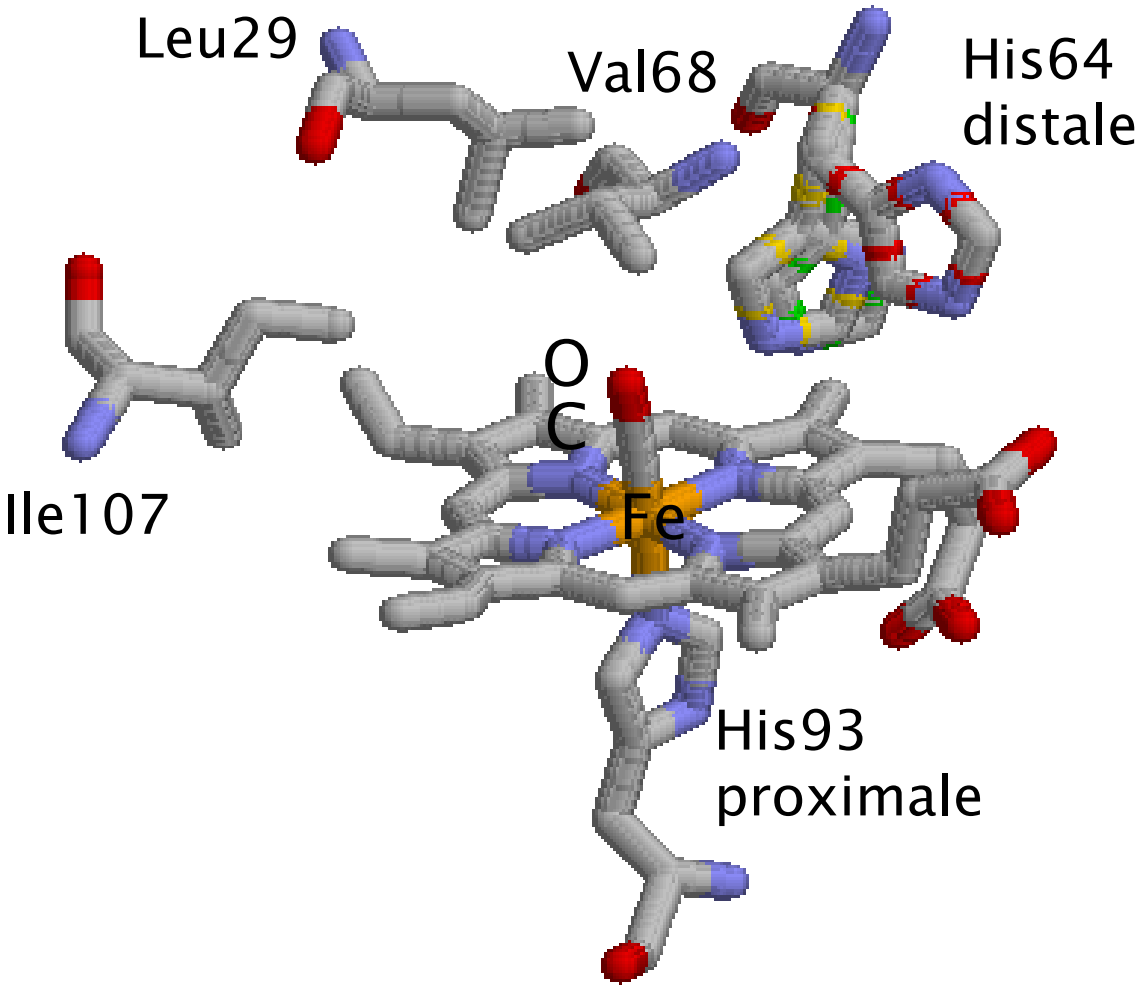

FIG. 1.3 : *Détail de la poche de l'hème de la carboxymyoglobine (cachalot). Le CO est fixé sur le Fer central de l'hème. Les atomes d'Oxygène (en rouge) et d'Azote (en bleu) sont distingués. Du côté proximal, Le Fer est lié de façon covalente à l'histidine 93 de l'hélice F. Le ligand CO est lié du coté distal du plan de l'hème. Trois positions de la même histidine (His^{64}) distale sont données, elles correspondent, d'après [47], aux trois conformations A_3, A_1 et A_0 qui se distinguent dans le spectre infrarouge de la carboxymyoglobine (voir figure 1.5). Les trois autres résidus (Ile^{107},Val^{68} et Leu^{29}) représentés forment le «docking site» où le CO vient se loger après dissociation de l'hème. Cette figure à été réalisée avec le logiciel Rasmol à partir de la structure 1A6G [47] de la Brookhaven Protein Data Bank.*

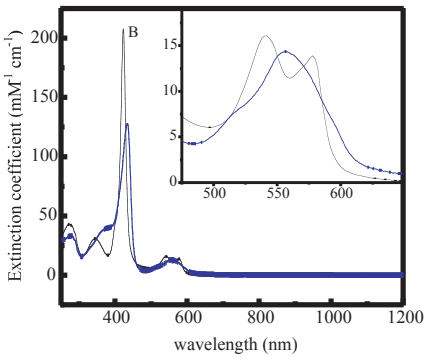

FIG. 1.4 : *Spectres d'absorption dans le domaine visible de déoxymyoglobine et carboxymyoglobine. Le spectre de carboxymyoglobine est caractérisé par une bande Q (500–600 nm) structurée et par un décalage du maximum de la bande B (bande de Soret) vers le bleu d'environ 15 nm par rapport au spectre de la forme deoxy de la myoglobine dans laquelle le Fer est réduit (Fe(II)) et qui ne contient pas de CO (bleu).*

a États A : CO lié à l'hème Lorsque le CO se trouve sur le site de fixation de l'hème, il présente une absorption autour d'une bande principale à $\nu_A = 1945$ cm^{-1}. Cette absorption est constituée de trois différentes bandes appelées A_0, A_1 et A_3 centrées respectivement à 1965, 1945 et 1930 cm^{-1} [49] et observables figure 1.5. Ces différentes sous-bandes sont attribuées à des conformations différentes de la carboxymyoglobine. Elles ont été attribuées à différentes positions de l'histidine distale polaire qui module la rétroliaison π (π *back-bonding*) des électrons du Fer au CO. La conformation qui donne lieu à la bande A_1 est la plus peuplée (∼60%) alors que les deux autres conformations sont présentes seulement pour 20% chacune [47].

Lorsque le CO est lié à l'hème, il est orienté, à quelques degrés près, (voir figure 1.3) selon la normale au plan de l'hème [50].

b États B : le «docking site» Le CO sur le «docking site» (voir figure 1.6 et figure 1.3) possède une bande d'absorption autour d'une bande principale à $\nu_B = 2130$ cm^{-1}. La force d'oscillateur du dipôle du CO diminue alors considérablement et vaut $\frac{1}{34}$ de la force d'oscillateur du CO lié au Fer [26]. Ce «**docking-site**» [26, 27] a été identifié [51, 28] comme étant formé de trois résidus montrés figure 1.3 (Val^{68},Leu^{29} et Ils^{107}).

Lorsque le CO se trouve sur le «docking site», il possède un dipôle contenu, à quelques degrés près, dans un plan parallèle au plan de l'hème et perpendiculaire à sa direction initiale. Deux raies d'absorption, décalées spectralement ont été observées (voir figure 1.6). Elles ont été attribuées à deux orientations opposées du ligand dans le «docking site» [52].

c Rétroliaison π (π *back-bonding*) Ce mécanisme joue un rôle important dans les caractéristiques vibrationnelles du CO lorsqu'il est lié au Fer. La rétroliaison π, dont le mécanisme est illustré figure 1.7, est un mécanisme dans lequel le Fer transfère des charges au ligand CO : l'hybridation de l'orbitale d_π du Fer (métal M de la figure) avec l'orbitale

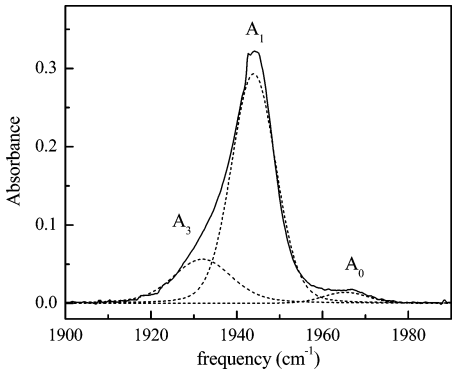

FIG. 1.5 : *Spectre infrarouge des états A de la carboxymyoglobine (cette figure est extraite de [21]). Il s'agit d'un spectre infrarouge de la carboxymyoglobine (cheval) mesuré à 298 K (pH=7). La déconvolution de ce spectre fait apparaître les différentes sous-bandes de l'absorption du CO qui sont dues à différentes conformations de la protéine.*

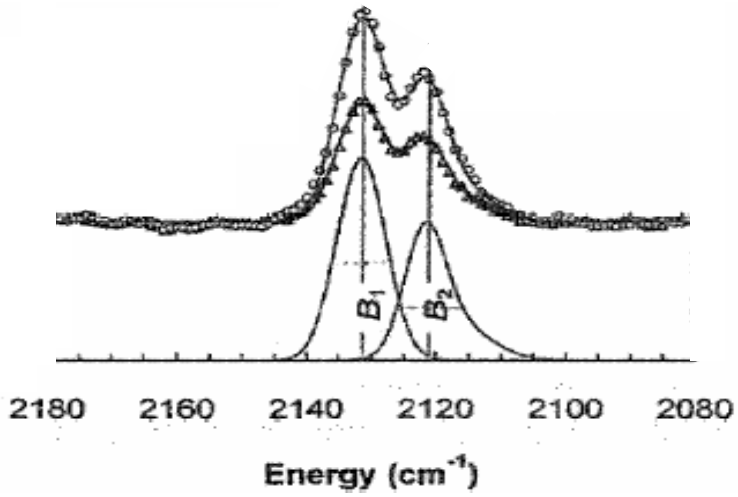

FIG. 1.6 : *Spectre infrarouge des états B de la carboxymyoglobine (cheval) 10 ps après photodissociation. Le spectre des états B fait apparaître deux bandes B1 (à 2131 cm^{-1}) et B2 (à 2121 cm^{-1}) correspondant à deux orientations différentes du CO au «docking site» [52]. L'absorption intégrée spectralement est beaucoup plus faible, d'un facteur 34 [26] que l'absorption intégrée des états A correspondants au CO fixé sur le Fer. Les deux courbes expérimentales correspondent à deux polarisations différentes de la sonde. Cette figure est extraite de la référence [52].*

antiliante $\pi^\star$ du CO stabilise la liaison Fe-CO. La liaison CO est alors affaiblie par le peuplement de cette orbitale antiliante. Ceci a en particulier comme conséquence de diminuer la fréquence de vibration du CO lié au Fer par rapport à la fréquence du CO libre.

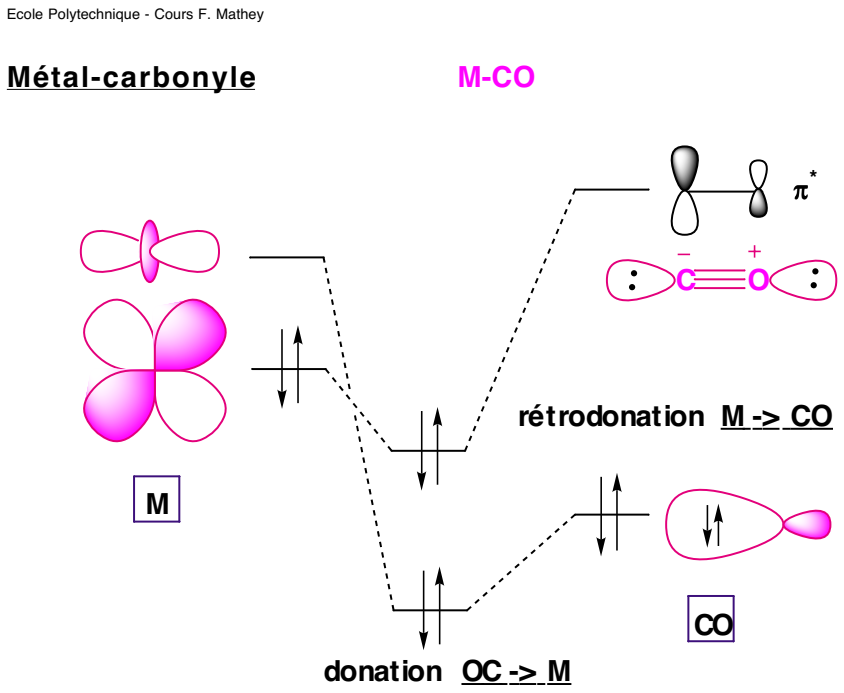

FIG. 1.7 : *L'orbitale d_π du Fer dans notre cas (ici le métal M) possède avec l'orbitale $\pi^\star$ du ligand CO un fort recouvrement. La rétroliaison π consiste en un transfert d'électrons du Fer vers le ligand qui stabilise la liaison Fe-CO. Comme l'orbitale $\pi^\star$ du ligand possède un fort caractère antiliant, la liaison C-O est affaiblie par la liaison avec le Fer. Il s'ensuit une augmentation de la distance C-O et une baisse de la fréquence de résonance du CO lorsque celui-ci est lié au Fer. Cette figure est extraite de la référence [53].*

La rétroliaison π permet de rendre compte qualitativement du changement des caractéristiques vibrationnelles entre un CO libre sur le «docking site» et un CO lié au Fer. Elle explique le changement de fréquence vibrationnelle du CO ainsi que les différentes fréquences de résonance entre les différents sous-états A par une modulation de cette rétroliaison par les différentes positions de His^{64} polaire [47].

L'intérêt du domaine infrarouge est de disposer de marqueurs spectroscopiques bien identifiés. La finesse des raies vibrationnelles en fait un outil d'analyse précis. Cependant, cette même finesse (temps de déphasage picoseconde) va aussi être la cause d'effets de cohérence dans les expériences résolues spectralement utilisant des impulsions femtosecondes. Ces effets de cohérence sont discutés au chapitre 3.

1.1.5 Expériences précédentes

Si les spectres d'absorption infrarouge statiques sont utilisés couramment pour la caractérisation des protéines, peu d'équipes disposent en revanche des moyens nécessaires à la réalisation d'expériences résolues en temps dans l'infrarouge moyen. Les résultats disponibles ont été obtenus soit avec une résolution temporelle qui n'était pas suffisante [54] soit avec des expériences résolues spectralement [52, 26] qui ne permettent pas de suivre les premiers instants suivant le déclenchement de cette réaction de dissociation et de transfert de ligand car un spectre possédant des structures spectrales fines ne peut être obtenu avec la résolution requise en un temps aussi court.

Comme mentionné précédemment, les expériences résolues en temps dans le visible renseignent sur les transitions électroniques de l'hème et ne donnent que des informations indirectes sur le devenir du ligand. Dans certains cas néanmoins, ces expériences peuvent contenir des informations de type vibrationnel liées au déclenchement d'une cohérence vibrationnelle par la pompe [55, 56, 57]. Toutefois, ces expériences ne sont pas directement sensibles à la vibration du CO et font intervenir des modes de plus basses fréquences.

1.2 Configurations expérimentales

Nous avons envisagé et mis en place des expériences de plusieurs types pour étudier le transfert de ligand. Toutes utilisent la même impulsion visible pour initier le transfert en rompant la liaison entre le ligand CO et l'hème. Deux classes d'expériences nous intéressent, des expériences pompe-sonde et des expériences de détection du champ émis.

1.2.1 Expériences pompe-sonde

intégrées spectralement Dans ces expériences, la variation d'intensité transmise à travers l'échantillon d'une impulsion sonde est mesurée en fonction du délai pompe-sonde. Dans le cas de nos expériences dans la myoglobine, l'impulsion pompe induit un changement de fréquence du ligand CO plus grand que la largeur spectrale de la sonde, la variation d'intensité sonde transmise traduit alors les changements de fréquence de résonance et de force d'absorption du CO. Afin de retrouver une information spectrale avec une telle configuration expérimentale, nous réalisons différentes expériences dans lesquelles nous changeons la fréquence centrale de la sonde.

résolues spectralement La variation d'intensité transmise est alors dispersée spectralement ; L'expérience donne un spectre dépendant du délai pompe-sonde. En principe, ces expériences résolues spectralement apportent, par rapport aux expériences intégrées spectralement, des renseignements supplémentaires sur la structure des bandes d'absorption et la largeur des raies observées. Cependant, dans l'étude de raies spectrales fines dont la dynamique est plus rapide que le temps de déphasage, elles font apparaître des effets de cohérence de type polarisation perturbée– discutés dans la section 3.2.4 – qui ne permettent pas une interprétation simple du spectre d'absorption. Ces effets se manifestent autour du délai pompe-sonde nul, ce qui ne permet pas d'avoir accès aux

premières étapes du transfert. C'est pourquoi nous n'avons pas mesuré de tels spectres au cours de ce travail.

1.2.2 Expériences de détection du champ émis

Dans ces expériences, on désire analyser différemment la même réaction en mesurant le champ électrique émis par l'échantillon au cours de la réaction déclenchée par la pompe. Il s'agit de mesurer en amplitude et en phase, le champ émis par le CO lors de son transfert. Ce champ infrarouge émis est mesuré en le faisant interférer avec une impulsion de référence, comme dans [57,58]. Cependant, dans ces dernières expériences, l'émission infrarouge résulte d'une excitation visible par l'intermédiaire d'un processus non-linéaire du second ordre qui exige une non-centrosymétrie du matériau. Ainsi, l'expérience [57] est uniquement possible dans des cristaux de protéines. En revanche, le champ émis que nous voulons mesurer est induit linéairement par une impulsion excitatrice infrarouge. Nous pouvons donc effectuer cette expérience en phase liquide.

Nos expériences de détection du champ infrarouge émis nécessitent deux impulsions infrarouges, l'une, l'**impulsion excitatrice**, induit linéairement une polarisation dans l'échantillon, l'autre, l'**impulsion de référence**, est utilisée pour détecter le champ émis. Une impulsion de pompe est aussi nécessaire pour induire la dissociation. Nous présentons deux expériences qui sont des variations autour de la mesure du champ émis.

détection homodyne référencée Dans ces expériences, une première impulsion infrarouge excitatrice vient exciter la vibration cohérente des molécules de CO liées à l'hème. Il en résulte une polarisation induite dans l'échantillon qui, puisque le temps de déphasage de la raie vibrationnelle du CO est long ($\sim$ ps), va être présente après le passage de cette première impulsion. Avant l'extinction de la polarisation, l'impulsion pompe vient déclencher la dissociation du CO et ainsi modifier le polarisation linéaire induite dans l'échantillon. Une deuxième impulsion infrarouge qui ne passe pas dans l'échantillon joue le rôle d'oscillateur local et mesure le champ émis par le CO au cours de la dissociation et du transfert. Le délai entre l'impulsion excitatrice et l'impulsion pompe est maintenu fixe, inférieur au temps de déphasage du CO. Le délai de l'impulsion de référence varie pour enregistrer l'interférogramme résultant de la superposition du champ émis et du champ de référence.

L'analyse complète du champ émis n'est possible que lorsque le spectre de l'impulsion de référence contient l'ensemble des fréquences présentes dans le champ émis. Dans la cytochrome c oxydase, comme dans le cas de la myoglobine, le CO change de fréquence d'absorption lors du transfert de ligand. Cependant, la variation de fréquence du CO est alors plus faible, elle passe de 1962 cm^{-1} à 2062 cm^{-1} [37]. Une mesure du champ émis est donc mieux adaptée à un tel système dans lequel la fréquence du ligand initiale et finale sont recouvertes par le spectre de l'impulsion infrarouge.

détection homodyne autoréférencée Il est important pour réaliser cette dernière expérience d'interférométrie de disposer d'une relation de phase entre le champ excitateur et le champ de référence, ceci pendant des temps d'acquisition longs afin de détecter des signaux faibles. Nous avons donc cherché à privilégier les configurations expérimentales

qui permettent d'obtenir *facilement* cette relation de phase. Dans ce dernier type d'expérience,

- le délai entre l'impulsion excitatrice et l'impulsion de référence est maintenu constant ;
- Étant issues de faisceaux colinéaires, impulsion excitatrice et impulsion de référence suivent le même chemin optique, en particulier, l'impulsion de référence passe à travers l'échantillon.

Nous faisons alors varier le délai entre cette séquence d'impulsions (formée de l'impulsion excitatrice et de l'impulsion de référence) et l'impulsion pompe et nous cherchons à détecter l'interférence entre le champ émis et le champ de référence. Ce terme *interférométrique* mesure la polarisation perturbée par la pompe.

Ces deux types d'expériences pompe-sonde et de détection du champ émis sont complémentaires :

- les expériences pompe-sonde sont mieux adaptées à l'observation du transfert de ligand dans le cas de la myoglobine ;
- Les expériences de détection du champ émis correspondent mieux à l'étude du transfert de ligand dans la cytochrome c oxydase.

Le terme artefact est parfois employé pour désigner les effets de cohérence qui apparaissent à des délais pompe-sonde négatifs dans les expériences résolues spectralement. Si ces effets de cohérence empêchent une interprétation du spectre transitoire en terme de population, il est pourtant possible d'en extraire une information sur la dynamique du phénomène étudié. C'est ce que réalisent les expériences de Joffre et al. [59] dans le domaine visible. Nous transposons cette même approche au domaine infrarouge dans nos expériences de détection du champ émis. Pour cette raison, nos expériences de détection de champ émis sont aussi qualifiées d'expériences pompe-sonde à délais négatifs. Alors que les expériences [59] dans le domaine visible analysent spectralement le champ émis à un délai pompe-sonde négatif, nos expériences infrarouge analysent le champ émis par interférométrie temporelle à l'aide d'une impulsion de référence. Ce sont essentiellement des raisons technologiques qui expliquent cette différence de méthode : en particulier, il n'existe pas à l'heure actuelle, dans le domaine de l'infrarouge moyen, de spectromètre qui puisse égaler les performances des spectromètres visibles.[6] Une méthode alternative attractive pour la détection d'un champ émis dans le moyen infrarouge consiste donc à décaler spectralement le champ à analyser du domaine infrarouge au domaine visible pour pouvoir bénéficier d'une mesure de spectre monocoup. Un tel décalage spectral peut être obtenu à l'aide d'un processus de somme de fréquences entre le champ infrarouge à détecter et une impulsion visible additionnelle [60,61].

6. Mentionnons aussi qu'il est *a priori* plus facile de mettre en place une méthode de détection interférométrique dans l'infrarouge que dans le visible.

Chapitre 2

Calcul de la fonction de réponse non-stationnaire

Dans ce chapitre, nous présentons le modèle phénoménologique que nous avons utilisé dans nos simulations afin de rendre compte de nos expériences (chapitre **5**).

Ce modèle doit être applicable à l'étude du transfert de ligands dans la myoglobine et la cytochrome c oxydase présentées dans la section **1.1**. Lors du transfert, différentes caractéristiques de la vibration du ligand sont susceptibles de changer : sa fréquence, son amplitude (force d'oscillateur), son temps de déphasage, ainsi que sa direction. Sur un plan statistique, on envisage aussi un élargissement inhomogène dû à de multiples conformations de la protéine ainsi qu'à différentes trajectoires pouvant être empruntées par le ligand.

Ce modèle permet la simulation, à l'aide d'une même base théorique, des deux types d'expériences envisagées dans ce travail : les expériences de type pompe-sonde d'une part, et, d'autre part les expériences de détection du champ émis. Pour simuler ces dernières expériences de détection homodyne, nous devons posséder une description de la polarisation créée dans le milieu lorsqu'elle est perturbée par la dissociation du ligand. Nous devons donc disposer d'une description de la réponse de l'échantillon (dans le domaine infrarouge autour de 5 μm) en présence de l'impulsion de pompe. Par ailleurs, la description complète des expériences pompe-sonde d'absorption différentielle nécessite également la prise en compte des effets de cohérence modélisables à l'aide de cette réponse.

Ce modèle est général puisqu'il doit donner une réponse à un champ excitateur pour une transition dont les caractéristiques citées précédemment peuvent varier. S'il fournit une interface détaillée entre la variation des caractéristiques du ligand et le signal optique mesuré, il ne fait pas d'hypothèses sur la chimie à l'œuvre dans ces changements de paramètres.

A la base du modèle, nous considérons un système à deux niveaux dont la fréquence et le temps de déphasage varient au cours du temps. La variation du dipôle de transition du ligand est aussi prise en compte. Ce dipôle de transition varie en amplitude ainsi qu'en direction.

Nous introduisons d'abord le cadre général de notre modélisation, celle-ci est basée sur une réponse non stationnaire qui dépend linéairement du champ sonde (sections **2.1.1** et **2.1.2**). Nous précisons comment nous faisons intervenir le champ pompe dans notre description (section **2.1.3**). Nous calculons une réponse (section **2.2**) qui prend en compte les effets de photosélectivité (section **2.3**) et d'élargissement inhomogène (section **2.4**). A l'aide de cette réponse (section **2.5**), nous pouvons calculer les signaux attendus dans différentes

configurations expérimentales : expériences pompe-sonde (section **2.6.1**) ou expériences de détection homodyne du champ émis (section **2.6.2**).

Les notations utilisées dans ce chapitre sont précisées dans l'annexe **A**. Ce chapitre fait aussi référence au calcul des annexes **B** et **C**.

2.1 Formalisme général : Fonction de réponse

2.1.1 Expression de la polarisation à l'aide d'une réponse linéaire non-stationnaire

Les calculs menés dans ce chapitre se placent dans le cadre général d'une fonction de réponse non-stationnaire et linéaire vis-à-vis d'un champ incident.

Cette fonction de réponse a pour but de décrire un milieu non-stationnaire, cette non-stationnarité résultant dans nos expériences de l'interaction avec une impulsion pompe. Dans le domaine temporel, nous écrirons une réponse tensorielle notée $\mathcal{R}_{ij}(t,t')$ telle que

$$\mathcal{P}_i(t) = \int_{-\infty}^{\infty} dt' \; \mathcal{R}_{ij}(t,t')\mathcal{E}_j(t'). \tag{2.1}$$

Dans cette équation où il y a sommation sur les indices j répétés, $\vec{\mathcal{P}}(t)$ est la polarisation **complexe**[1] induite dans l'échantillon par le champ **complexe** incident $\vec{\mathcal{E}}(t)$. Ce champ $\vec{\mathcal{E}}(t)$ désignera le champ sonde dans les expériences pompe-sonde et l'impulsion excitatrice dans les expériences de détection homodyne. Cette écriture de la fonction de réponse qui n'utilise que le champ et la polarisation complexe suppose une approximation du champ tournant.[2] Le caractère tensoriel de la fonction de réponse traduit le fait qu'une polarisation peut être induite selon une direction différente de la polarisation du champ excitateur incident.

La fonction de réponse est causale

$$\mathcal{R}(t,t') = \theta(t-t')\mathcal{R}(t,t') \tag{2.2}$$

et ne possède pas l'invariance par translation dans le temps, c'est-à-dire que $\mathcal{R}(t,t')$ ne peut pas s'écrire, comme dans le cas stationnaire, comme une fonction de la seule variable $t-t'$.

Pour des temps négatifs néanmoins, correspondants à un milieu qui ne subit pas l'effet de la pompe arrivant à $t=0$, nous supposons un comportement stationnaire, la réponse est alors liée à la susceptibilité d'ordre 1 du milieu à l'équilibre. La relation

$$\mathcal{R}(t,t') = \epsilon_0\chi^{(1)}(t-t') \tag{2.3}$$

est donc valable lorsque t et t' sont tous les deux négatifs.

La principale conséquence de la non-stationnarité aux temps positifs est le fait que la polarisation ne s'exprime plus comme un produit de convolution entre la fonction de réponse et le champ. Ou encore, dans le domaine spectral, la relation

$$\mathcal{P}(\omega) = \epsilon_0\chi^{(1)}(\omega)\mathcal{E}(\omega), \tag{2.4}$$

valide dans le cas stationnaire, ne tient plus.

1. cf. annexe A page 103 pour la définition des champs réel et complexe.
2. Cette approximation sera explicitée dans le calcul de la réponse effectué à la section 2.2.

2.1.2 Lien avec une susceptibilité non-linéaire

L'utilisation d'une fonction de réponse linéaire non-stationnaire va nous permettre de décrire nos expériences pompe-sonde. Une telle fonction de réponse est, par exemple, utilisée par Champion et al [62] pour modéliser des expériences pompe-sonde dans le domaine visible. La fonction de réponse calculée dans [62] est obtenue à partir d'une susceptibilité non-linéaire du troisième ordre. Dans un tel calcul, interviennent deux champs pompe et un champ sonde et, une fois ces champs pompe intégrés, la fonction de réponse non-stationnaire qui en résulte dépend alors linéairement de la sonde.

Si nous utilisons aussi une fonction de réponse linéaire non-stationnaire vis-à-vis du champ sonde, le calcul que nous présentons se base sur un modèle phénoménologique dans lequel les paramètres adéquats sont introduits pour rendre compte de la réaction qui nous intéresse. Aucune hypothèse n'est nécessaire sur l'ordre de non-linéarité de l'interaction. En particulier, il n'y a pas de non-linéarité d'ordre 3 sous-jacente à notre description.

Dans un cadre perturbatif qui utilise des susceptibilités $\chi^{(n)}$, le domaine de fréquences accessible est toujours restreint par l'ordre de non-linéarité et la largeur finie des champs excitateurs incidents.

Nous observons donc qu'il est difficile de faire entrer toute la famille des fonctions de réponse décrivant un changement de fréquence de résonance[3]

$$\mathcal{R}(t,t') \propto \exp(-i \int_{t'}^{t} dt'' \omega(t'')), \tag{2.5}$$

où $\omega(t)$ est une fonction arbitraire du temps [63], dans le cadre perturbatif puisque le domaine des fréquences alors accessible pour la polarisation induite n'est *a priori* pas limité.

En ce qui concerne cependant les aspects tensoriels de la réponse que nous calculons, notre modèle suppose que le processus d'excitation de l'hème fait seulement intervenir deux fois le champ pompe.

2.1.3 Interaction du milieu avec une pompe de durée finie

Dans l'équation 2.1 page précédente, l'interaction du milieu avec la pompe n'est pas explicite. Nous détaillons ici comment, dans notre cas particulier, la durée finie de l'impulsion pompe est intégrée dans la fonction de réponse.

Nous supposons que l'effet de la pompe est de peupler instantanément un état électronique dissociatif. Ce choix est justifié dans la mesure où la bande d'absorption sur laquelle repose la dissociation (bande de Soret, cf. figure 1.4 page 9) est spectralement plus large que la largeur de l'impulsion de pompe. Nous n'attendons donc aucun effet de cohérence électronique dû à l'interaction avec la pompe. Nous considérons donc que les différentes *tranches temporelles* dt_p du profil de l'intensité pompe déclenchent toutes la même réaction, mais à des instants différents. Il en résulte que la dépendance en l'impulsion pompe est un simple effet de population qui se traduit par une convolution.

Notons $r_{\tau_p}(t,t')$ la réponse due à une pompe infiniment brève, d'intensité normalisée et arrivant à l'instant τ_p et posons $r(t,t') = r_{\tau_p=0}(t,t')$.

3. Par la suite la notation $\int_{t'}^{t} dt''\ \omega(t'')$ sera abrégée en $\int_{t'}^{t} \omega$.

L'invariance par translation dans le temps donne

$$r_{\tau_p}(t,t') = r(t-\tau_p,t'-\tau_p) \tag{2.6}$$

et donc, la réponse du milieu en présence d'une pompe d'intensité $I_p(t)$ s'écrit

$$\mathcal{R}(t,t') = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p I_p(t_p) r_{t_p}(t,t') = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p I_p(t_p) r(t-t_p,t'-t_p) \tag{2.7}$$

qui est la convolution recherchée. Il nous faut donc déterminer cette réponse $r(t,t')$ à une pompe impulsionnelle, ce qui est l'objet des sections 2.2, 2.3, 2.4 et 2.5 qui suivent.

2.2 La réponse impulsionnelle $r(t,t')$

Nous présentons ici comment nous obtenons la réponse du milieu à une impulsion pompe infiniment brève qui dissocie la liaison Fe-CO. Du point de vue du ligand (CO), cette dissociation et le transfert qui suit entraînent une modification de la structure électronique accompagnée par un changement du potentiel de la liaison CO. La réponse non-stationnaire due à la modification des caractéristiques vibrationnelles du CO est calculée à partir de la matrice densité d'un système à deux niveaux en utilisant une équation de Bloch.

2.2.1 Modélisation par un système à deux niveaux

Nous modélisons les modifications de la vibration du CO par un système dont l'Hamiltonien $H(t)$ dépend du temps. Nous désirons modéliser notre système par un système à deux niveaux. Nous notons

- $|\psi_a(t)\rangle$ et $|\psi_b(t)\rangle$ l'état fondamental et le premier niveau excité vibrationnel de cet hamiltonien ;
- $\vec{\mu}(t) = \vec{\mu}_{ab}(t) = \langle\psi_a(t)|\hat{\vec{\mu}}|\psi_b(t)\rangle$ le dipôle de transition, $\vec{\mu}^\star(t) = \vec{\mu}_{ba}(t)$ son complexe conjugué ;
- ainsi que $\omega_{ba}(t) = \omega(t)$ la fréquence entre ces deux niveaux.

Le premier niveau vibrationnel n'est pas peuplé à l'équilibre thermique, à température ambiante, pour une transition se situant à 5 μm, $\frac{\hbar\omega_{ab}}{kT} \approx 10$. L'excès d'énergie apporté par une pompe visible au cours de la dissociation peut permettre de peupler le premier niveau vibrationnel excité ($\nu = 1$) mais cette population est seulement de l'ordre de quelques pourcents [51].

Puisque nous utilisons une sonde infrarouge de faible intensité, l'interaction dépend linéairement du champ sonde, nous pouvons donc nous restreindre à un système à deux niveaux dont la matrice densité ρ vérifiera $\rho_{bb}(t) \ll 1$ à tout instant t.

Avec de telles hypothèses, en désignant par $E(t)$ le champ sonde réel,[4] les équations de Bloch pour l'évolution de la cohérence ρ_{ba} [64] donnent

$$\frac{d\rho_{ba}}{dt} + i\omega(t)\rho_{ba} = \frac{i}{\hbar}\vec{E}(t).\vec{\mu}_{ba}(t). \tag{2.8}$$

4. Voir l'annexe A page 103 pour le lien entre le champ réel et le champ complexe.

Dans notre cas, les états propres $|\psi_a(t)\rangle$ et $|\psi_b(t)\rangle$ dépendent eux-mêmes du temps. Ceci implique, par rapport à un cas où la matrice densité ρ est exprimée dans une base fixe, une modification de l'équation 2.8 page ci-contre. Cependant, sous une hypothèse d'adiabadicité qui est discutée dans l'annexe C page 109, l'équation est utilisable en l'état.

Nous incluons aussi dans cette équation 2.8 page ci-contre un temps de déphasage pouvant dépendre du temps, par l'intermédiaire d'une fréquence complexe

$$\omega(t) = \omega_{ba}(t) - i\Gamma(t) = \omega_{ba}(t) - i\frac{1}{T_2(t)}. \tag{2.9}$$

2.2.2 Expression de la polarisation

La résolution de l'équation 2.8 fournit

$$\rho_{ba}(t) = \frac{i}{\hbar}\int_{-\infty}^{\infty} dt'\theta(t-t')e^{-i\int_{t'}^{t}\omega}(\vec{E}(t').\vec{\mu}_{ba}(t')). \tag{2.10}$$

Nous faisons maintenant l'approximation de l'onde tournante : il est possible de remplacer le champ réel E par le champ complexe $\mathcal{E}$ dans l'intégration puisque le terme en $\mathcal{E}^\star$ n'est pas résonnant. [5]

Puisque nous négligeons la population du premier niveau excité ($\rho_{bb}(t) << 1$), le dipôle total s'exprime comme [64]

$$P_{\text{total}}(t) = \frac{N}{V}Tr(\hat{\vec{\mu}}\rho(t)) = \frac{N}{V}(\vec{\mu}_{aa}(t)\rho_{aa}(t) + \vec{\mu}_{ab}(t)\rho_{ba}(t) + \vec{\mu}_{ba}(t)\rho_{ab}(t)) \tag{2.11}$$

où $\frac{N}{V}$ est la concentration de la molécule considérée. On ne s'intéresse qu'à la partie du dipôle total qui émet dans l'infrarouge, soit

$$\vec{\mu}_{ab}(t)\rho_{ba}(t) + \vec{\mu}_{ba}(t)\rho_{ab}(t) = \mathcal{P}(t) + \mathcal{P}^\star(t) \tag{2.12}$$

dont le premier terme est relié à la polarisation complexe dans ce domaine de fréquence (cf. annexe A page 103 pour les définitions de $\mathcal{P}$ et $\mathcal{P}^\star$). Nous obtenons d'après 2.10 et 2.12 [6]

$$\vec{\mathcal{P}}(t) = \frac{i}{\hbar}\int_{-\infty}^{t} dt' e^{-i\int_{t'}^{t}\omega}(\vec{\mathcal{E}}(t').\vec{\mu}^\star(t'))\vec{\mu}(t). \tag{2.13}$$

Il faut toutefois prendre en compte le fait que les expériences se déroulent en phase liquide. Pour obtenir la polarisation macroscopique, il nous faut donc moyenner les contributions des différentes polarisations microscopiques sur leurs orientations moléculaires. Cette moyenne est représentée par les crochets dans l'équation 2.14.

$$\vec{\mathcal{P}}(t) = \frac{i}{\hbar}\Big\langle \int_{-\infty}^{t} dt' e^{-i\int_{t'}^{t}\omega}(\vec{\mu}^\star(t').\ \vec{\mathcal{E}}(t'))\vec{\mu}(t)\Big\rangle \tag{2.14}$$

5. Le résultat de l'intégration du terme à la fréquence 2ω est négligeable devant celui de l'intégration du terme à la fréquence nulle.

6. La dépendance avec la concentration n'est pas exprimée.

Nous en déduisons, d'après l'équation 2.1 page 16, la fonction de réponse impulsionnelle

$$r_{ij}(t,t') = \left\langle e^{-i\int_{t'}^{t}\omega}\mu_i(t)\mu_j^{\star}(t')\right\rangle. \tag{2.15}$$

Le calcul de cette moyenne sur les différentes orientations est traité dans la section 2.3. En particulier, nous précisons la signification des crochets dans l'équation 2.15 : c'est une moyenne pondérée sur les angles d'Euler des molécules (cf. équation 2.22 page 22). L'expression complète de la fonction de réponse impulsionnelle qui en résulte fait l'objet de la section 2.5 page 27.

2.3 Aspects tensoriels

Le transfert de ligands qui nous intéresse est déclenché par l'absorption électronique de l'hème. La transition de l'hème que nous utilisons (bande de Soret) est une transition $\pi - \pi^{\star}$ dont le dipôle se trouve dans le plan de la molécule plane qu'est l'hème. L'absorption est donc sensible à la polarisation de l'impulsion pompe qui excite l'hème. En particulier, les hèmes dont le plan inclut la polarisation de la pompe vont être excités avec une probabilité maximale, contrairement à ceux perpendiculaires à la polarisation pompe, qui ne vont pas être excités. C'est un effet dit de photosélection. Le ligand lié à l'hème possède une orientation bien définie par rapport à celui-ci : la photosélection sur les hèmes induit donc une distribution non isotrope de ligands dissociés.

Cette distribution non-isotrope se retrouve dans l'aspect tensoriel de la fonction de réponse (équation 2.1 page 16). Nous allons décomposer $\mathcal{R}_{ij}(t,t')$ en une partie isotrope et une partie anisotrope. Cette décomposition permet de séparer la contribution à la polarisation induite qui dépend de l'orientation du milieu (partie anisotrope) de la contribution qui en est indépendante (partie isotrope).

$$\mathcal{R}(t,t') = \mathcal{R}_{iso}(t,t') + \mathcal{R}_{ani}(t,t') \tag{2.16}$$

La partie isotrope de la fonction de réponse est définie comme

$$\mathcal{R}_{iso}(t,t') = \sum_{i=x,y,z} \mathcal{R}_{ii}(t,t') \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \tag{2.17}$$

c'est une quantité invariante par rotation. La partie anisotrope est alors définie comme

$$\mathcal{R}_{ani}(t,t') = \mathcal{R}(t,t') - \mathcal{R}_{iso}(t,t'). \tag{2.18}$$

Nous calculons la fonction de réponse tensorielle d'un milieu photosélectif avec une interaction quadratique en le champ pompe. Ceci nous permet d'obtenir la dépendance de la polarisation induite par la sonde en fonction de l'angle entre les polarisations des champs pompe et sonde. Nous calculons cette réponse tensorielle pour la fonction de réponse impulsionnelle, le calcul aboutit à l'équation 2.24 page 22.

2.3.1 Calcul de la réponse tensorielle pour un milieu photosélectif

Nous rendons compte de cet effet de photosélection en introduisant la probabilité du processus de dissociation en fonction de la polarisation pompe que nous écrirons dans le référentiel moléculaire repéré par un système d'axes (x,y,z). En repérant par Ω les angles d'Euler de la molécule, cette probabilité $p(\vec{u}_p,\Omega)$ vaut

$$p(\vec{u}_p,\Omega) \propto \sum_{\substack{k=x,y,z \\ l=x,y,z}} \alpha_{kl} u_p^k(\Omega) u_p^l(\Omega) \tag{2.19}$$

où $\vec{u}_p$ est le vecteur unitaire qui porte la polarisation du champ pompe et où le tenseur (α_{kl}) rend compte de la géométrie des dipôles qui absorbent la pompe. La dépendance en Ω des composantes de la polarisation de l'impulsion pompe exprime la rotation qu'elles subissent lorsqu'elles sont exprimées dans le référentiel de la molécule considérée. Le tenseur d'absorption est symétrique. Il se diagonalise donc et, par conséquent, le référentiel moléculaire est naturellement repéré par les axes propres (x,y,z) de (α_{ij}).[7] (α_{ij}), exprimé dans ce système d'axes, se décompose en trois composantes

$$\begin{pmatrix} \alpha_{xx} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_{yy} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{zz} \end{pmatrix} = R \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} + S \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & -2 \end{pmatrix} + T \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \tag{2.20}$$

$$R = \frac{\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz}}{3} \quad S = \frac{\alpha_{xx} + \alpha_{yy} - 2\alpha_{zz}}{6} \quad T = \frac{\alpha_{xx} - \alpha_{yy}}{2} \tag{2.21}$$

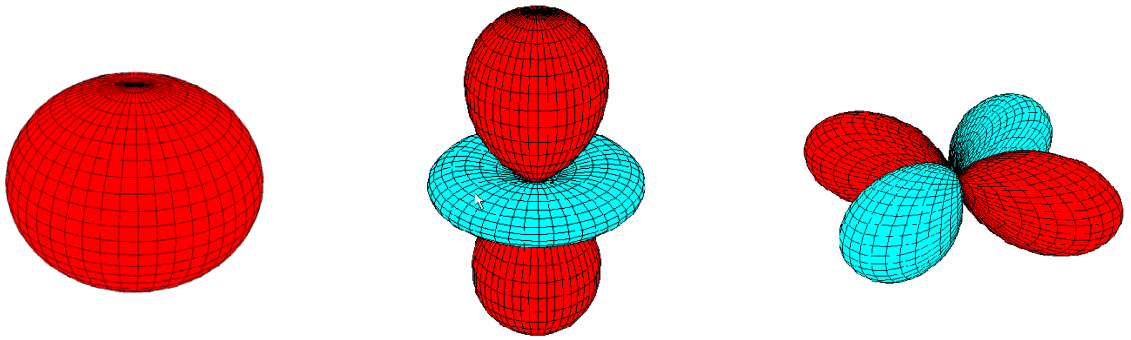

FIG. 2.1 : *Harmoniques sphériques* $Re(Y_0^0)$, $Re(Y_2^0)$ *et* $Re(Y_2^2)$ *qui correspondent à la décomposition 2.20 du tenseur d'absorption* (α_{kl}). *L'axe z est l'axe vertical.*

Les trois coefficients R, S et T reflètent les propriétés géométriques de l'absorption :

– R est toujours positif et est nul seulement si (α_{ij}) est nul. C'est la probabilité de dissociation moyennée sur une polarisation aléatoire (ou sur l'ensemble des molécules si on se place dans le référentiel du laboratoire où la polarisation pompe est fixe).

7. $0 \leq \alpha_{ii} \leq 1$.

– S caractérise la symétrie de révolution autour de l'axe z et indique que l'interaction se passe *plutôt* dans le plan normal à z (valeur positive) ou *plutôt* le long de z (valeur négative).
– T caractérise l'asymétrie de révolution autour de z, il est nul pour une interaction à symétrie cylindrique autour de z.

Dans le cas général où l'interaction ne possède d'axe z naturel, l'interprétation de S et T est moins évidente, et une notation plus précise devrait alors faire dépendre S et T du système d'axe utilisé. Cependant, nous nous plaçons dans le cas d'une presque symétrie cylindrique où le bon choix de z rend T petit devant S. Dans le cas de l'absorption par l'hème qui est détaillée à la section 2.3.4 page 25, l'axe de symétrie z est naturellement la normale au plan de l'hème.

La décomposition 2.20 est utile pour exprimer la fonction de réponse tensorielle (r_{ij}).

Dans cette section, nous ne nous intéresserons pas à la dépendance temporelle de la fonction de réponse, nous abrégeons donc la notation $\vec{\mu}(t)e^{-i\int_0^t\omega}$ en $\vec{\boldsymbol{\mu}}$ et $\vec{\mu}^\star(t')e^{-i\int_{t'}^0\omega}$ en $\vec{\boldsymbol{\mu}}'$. Toujours dans le but d'alléger les formules, la fonction de Heavyside $\theta(t-t')$ est omise dans cette section. Le dipôle est exprimé dans le référentiel moléculaire où ses coordonnées sont $\boldsymbol{\mu}_x$, $\boldsymbol{\mu}_y$ et $\boldsymbol{\mu}_z$. La fonction de réponse tensorielle est exprimée dans le référentiel du laboratoire repéré par un système d'axes noté (X,Y,Z). (r_{ij}), la fonction de réponse due aux molécules photodissociées est obtenue en effectuant la moyenne symbolisée par les crochets $\langle\dots\rangle$ dans l'équation 2.14 page 19, sur toutes les orientations moléculaires :

$$r_{ij} = \langle \boldsymbol{\mu}_i \boldsymbol{\mu}'_j \rangle \quad \propto \quad \int d\Omega \; p(\vec{u}_p,\Omega)\boldsymbol{\mu}_i(\Omega)\boldsymbol{\mu}'_j(\Omega) \tag{2.22}$$

$$= \quad \int d\Omega \Big(\sum_{\substack{k=x,y,z \\ l=x,y,z}} \alpha_{kl} u_p^k(\Omega) u_p^l(\Omega) \Big) \boldsymbol{\mu}_i(\Omega) \boldsymbol{\mu'}_j(\Omega) \tag{2.23}$$

L'élément du tenseur r_{ij} est obtenu en pondérant avec le poids $p(\vec{u}_p,\Omega)$ la contribution à la réponse des molécules possédant l'orientation Ω.

Effectuant la somme (équation 2.22) sur les orientations moléculaires, nous obtenons, dans le référentiel du laboratoire où l'axe Z est donné par la polarisation de la pompe

$$\begin{aligned} r_{ij} = & \overbrace{\frac{R}{3}(\vec{\boldsymbol{\mu}}\cdot\vec{\boldsymbol{\mu}}')\begin{pmatrix}1&0&0\\0&1&0\\0&0&1\end{pmatrix}}^{\text{terme isotrope}} \\ & \underbrace{-\frac{1}{15}\{S(\boldsymbol{\mu}_x\boldsymbol{\mu}'_x+\boldsymbol{\mu}_y\boldsymbol{\mu}'_y-2\boldsymbol{\mu}_z\boldsymbol{\mu}'_z)+T(\boldsymbol{\mu}_x\boldsymbol{\mu}'_x-\boldsymbol{\mu}_y\boldsymbol{\mu}'_y)\}\begin{pmatrix}1&0&0\\0&1&0\\0&0&-2\end{pmatrix}}_{\text{terme anisotrope}}. \end{aligned} \tag{2.24}$$

Les équations 2.41 et 2.42 page 27 reproduisent cette équation en développant l'expression de $\vec{\boldsymbol{\mu}}$ et $\vec{\boldsymbol{\mu}}'$. Nous n'avons pas précisé le choix de X et Y car le tenseur (r_{ij}) possède une symétrie cylindrique autour de la polarisation de la pompe (axe Z).

– Le premier terme est le terme isotrope de la réponse. Il ne dépend pas de la direction du

dipôle dans le référentiel moléculaire mais seulement de la direction relative du dipôle «émetteur» $\vec{\boldsymbol{\mu}}$ et du dipôle «excitateur» $\vec{\boldsymbol{\mu}}'$.

– Le deuxième terme est appelé terme anisotrope de la réponse. Il dépend en revanche, non seulement de la direction relative des deux dipôles $\vec{\boldsymbol{\mu}}$ et $\vec{\boldsymbol{\mu}}'$ mais aussi de leur orientation dans le référentiel moléculaire.

2.3.2 Expression de la polarisation différentielle

Toutes les expériences réalisées dans le cadre de ce travail sont des expériences dites différentielles. Nous devons donc calculer la polarisation différentielle

$$\Delta\vec{\mathcal{P}} = \vec{\mathcal{P}}_{\text{Avec Pompe}} - \vec{\mathcal{P}}_{\text{Sans Pompe}}. \tag{2.25}$$

Pour le moment, nous avons calculé la réponse tensorielle due aux molécules dissociées. Or, même en présence de pompe, les molécules non dissociées (celles par exemple dont l'hème est perpendiculaire à la polarisation pompe) contribuent à la polarisation. Nous avons donc

$$\vec{\mathcal{P}}_{\text{Avec Pompe}} = \vec{\mathcal{P}}_{\text{molécules dissociées}} + \vec{\mathcal{P}}_{\text{molécules non dissociées}}. \tag{2.26}$$

Dans le calcul de la polarisation différentielle, il faut donc faire attention à retrancher de la polarisation due aux molécules dissociées (qui se déduit de l'équation 2.24 page ci-contre), non pas la polarisation en l'absence de pompe mais la polarisation émise par les dipôles des molécules qui seraient dissociées en présence de pompe. Nous obtenons alors

$$\begin{aligned}\Delta\vec{\mathcal{P}} \propto{}& \frac{R}{3}\Delta(\vec{\boldsymbol{\mu}}\cdot\vec{\boldsymbol{\mu}}')\vec{u}_s \\ &+ \{S\Delta(\boldsymbol{\mu}_x\boldsymbol{\mu}'_x + \boldsymbol{\mu}_y\boldsymbol{\mu}'_y - 2\boldsymbol{\mu}_z\boldsymbol{\mu}'_z) + T\Delta(\boldsymbol{\mu}_x\boldsymbol{\mu}'_x - \boldsymbol{\mu}_y\boldsymbol{\mu}'_y)\}\frac{3(\vec{u}_p\cdot\vec{u}_s)\vec{u}_p - \vec{u}_s}{15}\end{aligned} \tag{2.27}$$

où Δ désigne la différence entre le dipôle du CO lors de la dissociation et du transfert et le dipôle fixé à l'hème. $\vec{u}_s$ est la direction du champ incident induisant la polarisation. $\vec{u}_p$ est la direction du champ pompe.

2.3.3 Angle magique et anisotropie

De l'équation 2.24 page précédente ou 2.27, il résulte que l'on peut donc écrire la polarisation induite comme somme de deux contributions isotrope et anisotrope

$$\vec{\mathcal{P}} = \vec{\mathcal{P}}_{iso} + \vec{\mathcal{P}}_{ani}. \tag{2.28}$$

La partie isotrope de la fonction de réponse fournit dons comme attendu une contribution à la polarisation parallèle au champ de sonde qui excite la polarisation

$$\vec{\mathcal{P}}_{iso} \propto \vec{u}_s. \tag{2.29}$$

La partie anisotrope de la fonction de réponse fournit une composante dans une direction qui dépend de l'angle pompe-sonde, cette composante se trouve dans la direction

$$\vec{\mathcal{P}}_{ani} \propto 3(\vec{u}_p \cdot \vec{u}_s)\vec{u}_p - \vec{u}_s. \tag{2.30}$$

Dans le cas où l'angle θ_{ps} entre les polarisations pompe et sonde forment un angle particulier dit angle magique : $\vec{u}_p \cdot \vec{u}_s = \frac{1}{\sqrt{3}}$, la contribution anisotrope à la polarisation est perpendiculaire à la polarisation sonde $\vec{u}_s$. Cette configuration à l'angle magique ($\theta_{ps} = 54.74°$) permet de rendre les expériences pompe-sonde insensibles au terme anisotrope puisque l'expression de l'absorption donnée par l'équation 2.47 page 29 fait intervenir le produit scalaire $\vec{\mathcal{P}}_{ani} \cdot \vec{u}_s \propto 3\cos^2(\theta_{ps}) - 1$ [8] entre la polarisation induite et le champ sonde.

2.3.3.1 Expériences pompe-sonde

Nous nous intéressons maintenant à la dépendance des expériences pompe-sonde intégrées spectralement avec l'angle entre la pompe et la sonde. A l'angle magique, elles ne dépendent que de la partie isotrope de la fonction de réponse. Lorsque la dynamique du dipôle $\vec{\mu}(t)$ est lente devant la durée de la sonde utilisée, ces expériences ne sont pas sensibles à des effets de rotation du dipôle. Si τ désigne le délai entre l'impulsion pompe et sonde, le signal d'absorption intégré est alors proportionnel à l'absorption intégrée $|\vec{\mu}(\tau)|^2$.

Dans les mêmes conditions (impulsion sonde brève), pour une expérience pompe-sonde intégrée spectralement à un angle θ_{ps} quelconque entre la polarisation de la pompe et de la sonde, la partie anisotrope apporte une contribution supplémentaire au signal qui dépend alors de l'orientation du dipôle du CO dans le référentiel moléculaire. Plus précisément, le terme en $S\Delta(\boldsymbol{\mu}_x\boldsymbol{\mu}'_x+\boldsymbol{\mu}_y\boldsymbol{\mu}'_y-2\boldsymbol{\mu}_z\boldsymbol{\mu}'_z)$ dépend seulement de l'angle entre le dipôle et la normale au plan moléculaire (x,y). Le terme $T\Delta(\boldsymbol{\mu}_x\boldsymbol{\mu}'_x - \boldsymbol{\mu}_y\boldsymbol{\mu}'_y)$ ajoute une dépendance en l'angle azimutal qui repère l'orientation de la projection du dipôle dans le plan (x,y).

Les expériences pompe-sonde intégrées spectralement à l'angle magique deviennent sensibles à une variation de l'orientation du dipôle dans le cas où la dynamique du dipôle est plus rapide ou de l'ordre que la durée de la sonde. Ceci signifie dans le domaine spectral que la dynamique rapide du dipôle donne lieu à une absorption dont l'étendue spectrale est de l'ordre ou supérieure à la largeur du spectre de la sonde utilisée. Nous discuterons au chapitre 5 page 81 le cas des expériences résolues spectralement.

2.3.3.2 Expériences de détection homodyne

Dans une expérience de détection homodyne (voir section 2.6.2 page 30), $\vec{\boldsymbol{\mu}}$ et $\vec{\boldsymbol{\mu}}'$ correspondent respectivement au dipôle à l'instant où la première impulsion excite l'échantillon et au dipôle à l'instant auquel l'émission est détectée par l'impulsion de référence.

En utilisant l'angle magique entre la pompe et l'impulsion excitatrice, le champ émis par le terme isotrope est le long de la polarisation de l'impulsion excitatrice alors que le champ émis

8. Faire une expérience en utilisant l'angle magique $\theta_{ps} = \arccos(\frac{1}{\sqrt{3}})$ revient donc à faire une expérience moyenne sur toutes les polarisations de l'impulsion pompe, la polarisation $\vec{u}_p$ décrivant une sphère (et non un cercle comme dans le cas d'une polarisation aléatoire *expérimentale* issue d'un faisceau non-polarisé). En effet, la moyenne de $\cos^2(\theta_{ps})$ sur la sphère vaut $\frac{1}{3}$.

par le terme anisotrope est émis le long de la direction de la polarisation perpendiculaire. On peut donc détecter, avec une impulsion de référence dans la même polarisation que l'impulsion excitatrice, l'émission du terme isotrope seulement, mais cela ne signifie pas que l'on soit insensible à l'orientation du dipôle. On va détecter la projection du dipôle qui émet sur l'axe porté par le dipôle au moment de l'excitation.[9] Dans le cas où l'angle entre la polarisation pompe et la sonde excitatrice n'est pas l'angle magique, on a $\vec{\mathcal{P}}_{iso} \cdot \vec{\mathcal{P}}_{ani} \neq 0$; ceci empêche la mesure indépendante des deux contributions avec une unique polarisation pour l'impulsion de référence.

2.3.4 Application à notre cas : l'hème

Dans le cas qui nous intéresse, la probabilité de dissociation est maximale (égale à 1) lorsqu'un photon est absorbé, pour une polarisation pompe se trouvant dans le plan de l'hème : l'hème est dit circulaire. Précisons cependant que l'hème n'absorbe pas circulairement sur tout le spectre et peut devenir «absorbeur elliptique» dans certaines régions du spectre [52]. Ceci implique une valeur non nulle de T qui modifie l'interprétation de l'anisotropie (cf. équation 2.24 page 22).

D'après l'équation 2.19 page 21, nous sommes dans le cas où z est l'axe normal à l'hème et le plan (x,y) est le plan de l'hème :

$$(\alpha_{ij}) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \tag{2.31}$$

Soit encore,

$$R = \frac{2}{3} \quad S = \frac{1}{3} \quad T = 0. \tag{2.32}$$

Ces valeurs sont utilisées dans l'équation 2.40 page 27 et qui donnent l'expression complète de la fonction de réponse impulsionnelle.

2.4 Largeur spectrale du profil d'absorption

La fonction de réponse obtenue à la section 2.2 page 18 tient compte du temps de déphasage homogène par l'intermédiaire d'une fréquence complexe, qui peut éventuellement varier au cours du temps (cf. équation 2.9 page 19). Une telle modélisation par une équation de Bloch implique pour le spectre d'absorption à l'équilibre un profil lorentzien. Toutefois, le profil d'absorption expérimental lié aux raies vibrationnelles d'absorption du CO est mieux pris en compte par un profil gaussien [26] qui reflète un élargissement inhomogène dû aux différentes conformations protéiques. Nous avons donc utilisé dans nos simulations un profil d'absorption gaussien pour les raies vibrationnelles du CO.

9. Pour tenir compte de la statistique des trajectoires pouvant être empruntées par le dipôle, il faudrait ici parler en toute rigueur de fonction de corrélation.

Au cours du transfert, les différentes trajectoires que le CO peut emprunter peuvent conduire à une diminution du temps de déphasage. Nous avons essayé de rendre compte de cette dispersion des trajectoires par le choix d'une enveloppe adéquate pour la polarisation. La nature plus ou moins diffusive de la trajectoire empruntée par la molécule est rendue dans nos simulations par un temps de déphasage dépendant du temps.

Nous précisons ici comment nous prenons en compte ce temps de déphasage variable dans le cas d'une raie lorentzienne ou gaussienne et nous le relions à une «largeur de raie à mi-hauteur $\Delta\nu(t)$ instantanée».

a Cas d'une raie lorentzienne Dans le cas d'une raie lorentzienne, la largeur à mi-hauteur $\Delta\nu$ est reliée au temps de déphasage T_2 par la relation

$$T_2 = \frac{1}{\Gamma} = \frac{1}{\pi\Delta\nu}. \tag{2.33}$$

Le temps de déphasage dépendant du temps est introduit par une fréquence complexe (cf. équation 2.9) dépendant du temps dans l'équation de Bloch dont la résolution (équation 2.10) fait apparaître un facteur

$$\exp(-\int_{t'}^{t} ds\ \Gamma(s)) \tag{2.34}$$

qui contribue à la forme de la décroissance de l'enveloppe de la polarisation.

b Cas d'une raie gaussienne Pour traiter le cas gaussien plus réaliste dans la fonction de réponse, nous remplaçons ce facteur 2.34 par le facteur correspondant à une décroissance gaussienne.

Dans le cas d'une largeur à mi-hauteur $\Delta\nu$ fixe, un temps T, analogue au temps de déphasage T_2, est utilisé. Il est relié à la largeur à mi-hauteur de la raie gaussienne correspondante par

$$T = \frac{\sqrt{2\ln(2)}}{\pi\Delta\nu} \tag{2.35}$$

pour donner un facteur

$$\exp(-\frac{(t-t')^2}{2T^2}) \tag{2.36}$$

dans la fonction de réponse $r(t,t')$ qui se substitue à la décroissance exponentielle du cas lorentzien.

Pour faire varier ce temps T qui caractérise le déphasage et que l'on fait maintenant dépendre du temps, nous utilisons

$$\exp(-\int_{t'}^{t} ds \int_{t'}^{s} ds'\ \frac{1}{T^2(s')}) \tag{2.37}$$

qui vient remplacer le facteur 2.36 page ci-contre. Le fait que

$$\frac{d}{dt}\left\{\int_{t'}^{t} ds \int_{t'}^{s} ds' \; \frac{1}{T^2(s')}\right\}_{t=t'} = 0 \tag{2.38}$$

$$\text{et} \quad \frac{d^2}{dt^2}\left\{\int_{t'}^{t} ds \int_{t'}^{s} ds' \; \frac{1}{T^2(s')}\right\}_{t=t'} = \frac{1}{T^2(t')} \tag{2.39}$$

donne bien à la décroissance de la polarisation (selon t dans 2.37 page précédente) la courbure nécessaire pour ressembler autour de t' à une raie gaussienne de largeur $\Delta\nu(t') = \frac{\sqrt{2\ln 2}}{\pi T(t')}$.

2.5 Expression de la fonction de réponse impulsionnelle

Nous donnons maintenant la fonction de réponse qui résulte de l'équation 2.15 page 20 et de l'équation 2.24 page 22 avec les valeurs données de R, S, et T données en 2.32 page 25. Celle-ci est exprimée dans le référentiel du laboratoire où l'axe Z est donné par la polarisation de l'impulsion pompe. Le dipôle $\vec{\mu}(t)$ est lui exprimé dans le référentiel moléculaire dans lequel l'axe z repère la normale à l'hème. Nous séparons la réponse impulsionnelle en une partie isotrope, $r_{iso}(t,t')$, et une partie anisotrope, $r_{ani}(t,t')$. Cette dernière partie fait dépendre $r(t,t')$ de la polarisation de l'impulsion de pompe, elle s'écrit donc :

$$r(t,t') = r_{iso}(t,t') + r_{ani}(t,t') \quad \text{avec} \tag{2.40}$$

$$r_{iso}(t,t') = \frac{2}{9}\theta(t-t')\frac{i}{\hbar}\exp\left(-i\int_{t'}^{t}\omega_{ba}\right)\exp\left(-\int_{t'}^{t}\Gamma\right)\vec{\mu}(t).\vec{\mu}^{\star}(t')\begin{pmatrix}1&0&0\\0&1&0\\0&0&1\end{pmatrix} \tag{2.41}$$

$$\begin{aligned}\text{et} \quad r_{ani}(t,t') = \frac{-1}{45}\theta(t-t')\frac{i}{\hbar}&\exp\left(-i\int_{t'}^{t}\omega_{ba}\right)\exp\left(-\int_{t'}^{t}\Gamma\right)\\ &\times\{\mu_x(t).\mu_x^{\star}(t') + \mu_y(t).\mu_y^{\star}(t') - 2\mu_z(t).\mu_z^{\star}(t')\}\begin{pmatrix}1&0&0\\0&1&0\\0&0&-2\end{pmatrix}.\end{aligned} \tag{2.42}$$

Cette expression détermine la fonction de réponse de base que nous utilisons dans nos simulations. Les modifications à apporter pour obtenir la fonction de réponse complète qui est implémentée sont

- la convolution avec la durée de la pompe : équation 2.7 page 18 ;
- la prise en compte des inhomogénéités et d'une forme gaussienne pour le profil d'absorption, cf. section 2.4 page 25 ;
- et, lorsque les simulations prennent aussi en compte plusieurs types de population, une moyenne pondérée

$$r(t,t') = \sum_i q_i r_i(t,t') \tag{2.43}$$

de plusieurs fonctions de réponse. La structure du spectre infrarouge dans lequel différentes bandes apparaissent est alors mieux reproduite. Ces différentes bandes sont représentées dans les figures 1.5 et 1.6 page 10.

2.6 Simulations des expériences

Toutes les expériences effectuées ou envisagées dans ce travail sont des expériences différentielles. Nous utiliserons donc la notation déjà employée dans l'équation 2.25 page 23 dans laquelle la quantité préfixée par le symbole Δ désigne la quantité *avec pompe - sans pompe* correspondante.

2.6.1 Expériences pompe-sonde

2.6.1.1 Calcul du signal d'absorption différentielle intégré spectralement

a Énergie absorbée dans le milieu Nous donnons ici l'expression du signal d'absorption différentiel basé sur un calcul de l'énergie absorbée dans le milieu[10] [65]. Pendant le temps dt, l'énergie fournie par la sonde de champ électrique $E(t)$ à un dipôle $\vec{\mu}(t)$ est

$$\delta W = \vec{E}(t) \cdot d\vec{\mu}(t). \tag{2.44}$$

Par unité de volume, l'énergie I laissée dans le milieu par la sonde est donc, si $\frac{N}{V}$ est la concentration de molécules de CO,

$$I = \frac{N}{V} \int \delta W = \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{E}(t) \cdot \frac{d\vec{P}}{dt}(t). \tag{2.45}$$

Faisons l'approximation de l'onde tournante dans laquelle les termes non-résonnants $\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}(t)\mathcal{P}(t)$ et $\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}^\star(t)\mathcal{P}^\star(t)$ sont négligés ; il vient alors :

$$I = 2\ \mathrm{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}}^\star(t) \cdot \frac{d\vec{\mathcal{P}}}{dt}(t)\right) \approx 2\ \omega_0 \mathrm{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}}^\star(t) \cdot \vec{\mathcal{P}}(t)\right). \tag{2.46}$$

Nous avons ici fait l'approximation $\frac{d\mathcal{P}}{dt}(t) \approx -i\omega_0 \mathcal{P}(t)$. ω_0 est la fréquence de résonance de vibration initiale du CO.[11]

b Expression du signal pompe-sonde de transmission différentielle Nous décalons maintenant temporellement le champ sonde $\mathcal{E}(t)$ d'une quantité $\tau = \tau_s - \tau_p$ par rapport à l'instant d'arrivée de la pompe τ_p dans le milieu que nous fixons par convention comme origine des temps. Le champ sonde s'écrit $\mathcal{E}_\tau(t) = \mathcal{E}(t-\tau)$. Avec $\Delta\vec{\mathcal{P}}_\tau(t)$ désignant la polarisation différentielle (équation 2.25 page 23) induite par la sonde $\mathcal{E}_\tau(t)$, nous obtenons à partir

10. Une démonstration alternative basée sur le champ émis est effectuée dans la section 3.1 page 35.

11. Le premier terme de l'équation 2.46 s'écrit encore, d'après le théorème de Plancherel-Parceval, $2\mathrm{Re}\{\int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi}\ \mathcal{E}^\star(\omega)(-i\omega\mathcal{P}(\omega))\}$. L'approximation que nous faisons revient donc à supposer constant à la valeur ω_0 le facteur ω dans cette intégrale. Cette approximation (qui est une approximation d'enveloppe lentement variable) sera donc valide tant que la variation relative de fréquence reste faible.

de l'équation 2.46 page précédente l'expression du signal pompe-sonde $S(\tau)$ de transmission différentielle qui mesure les variations d'intensité transmise de la sonde :

$$S(\tau) \propto \Delta \left(\mathrm{Im} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}^{\star}}_{\tau}(t).\vec{\mathcal{P}}_{\tau}(t) \right\} \right) \propto \mathrm{Im} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}^{\star}}_{\tau}(t).\Delta\vec{\mathcal{P}}_{\tau}(t) \right\} \tag{2.47}$$

c Calcul effectué dans les simulations En pratique, dans les simulations, le signal $s(\tau)$ correspondant à une impulsion pompe infiniment courte est d'abord calculé. Ce signal calculé est ensuite convolué par le profil de l'intensité pompe. Le calcul donnant l'équation 2.48 se trouve dans l'annexe B page 107.

$$S(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p\ I_p(t_p) s(\tau - t_p) \tag{2.48}$$

La formulation de $s(\tau)$ à partir de la fonction de réponse différentielle est donnée par

$$s(\tau) = \mathrm{Im} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{E}_i^{\star}(t-\tau) \Delta r_{ij}(t,t') \mathcal{E}_j(t'-\tau) \right\}. \tag{2.49}$$

Les calculs numériques des signaux pompe-sonde effectués au chapitre 5 utilisent les équations 2.48 et 2.49 avec la fonction de réponse de l'équation 2.40 page 27 .

2.6.1.2 Approximation dans la limite d'une raie fine

Gardons seulement dans l'équation 2.49 le terme isotrope de la fonction de réponse 2.41. Si on exprime la partie imaginaire et que l'on utilise la symétrie hermitienne en t et t', on peut s'affranchir de la fonction de Heavyside en intégrant sur tous les temps et l'on trouve l'expression suivante où ω dénote la partie réelle de la fréquence (2.9) et μ_0 le dipôle du CO à l'instant initial :

$$s(\tau) \propto \frac{1}{2} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{E}_{\tau}^{\star}(t) \vec{\mu}(t) \vec{\mu}^{\star}(t') \exp(-i \int_{t'}^{t} \omega) \exp(-\Gamma|t-t'|) \mathcal{E}_{\tau}(t') \right\} \tag{2.50}$$

$$-\frac{|\mu_0|^2}{2} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{E}_{\tau}^{\star}(t) \exp(-i\omega_0(t-t')) \exp(-\Gamma|t-t'|) \mathcal{E}_{\tau}(t') \right\} \tag{2.51}$$

En faisant l'hypothèse

$$\Gamma \Delta t_s << 1, \tag{2.52}$$

où Δt_s est la durée de l'impulsion sonde, nous pouvons faire l'approximation $e^{\Gamma|t-t'|} \approx 1$ dans l'expression ci-dessus. L'intégrale double peut alors se factoriser en un produit de deux intégrales simples conjuguées qui donne

$$s(\tau) = \frac{1}{2} \left\{ \left| \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}_{\tau}^{\star}(t) \mu(t) e^{-i \int_0^t \omega(t')dt'} \right|^2 - |\mu_0|^2 I_s(\omega_0) \right\}, \tag{2.53}$$

où $I_s(\omega)$ est l'intensité spectrale de la sonde. On peut alors voir le signal mesuré comme un spectrogramme de la polarisation, ce point de vue est généralisé dans la section 3.4 page 53

où l'on s'affranchit de l'hypothèse d'une sonde large devant la largeur de la raie. Lorsque l'on peut considérer que la variation de fréquence et de dipôle est faible sur la durée de l'impulsion sonde, on retrouve le résultat intuitif

$$s(\tau) \propto |\mu(\tau)|^2 I_s(\omega(\tau)) - |\mu_0|^2 I_s(\omega_0) \tag{2.54}$$

qui illustre les contraintes imposées par les relations temps-fréquence. Cette dernière relation est vraie dans la limite où le spectre de la sonde (supposée limitée par transformée de Fourier) est très large devant la largeur de la raie, auquel cas la sensibilité à des changements de fréquence est réduite.

Nous examinons plus en détail la validité d'un telle approximation pour le signal pompe-sonde. Toujours en supposant $\Gamma \Delta t_s << 1$, en supposant une enveloppe gaussienne pour le champ sonde :

$$\mathcal{E}_s(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\Delta t_s} \exp(-\frac{t^2}{2\Delta t_s}) \exp(-i\omega_s t) \tag{2.55}$$

Nous posons $\delta\omega(t) = \omega(t) - \omega_s$ et nous utilisons l'approximation suivante :

$$\int_\tau^t \delta\omega(t')dt' \approx \delta\omega(\tau)(t-\tau) + \frac{1}{2}\partial_t\omega(\tau)(t-\tau)^2 \tag{2.56}$$

En supposant de plus $\mu(t) \approx \mu(\tau)$ constant sur le support de l'impulsion, on trouve

$$\left| \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}_s^\star(t-\tau_s)\mu(t) e^{-i\int_0^t \omega(t')dt'} \right|^2 = \frac{|\mu(\tau)|^2}{\sqrt{1+(\partial_t\omega(\tau))^2 {\Delta t_s}^4}} e^{-\frac{(\omega_s-\omega(\tau))^2 {\Delta t_s}^2}{1+(\partial_t\omega)^2 {\Delta t_s}^4}} \tag{2.57}$$

C'est donc $((\partial_t\omega){\Delta t_s}^2)^2$ qui est à comparer à 1 pour établir si le signal mesuré est déformé par rapport à un signal idéal pour lequel la fréquence ne varie pas sur la durée de l'impulsion. Les simulations n'utilisent pas une telle approximation mais sont calculées à partir de l'équation 2.49.

2.6.2 Expériences de détection du champ émis

Dans les expériences de détection homodyne, nous cherchons à mesurer le champ émis dû à la vibration du CO au cours de son transfert. Ce champ émis est mesuré en amplitude et en phase à l'aide d'une impulsion de référence connue et bien caractérisée. La connaissance de cette émission infrarouge nous renseigne sur le transfert du ligand.

Pour réaliser une telle expérience, une impulsion de pompe déclenchant la dissociation du ligand ainsi que deux impulsions infrarouges sont nécessaires. La première de ces impulsions (excitatrice) arrive d'abord dans l'échantillon et permet d'induire une polarisation due à la vibration du CO. L'impulsion de pompe arrive ensuite dans le milieu et déclenche le transfert par la rupture de la liaison Fe-CO. Nous analysons le champ émis par le CO au cours du transfert à l'aide d'une seconde impulsion infrarouge (l'impulsion de référence) qui est superposée au champ émis. Le terme d'interférence entre ces deux champs fournit une mesure en amplitude et en phase du champ émis.

2.6.2.1 Mesure idéale du champ émis

La superposition du champ émis avec le champ de référence mesurée par le détecteur est

$$\int_{-\infty}^{\infty} dt\ |\vec{\mathcal{E}}_{\text{ref}}(t) + \vec{\mathcal{E}}_{\text{émis}}(t)|^2 = I_{\text{ref}} + I_{\text{émis}} + 2\ \text{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}}^{\star}_{\text{ref}}(t) \cdot \vec{\mathcal{E}}_{\text{émis}}(t)\right). \tag{2.58}$$

Le signal utile pour la détection du champ émis est ce dernier terme d'interférence. Dans le cas idéal où l'on peut considérer le champ de référence infiniment bref,[12] τ_r désignant le temps d'arrivée de l'impulsion de référence, nous pouvons substituer $\delta(t-\tau_r)$ à $\mathcal{E}_{\text{ref}}(t)$. La partie oscillante de l'interférogramme obtenu en faisant varier le temps d'arrivée τ_r de l'impulsion de référence donne alors une mesure de la projection du champ émis suivant la polarisation du champ de référence :

$$2\ \text{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \delta(t-\tau_r)\vec{u}_r \cdot \vec{\mathcal{E}}_{\text{émis}}(t)\right) = \vec{E}_{\text{émis}}(\tau_r) \cdot \vec{u}_r \tag{2.59}$$

2.6.2.2 Expression à l'aide de la fonction de réponse

Puisque le champ émis par l'échantillon est proportionnel à la dérivée de la polarisation [66][13]

$$\mathcal{E}_{\text{émis}}(t) \propto \frac{d\mathcal{P}}{dt}(t), \tag{2.60}$$

le terme d'interférence mesuré dans une expérience différentielle s'écrit

$$2\ \text{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}^{\star}}_{\text{ref}}(t).\frac{d\Delta\vec{\mathcal{P}}}{dt}(t)\right) \approx 2\ \omega_0 \text{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \vec{\mathcal{E}^{\star}}_{\text{ref}}(t).\Delta\vec{\mathcal{P}}(t)\right) \tag{2.61}$$

où ω_0 est la fréquence initiale du CO. Nous utilisons la même approximation utilisée à l'équation 2.46 page 28.

Nous réécrivons cette dernière équation à l'aide de la fonction de réponse. τ_r et τ_e désignent les instants d'arrivée de l'impulsion de référence et de l'impulsion excitatrice.

$$\text{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{E}^{\star\text{ref}}_{i}(t-\tau_r)\Delta\mathcal{R}_{ij}(t,t')\ \mathcal{E}^{\text{exc}}_{j}(t'-\tau_e)\right) \tag{2.62}$$

En pratique, sur notre montage expérimental, ces deux impulsions sont deux copies décalées temporellement du même champ $\vec{\mathcal{E}}(t)$.[14] Les champs $\vec{\mathcal{E}}^{\text{ref}}(t-\tau_r)$ et $\vec{\mathcal{E}}^{\text{exc}}(t-\tau_e)$ de l'impulsion de référence et de l'impulsion excitatrice vont alors s'écrire $\vec{\mathcal{E}}_{\tau_r}(t)$ et $\vec{\mathcal{E}}_{\tau_e}(t)$. Dans ce cas (les indices i et j sont omis), d'après l'équation 2.62, le signal s'écrit :

$$S(\tau_r,\tau_e) = \text{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{E}^{\star}_{\tau_r}(t)\Delta\mathcal{R}(t,t')\ \mathcal{E}_{\tau_e}(t')\right). \tag{2.63}$$

12. Ce qui correspond à un champ de phase spectrale plate contenant dans son spectre le spectre du champ émis.

13. Comme indiqué page 35, ceci n'est valide en toute rigueur que dans le cas d'une onde plane.

14. La caractérisation de l'impulsion de référence en phase est bien plus importante que celle de l'impulsion excitatrice. En effet, alors que l'impulsion excitatrice est utilisée pour induire la polarisation, c'est l'impulsion de référence qui est *l'instrument de mesure* de la phase du champ émis.

Les simulations des expériences se basent sur l'équation 2.62 page précédente, l'annexe B page 107 précise comment est prise en compte la durée finie de la pompe.

La comparaison entre les équations 2.46 et 2.61 permet de rapprocher l'expérience de d'absorption et de détection homodyne puisqu'il suffit de remplacer $\vec{\mathcal{E}}^{\star}_{\mathrm{ref}}$ par le champ sonde dans 2.61 pour obtenir 2.46. Ce rapprochement permet d'envisager une expérience d'absorption comme une expérience de détection homodyne dans laquelle l'impulsion excitatrice et l'impulsion de référence sont confondues, il met en avant le «double rôle» (excitation de la polarisation–analyse du champ émis) joué par l'impulsion sonde dans les expériences d'absorption. Nous reviendrons sur ce point qui intervient dans les effets de polarisation perturbée discutés au chapitre 3.

2.6.2.3 Différentes configurations expérimentales

a Expérience de détection homodyne référencée (dhr) Dans une première configuration, le champ émis est mesuré directement (cf. équation 2.59 page précédente), τ_e est maintenu constant à délai négatif. L'impulsion de référence est décalée temporellement par rapport à la pompe. Le signal correspondant est noté

$$S^{\mathrm{dhr}}_{\tau_e}(\tau_r) = S(\tau_r,\tau_e). \tag{2.64}$$

b Expérience de détection homodyne autoréférencée (dha) Dans une deuxième configuration, le délai entre l'impulsion de référence et l'impulsion excitatrice est maintenu fixe et les deux impulsions sont décalées vis-à-vis de la pompe (voir figure 2.2 page suivante). La séquence des deux impulsions est repérée par le délai $\tau_{\mathrm{seq}} = \tau_e$ négatif, de l'impulsion excitatrice. Avec $\Delta\tau = \tau_r - \tau_e$, le signal obtenu est alors noté [15]

$$S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}}) = S(\tau_{\mathrm{seq}} + \Delta\tau,\tau_{\mathrm{seq}}). \tag{2.65}$$

L'utilisation de cette configuration expérimentale permet d'avoir accès, d'une façon différente à la mesure du champ émis [67, 68, 69]. Ce sont essentiellement des considérations expérimentales sur le contrôle des délais entre les deux impulsions qui motivent sa mise en place (cf. section 4.5 page 73). Dans une telle configuration expérimentale, les deux impulsions passent à travers l'échantillon. Notons $S_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}})$ le signal pompe-sonde d'absorption différentiel obtenu en utilisant pour sonde la séquence de deux impulsions représentée dans la figure 2.2, nous obtenons, d'après l'annexe E page 113,

$$S_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}}) = S(\tau_{\mathrm{seq}}) + S(\tau_{\mathrm{seq}} + \Delta\tau) + S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}}) = S(\tau_r) + S(\tau_e) + S^{\mathrm{dhr}}_{\tau_e}(\tau_r), \tag{2.66}$$

c'est-à-dire deux contributions de type pompe-sonde dues à chacune des deux impulsions individuelles ainsi qu'un terme supplémentaire, que nous appelons terme croisé (ou interférométrique), qui dépend à la fois du champ de l'impulsion excitatrice et du champ de l'impulsion de référence. Ce dernier terme croisé contient l'information en amplitude et

15. Comme pour le signal pompe-sonde, nous notons en minuscule $s^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}})$ le signal obtenu avec une pompe impulsionnelle et l'annexe B page 107 exprime simplement $S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}})$ en fonction de $s^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}})$.

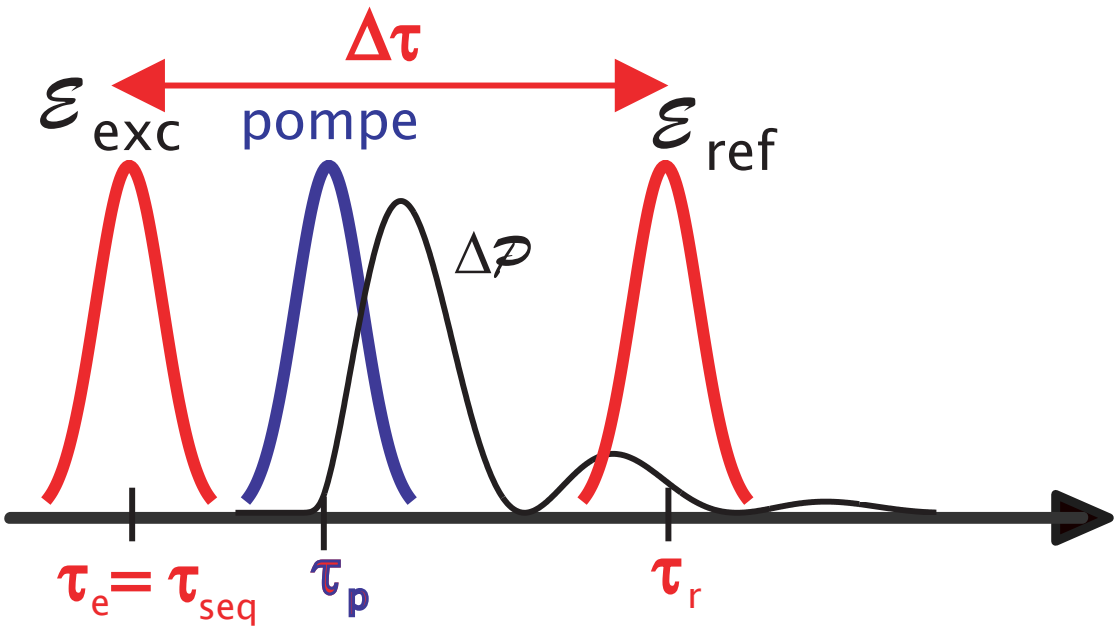

FIG. 2.2 : *Dans une configuration de type détection homodyne autoréférencée, le délai $\Delta\tau$ entre l'impulsion excitatrice et l'impulsion de référence est maintenu constant pendant que le délai entre l'impulsion pompe et la séquence d'impulsions formée du champ excitatrice et du champ de référence varie. Le signal issu du terme croisé différentiel (équation 2.66) est alors la polarisation différentielle dans le référentiel tournant à la fréquence centrale ω_0 du déclin de la polarisation non-perturbée (voir section 2.6.2.4).*

en phase recherchée sur le champ émis. Dans nos expériences, nous isolons ce terme croisé des contributions pompe-sonde en utilisant une technique de double modulation (cf. section 4.5.1.4 page 74).

2.6.2.4 Détection homodyne autoréférencée : quantité mesurée

Nous calculons ici dans un cas simple la quantité mesurée dans une expérience de détection homodyne autoréférencée.

Nous utilisons l'équation 2.63 page 31 avec

- des champs $\mathcal{E}_{\tau_{e,r}}(t) \propto \delta(t - \tau_{e,r})$;
- et une réponse simple

$$\Delta r(t,t') \propto i\theta(t-t')\{\exp(-i\int_{t'}^{t}\omega) - \exp(-i\omega_0(t-t'))\} \tag{2.67}$$

supposant un temps de déphasage infini, ainsi qu'une pompe impulsionnelle arrivant au délai $\tau_p = 0$ avec $\omega(t) = \omega_0$ pour $t < \tau_p$. ω_0 est la fréquence initiale du CO avant que la pompe ne vienne changer la fréquence de résonance.

Pour $\tau_e < \tau_r$, nous obtenons en utilisant seulement le premier terme de l'équation 2.67 dans l'équation 2.63 :

$$\mathrm{Re}(e^{-i\int_{\tau_e}^{\tau_r} dt\ \omega(t)}). \tag{2.68}$$

Tant que l'impulsion excitatrice reste à délais négatifs $\tau_e < \tau_p$,

$$\int_{\tau_e}^{\tau_r} dt\ \omega(t) = \int_{\tau_e}^{\tau_p} dt\ \omega(t) + \int_{\tau_p}^{\tau_r} dt\ \omega(t) = \int_{\tau_p}^{\tau_r} dt\ (\omega(t)-\omega_0) + \omega_0\Delta\tau, \tag{2.69}$$

le signal s'exprime alors comme

$$s^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_{\mathrm{seq}}) = \mathrm{Re}\left\{\exp(-i\omega_0\Delta\tau)(\exp(-i\int_{\tau_p=0}^{\tau_{\mathrm{seq}}+\Delta\tau} dt\ (\omega(t)-\omega_0)) - 1)\right\}. \tag{2.70}$$

Lorsque l'on maintient constant le délai $\Delta\tau = \tau_e - \tau_r$ entre les deux impulsions, le changement de fréquence de résonance se manifeste par des oscillations à la fréquence $\omega(\tau_{\mathrm{seq}} + \Delta\tau) - \omega_0$ selon τ_{seq}, le délai entre la séquence d'impulsion et l'impulsion pompe.

Chapitre 3

Zoologie des fonctions de réponse : Différentes approches expérimentales et théoriques

Le chapitre **2** nous a permis de calculer une fonction de réponse non-stationnaire que nous utilisons dans nos simulations (cf. section **5.2**). Ce chapitre théorique permet de faire le lien entre plusieurs types d'expériences envisagées dans ce travail. Il discute en particulier des expériences d'absorption résolues spectralement dans le cas d'un milieu non-stationnaire et présente les effets de polarisation perturbée (sections **3.1** et **3.2**). Il permet en particulier une compréhension plus approfondie des liens entre les effets de polarisation perturbée et les différentes techniques de détection du champ émis.

Nous introduisons deux autres représentations de la fonction de réponse non-stationnaire $\mathcal{R}(t,t')$ définie au chapitre **2** dans le domaine temporel :

- l'une dans le domaine spectral $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ à la section **3.3** permet d'analyser les effets de polarisation perturbée dans le cas d'une sonde de largeur spectrale finie et de faire le lien avec des expériences de type bidimensionnel ;
- l'autre $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ dans le domaine spectro-temporel à la section **3.4** est un outil de calcul et d'analyse de la fonction de réponse basé sur la fonction de Wigner.

Ce chapitre fait référence au calcul des annexes **D** et **E**.

3.1 Introduction

3.1.1 Intensité transmise et champ rayonné

Lorsqu'un champ électromagnétique incident $\mathcal{E}_i$ se propage dans un milieu diélectrique,[1] il y induit une polarisation $\mathcal{P}$. Cette polarisation est la source d'un nouveau champ, le champ rayonné $\mathcal{E}_r$ qui vérifie, dans le cas d'une onde plane [66],

$$\mathcal{E}_r(\omega) = \frac{i\omega L}{2\epsilon_0 n(\omega) c}\mathcal{P}(\omega) \tag{3.1}$$

1. Nous ne prenons pas en compte les effets liés à la propagation.

où L est l'épaisseur du milieu considéré et $n(\omega)$ son indice. Le champ transmis $\mathcal{E}_t$ à travers le milieu est la somme de ces deux champs : [2]

$$\mathcal{E}_t = \mathcal{E}_i + \mathcal{E}_r. \tag{3.2}$$

Son intensité spectrale

$$I_t(\omega) = |\mathcal{E}_i(\omega) + \mathcal{E}_r(\omega)|^2 = I_i(\omega) + I_r(\omega) + 2\mathrm{Re}(\mathcal{E}_i^\star(\omega)\mathcal{E}_r(\omega)) \tag{3.3}$$

est la quantité mesurée dans une expérience de transmission résolue spectralement. Elle dépend du champ rayonné par l'intermédiaire de son intensité I_r mais aussi par sa phase relative $\psi(\omega)$ par rapport au champ incident, comme illustré sur la figure 3.1.

Dans la mesure où l'intensité $I_r(\omega)$ du champ rayonné est négligeable, nous retrouvons ici l'expression de l'absorption donnée à l'équation 2.46 page 28 puisque l'intensité absorbée, intégrée spectralement, vaut

$$-2\ \mathrm{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\ \mathcal{E}_i^\star(\omega)\mathcal{E}_r(\omega)\right) \ \propto\ 2\ \mathrm{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\ -i\omega\mathcal{E}_i^\star(\omega)\mathcal{P}(\omega)\right) \tag{3.4}$$

$$\propto\ 2\ \mathrm{Re}\left(\int_{-\infty}^{\infty}dt\ \mathcal{E}_i^\star(t)\frac{d\mathcal{P}(t)}{dt}\right). \tag{3.5}$$

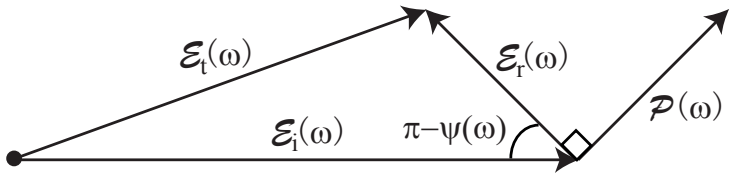

FIG. 3.1 : *Représentation dans le plan de Fresnel de l'addition des champs complexes incident et rayonné, $\mathcal{E}_i$ et $\mathcal{E}_r$. La polarisation $\mathcal{P}(\omega)$ rayonne le champ $\mathcal{E}_r(\omega)$. $\mathcal{P}(\omega)$ et $\mathcal{E}_r(\omega)$ sont perpendiculaires dans le plan de Fresnel puisque, d'après l'équation 3.1 page précédente, $\mathcal{E}_r(t) \propto \frac{d\mathcal{P}}{dt}(t)$. L'origine du plan de Fresnel est située à la base du vecteur représentant $\mathcal{E}_i(\omega)$. L'intensité du champ transmis $\mathcal{E}_t(\omega)$ dépend de la phase $\psi(\omega)$ entre $\mathcal{E}_i(\omega)$ et $\mathcal{E}_r(\omega)$.*

3.1.2 Cas d'une réponse linéaire stationnaire

Examinons la phase relative ψ dans le cas où la réponse du milieu est linéaire stationnaire et donnée par la susceptibilité d'ordre 1 [65]

$$\chi^{(1)}(\omega) \propto \frac{-|\mu|^2}{\omega - \omega_0 + i\Gamma} \tag{3.6}$$

2. Nous nous plaçons dans le cas où le champ rayonné possède une polarisation identique à celle du champ incident.

qui décrit la réponse d'un milieu possédant une résonance de largeur Γ située à la fréquence ω_0. Pour un champ incident dont le spectre se situe loin des résonances du milieu, la réponse du milieu est instantanée ($\omega_{\text{incident}} - \omega_0 >> \Gamma$) et la polarisation $\mathcal{P}(\omega) = \epsilon_0 \chi^{(1)}(\omega)\mathcal{E}_i(\omega)$ est en phase avec le champ excitateur incident. Le champ rayonné, en quadrature par rapport à la polarisation (cf. équation 3.1 page 35), se trouve donc aussi en quadrature par rapport au champ incident. Dans le plan de Fresnel (figure 3.2), le champ transmis peut être vu comme une rotation du champ incident, c'est un effet d'indice décrit par la partie réelle de $\chi^{(1)}$. Le champ conserve son intensité et acquiert, au cours de la traversée du milieu, une phase spectrale $\varphi(\omega)$.

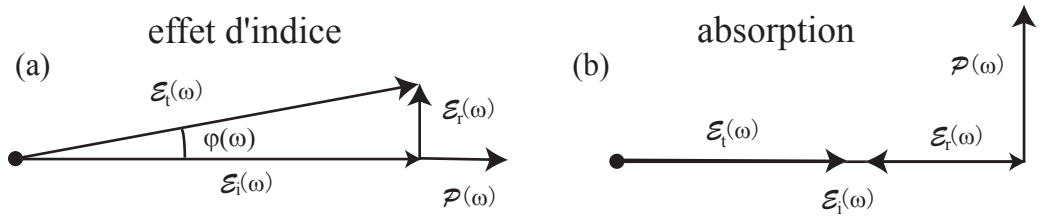

FIG. 3.2 : *Représentation dans le plan de Fresnel des effets d'absorption et d'indice. A gauche, un effet d'indice, le champ rayonné est en quadrature avec le champ incident. A droite, un effet d'absorption : la champ rayonné s'ajoute en opposition de phase avec le champ incident.*

En revanche, à résonance ($\omega = \omega_0$), la polarisation est retardée de $\frac{\pi}{2}$ par rapport au champ incident. Le champ rayonné, lui aussi retardé de $\frac{\pi}{2}$ par rapport à la polarisation, possède une phase relative de π avec le champ incident. L'addition des deux champs est alors destructive. Le champ transmis possède une intensité plus faible que le champ incident : c'est l'absorption.

Plus généralement, il y a absorption lorsque la polarisation est en retard sur le champ incident, soit lorsque la phase de $\chi^{(1)}(\omega)$ est comprise entre 0 et π. De façon analogue, dans un milieu possédant du gain, la polarisation induite est en avance sur le champ incident. C'est alors une interférence constructive entre une excitation et une émission en phase qui amplifie le champ. La phase $\psi(\omega)$ du champ émis (ou rayonné) par rapport au champ incident (ou excitateur) est donc un paramètre important à l'origine de différents effets physiques.

Pour un milieu pouvant être décrit par une réponse linéaire stationnaire, ceci explique comment les effets d'absorption et d'indice sont respectivement proportionnels à la partie imaginaire et réelle de la susceptibilité. Cette terminologie se généralise au cas d'une polarisation d'origine non linéaire-stationnaire et nous parlons de partie **imaginaire** et **réelle** du champ pour parler de la composante du champ émis en **phase** et en **quadrature** avec le champ électrique incident.

3.1.3 Cas d'une réponse non linéaire-stationnaire

Formuler l'absorption en tant qu'interférence sous contrôle de la phase entre le champ émis et le champ incident ne demande aucune hypothèse sur l'origine de la polarisation ;

cette description est donc aussi valable lorsque la polarisation n'est pas d'origine linéaire stationnaire.

Lorsque cette polarisation émet dans un domaine spectral disjoint du spectre du champ incident, aucune interférence entre champ incident et champ émis n'est possible. Dans ce cas, le terme croisé dans l'équation 3.3 page 36 est nul. En revanche, dès que l'émission non linéaire-stationnaire se trouve dans le même domaine spectral que le champ excitateur, il y a interférence et seule la phase relative champ émis et champ excitateur va décider si nous sommes en présence d'une absorption ou d'un gain d'intensité spectrale.

Donnons un exemple pour illustrer comment, en régime non linéaire-stationnaire, cette phase relative $\psi(\omega)$ peut avoir des comportements variés, causants des effets qui défient notre intuition linéaire. [3]

Prenons l'exemple de la transmission à la fréquence ω d'une impulsion dont le spectre couvre une octave $[\omega,2\omega]$ traversant un milieu possédant une susceptibilité d'ordre 2. Un processus de différence de fréquences entre la composante à 2ω et la composante à ω va produire une émission non-linéaire à $2\omega - \omega = \omega$. La phase de ce champ émis dépend de la phase relative des deux composantes spectrales 2ω et ω, l'intensité du champ transmis à la fréquence ω en dépend donc aussi. A la fréquence ω, nous sommes en présence d'une absorption qui dépend de la phase spectrale du champ incident.

Contrairement au cas linéaire stationnaire, la phase du champ émis n'est plus reliée de façon simple à la phase du champ incident, c'est-à-dire ne dépend plus uniquement de la phase du champ incident à la même fréquence. Pour cette raison, il est plus naturel de penser différemment à cette même expérience et de voir la composante ω du champ incident comme un oscillateur local contre lequel vient battre le champ émis par la polarisation et ainsi mesurer sa phase.

Cette remarque est importante pour pouvoir tisser un lien entre les différentes expériences qui nous intéressent : expériences d'absorption intégrées, résolues spectralement et expériences de détection homodyne. Elle permet d'interpréter plus clairement le spectre d'absorption dans le cas où une polarisation non linéaire-stationnaire émet à des fréquences situées à l'intérieur du spectre du champ incident.

3.2 Spectre dépendant du temps d'un milieu non-stationnaire

Dans cette section, nous précisons la différence qui existe entre le spectre d'absorption $\alpha(\omega)$ dans le cas stationnaire et le spectre d'absorption $\alpha(\omega,\tau)$ dépendant du temps dans le cas d'un milieu non-stationnaire. Un tel spectre est mesuré dans les expériences d'absorption pompe-sonde résolues spectralement dans lesquelles une impulsion pompe induit une réponse non-stationnaire du milieu analysée par un champ sonde. Nous portons une attention particulière aux milieux pouvant mettre en évidence des effets de cohérence et nous introduisons les effets de polarisation perturbée.

3. Comme par exemple les effets de polarisation perturbée [70] ou la self-induced transparency [71, 72].

3.2.1 Expression du spectre mesuré

Nous reprenons les notations de la section 3.1 page 35. Dans le cas où le champ émis est faible, l'intensité du champ émis est négligeable par rapport à celle du champ incident. L'intensité transmise vaut alors (équation 3.3 page 36)

$$\begin{aligned} I_t(\omega) &= |\mathcal{E}_i(\omega) + \mathcal{E}_r(\omega)|^2 \approx I_i(\omega) + 2\mathrm{Re}\mathcal{E}_i^\star(\omega)\mathcal{E}_r(\omega) && (3.7)\\ &= I_i(\omega)e^{-\alpha(\omega)L} \approx I_i(\omega)(1-\alpha(\omega)L) && (3.8)\end{aligned}$$

Le champ incident est noté $\mathcal{E}_\tau(t) = \mathcal{E}_i(t-\tau)$ lorsqu'il arrive à un instant τ dans le milieu non-stationnaire (cf. notations de l'annexe A page 103), $I_t(\omega,\tau)$ est l'intensité du champ transmis en fonction de τ. Nous obtenons donc, d'après 3.1 page 35, 3.7 et 3.8,

$$\alpha(\omega,\tau) \propto \mathrm{Im}\left(\frac{\mathcal{P}_\tau(\omega)}{\mathcal{E}_\tau(\omega)}\right) \tag{3.9}$$

qui s'écrit

$$\alpha(\omega) \propto \mathrm{Im}(\epsilon_0\chi^{(1)}(\omega)) \tag{3.10}$$

dans le cas linéaire stationnaire.

3.2.2 Spectre linéaire stationnaire et non-stationnaire

Dans le cas linéaire stationnaire, $\alpha(\omega)$ est une quantité intrinsèque du milieu et, pour tout champ incident $\mathcal{E}_i$, l'intensité du champ du champ transmis est

$$I_t(\omega) = \exp(-\alpha(\omega)L)I_i(\omega). \tag{3.11}$$

Dans le cas non-stationnaire, si le spectre d'absorption $\alpha(\omega,\tau) = \frac{-1}{L}\ln(\frac{I_t(\omega,\tau)}{I_i(\omega)})$ est bien mesurable, il n'existe pas *a priori* une quantité $\hat{\alpha}(\omega,\tau)$ indépendante du champ incident telle que **pour tout champ incident** $\mathcal{E}_i$ l'intensité du champ transmis puisse se déduire de $I_i(\omega)$ par

$$I_t(\omega,\tau) = \exp(-\hat{\alpha}(\omega,\tau)L)I_i(\omega). \tag{3.12}$$

Une telle description ne peut en effet pas prendre en compte la phase spectrale du champ incident, par exemple l'effet d'un champ incident possédant une dérive de fréquence, ni l'utilisation d'une séquence de 2 impulsions. Typiquement, c'est ce que nous allons appeler les effets de cohérence qui vont empêcher l'écriture de l'équation 3.12 pour tout champ incident avec un unique $\hat{\alpha}(\omega,\tau)$. La quantité mesurée $\alpha(\omega,\tau)$ dépend du champ incident, ce n'est pas une quantité intrinsèque du milieu. Nous présentons dans la section 3.4 page 53 une quantité alternative à $\alpha(\omega,\tau)$ qui n'est pas l'absorption mesurée mais qui permet de représenter l'absorption du milieu non-stationnaire indépendamment du champ sonde utilisé.

3.2.3 Spectre impulsionnel

Une mesure de $\alpha(\omega,\tau)$ particulière, notée $\alpha_{\mathrm{imp}}(\omega,\tau)$, est cependant distinguée. Elle est effectuée avec un champ incident pouvant être représenté comme une fonction de Dirac temporelle, soit en pratique un champ de phase spectrale plate dont le spectre couvre toutes

les fréquences d'intérêt. D'après l'équation 3.9 page précédente, dans laquelle on substitue $\mathcal{E}_\tau(\omega) = e^{i\omega\tau}$, elle s'exprime comme

$$\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) \propto \text{Im}\left\{\int_\tau^\infty dt\ e^{i\omega(t-\tau)}\mathcal{P}_\tau(t)\right\}. \tag{3.13}$$

$\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau)$ est donc liée à la transformée de Fourier de la polarisation induite **selon la direction du champ incident**[4] par une excitation impulsionnelle arrivant dans le milieu à l'instant τ. Dans le cas particulier d'une fonction de réponse donnée par l'équation 2.1 page 16, elle s'écrit encore

$$\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) \propto \text{Im}\left\{\int_0^\infty dt\ e^{i\omega t}\vec{u}_s \cdot (\mathcal{R}(t+\tau,\tau)\cdot\vec{u}_s)\right\} \tag{3.14}$$

où $\vec{u}_s$ est la direction du champ sonde impulsionnel incident.

3.2.4 Effets de cohérence dans les expériences pompe-sonde résolues spectralement

Nous ne nous intéressons ici qu'aux effets de polarisation perturbée et non aux effets de réseaux induits qui font aussi partie des effets de cohérence. Ces effets de polarisation perturbée qui se manifestent à délai négatifs (l'impulsion sonde arrive dans le milieu avant la pompe) dans les expériences pompe-sonde résolues spectralement donnent naissance à des oscillations dans le signal détecté. Ces oscillations rendent impossible une interprétation du signal ne faisant intervenir que des populations. Dans les expériences de détection homodyne, nous exploitons ces effets pour obtenir des informations sur l'évolution du système.

3.2.4.1 Introduction

Dans les expériences pompe-sonde, une impulsion pompe vient perturber le milieu et le conduire dans un état hors-équilibre à partir duquel il va évoluer. L'impulsion sonde vient analyser l'évolution de ce milieu perturbé par l'intermédiaire des variations de son intensité transmise I_t. Cette quantité est mesurée en fonction du délai $\tau = \tau_s - \tau_p$ entre les deux impulsions, où τ_s et τ_p sont les instants d'arrivée de l'impulsion sonde et de l'impulsion de pompe. Dans de telles expériences, résoudre spectralement l'intensité transmise en fonction du délai pompe-sonde (équation 3.13) donne accès à une information plus riche que la variation de la même quantité intégrée spectralement (équation 3.23 page 45). Cependant, lorsque la résolution temporelle sur le délai pompe-sonde devient plus fine que les temps de déphasage du milieu, ces expériences font apparaître, de façon *a priori* contre-intuitive, une absorption aux délais pompe-sonde négatifs. Ce sont des effets dits de polarisation perturbée [73, 59, 74, 75] que nous présentons ici.

En l'absence de pompe, la polarisation induite par le champ sonde est donnée par la susceptibilité linéaire du milieu (équation 2.3 page 16). Lorsque la sonde est impulsionnelle

4. Nous relâchons ici l'hypothèse introduite à la note 2 page 36.

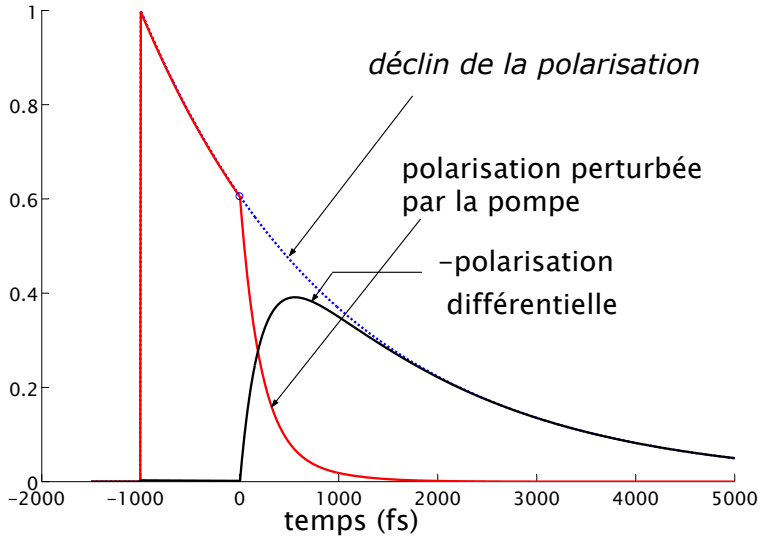

FIG. 3.3 : *Déclin de la polarisation («free induction decay»), polarisation perturbée par la pompe $\mathcal{P}_\tau(t)$ et polarisation différentielle $\Delta\mathcal{P}_\tau(t)$ représentés dans le référentiel tournant à la fréquence de résonance ω_0 de la raie d'absorption. La polarisation induite par la sonde à un délai pompe-sonde τ = -1 ps négatif est perturbée par la pompe arrivant à l'instant $\tau_p = 0$. Cette modification de la polarisation due à la pompe crée après son arrivée dans le milieu, c'est-à-dire à des temps positifs, une polarisation différentielle $\Delta\mathcal{P}_\tau(t)$. Dans le cas ici représenté, le temps de déphasage T_2 vaut 2 ps. La polarisation est perturbée par la pompe par la modification du temps de déphasage instantané, qui passe linéairement, en 1 ps, de sa valeur initiale de 2 ps à une valeur finale de 400 fs.*

vis-à-vis de $\chi^{(1)}$,[5] cas dans lequel nous nous plaçons, la polarisation induite est proportionnelle à $\chi^{(1)}(t-\tau_s)$. Le déclin de l'enveloppe de la polarisation est représenté figure 3.3 page précédente dans le cas d'une susceptibilité linéaire donnée par l'équation 3.6 page 36 et d'une sonde impulsionnelle arrivant à l'instant $\tau_s = -1\ ps$. Cette polarisation décroît avec une constante de temps $T_2 = \frac{1}{\Gamma}$, le temps de déphasage lié à la largeur de la raie d'absorption considérée.

a Polarisation perturbée par diminution du temps de déphasage Considérons maintenant ce même déclin de la polarisation induite lorsqu'une impulsion pompe infiniment brève arrive dans le milieu après la sonde. Le délai pompe-sonde τ est alors négatif. Lorsque $|\tau|$ est de l'ordre de T_2, la polarisation induite par la sonde est encore présente au temps $\tau_p = 0$ de l'arrivée de la pompe. Cette impulsion de pompe modifie le *déclin de la polarisation*, comme illustré sur la figure 3.3 page précédente et donne lieu à une polarisation différentielle aux temps positifs qui suivent l'arrivée de la pompe.

Lorsque l'on peut considérer la sonde comme infiniment brève, la quantité mesurée dans une mesure de transmission différentielle résolue spectralement est donnée par l'équation 3.13 : $\Delta\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) = \text{Im}\left\{\int_{\tau_p=0}^{\infty} dt\ e^{i\omega(t-\tau)}\Delta\mathcal{P}_\tau(t)\right\}$. Cette quantité, bien que dépendant seulement de la valeur de la polarisation à des temps positifs, n'est pas nulle pour des délais pompe-sonde τ négatifs.

b Décalage en fréquence cohérent L'augmentation du temps de déphasage n'est pas la seule cause possible d'un effet de polarisation perturbée. Dans le cas où l'effet d'une impulsion de pompe est de provoquer un changement de fréquence de résonance $\delta\omega(t)$, des effets de polarisation perturbée peuvent aussi se produire. En particulier, pour une raie possédant un temps de déphasage T_2, si la phase

$$\Phi = \int_{\tau_p}^{T_2+\tau_p} dt\ \delta\omega(t) \tag{3.15}$$

accumulée pendant le temps de déphasage est supérieure ou de l'ordre de π (voir figure 3.4 page suivante), la polarisation oscille dans le référentiel tournant à la fréquence de résonance initiale et les nouvelles fréquences vont alors être clairement visibles dans le spectre de la polarisation induite à des délais négatifs.

Cette relation peut aussi se voir comme une relation d'incertitude : la largeur spectrale de la raie fixe une résolution spectrale $\ll\frac{1}{T_2}\gg$ (ou de manière équivalente, ouvre une fenêtre temporelle de largeur T_2) qui va déterminer si les nouvelles fréquences pourront être distinguées de la fréquence initiale.

Nous discutons à la section 3.3.3.3 page 50 comment se manifeste l'effet du changement de fréquence en fonction du spectre de la sonde utilisée.

5. Nous désignons ainsi une sonde de phase spectrale plate dont le spectre recouvre toutes les fréquences intervenant dans $\chi^{(1)}(\omega)$.

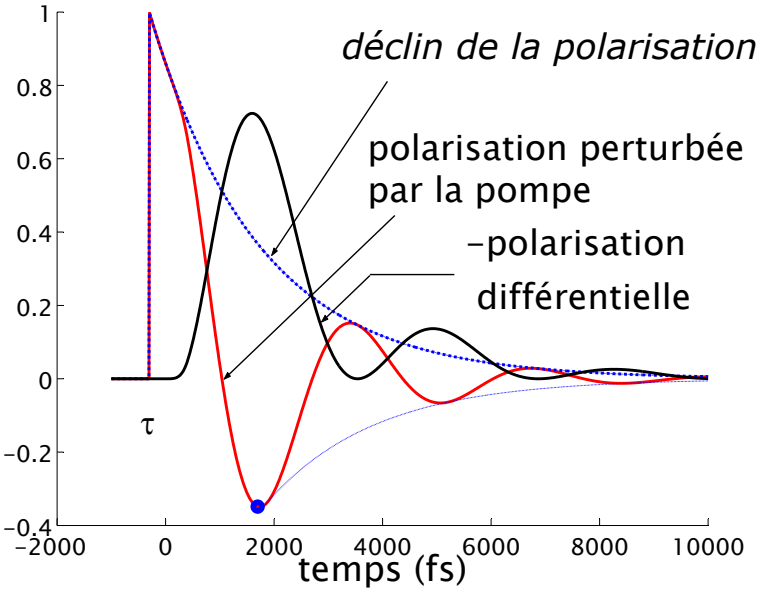

FIG. 3.4 : *Polarisation perturbée représentée dans le référentiel tournant à la fréquence initiale. Dans le cas représenté, le délai τ vaut -300 fs, l'enveloppe de la polarisation est une exponentielle décroissante avec une constante de temps T_2 de 2 ps. La fréquence varie linéairement et subit un changement de $\Delta\sigma = 10\ cm^{-1}$ effectué sur une durée de 400 fs à partir du temps $\tau_p = 0$.*

3.2.4.2 Résolution temporelle

Continuons à discuter l'observation d'effets de cohérence dans le cadre d'une fonction de réponse non-stationnaire. Nous prenons en compte une impulsion de pompe de durée finie prise en compte par une convolution de l'équation 2.7 page 18. Notons $\Delta\alpha^r_{\text{imp}}(\omega,\tau)$ [6], désigne le spectre impulsionnel mesuré avec une impulsion de pompe infiniment brève – correspondant à une fonction de réponse $r(t,t')$. Le spectre impulsionnel mesuré avec une impulsion de pompe de durée finie et d'intensité temporelle $I_p(t)$ – correspondant à une fonction de réponse $\mathcal{R}(t,t')$ – est la convolution suivante selon le délai τ

$$\Delta\boldsymbol{\alpha}^{\mathcal{R}}_{\text{imp}}(\omega,\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p\ I_p(t_p)\Delta\alpha^r_{\text{imp}}(\omega,\tau - t_p) \tag{3.16}$$

Les effets de polarisation perturbée se manifestent pour des délais τ négatifs sur un domaine temporel de l'ordre de T_2. Ces effets ne peuvent donc apparaître que pour une impulsion pompe de durée Δt_p vérifiant approximativement $\Delta t_p < T_2$.

3.3 Point de vue fréquence-fréquence

La description d'un milieu non-stationnaire par un spectre dépendant du temps imite le modèle d'une réponse linéaire stationnaire dans lequel la polarisation ne peut seulement

6. Dans l'équation 3.14 page 40, l'indice imp pour impulsionnel se rapporte seulement au champ incident et non à la durée de la pompe.

émettre qu'à une fréquence à laquelle elle a été excitée. Une telle description «échoue» (cf. section 3.2) donc dans le cas où la pompe induit un changement de fréquence au cours du duquel la cohérence est conservée. Afin de rendre compte des processus d'excitation et d'émission à l'œuvre dans un matériau non-stationnaire, nous introduisons dans cette section une représentation spectrale de la fonction de réponse linéaire non-stationnaire.

3.3.1 Présentation

Dans la section 2.1, nous avons introduit une fonction de réponse non-stationnaire $\mathcal{R}(t,t')$. Dans ce cadre, la relation $\mathcal{P}(\omega) = \epsilon_0\chi^{(1)}(\omega)\mathcal{E}(\omega)$ n'est plus valable. La relation linéaire 2.1 (page 16) que nous supposons entre le champ excitateur et la polarisation induite permet toutefois de généraliser cette relation par l'introduction d'une fonction de réponse $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ dépendant de 2 variables spectrales. $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ nous permet de formaliser la discussion de la section 3.1 page 35 dans le cadre d'une réponse linéaire non-stationnaire.

La relation linéaire 2.1 entre la polarisation induite et le champ électrique s'écrit dans le domaine spectral

$$\mathcal{P}(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega'}{2\pi}\ \mathcal{R}(\omega,\omega')\mathcal{E}(\omega'). \tag{3.17}$$

Ceci généralise l'équation 2.4 page 16 du cas linéaire stationnaire qui est un cas particulier de l'équation 3.17 dans lequel la fonction de réponse est *diagonale* :

$$\mathcal{R}(\omega,\omega') = \epsilon_0\chi^{(1)}(\omega) \times 2\pi\delta(\omega-\omega'). \tag{3.18}$$

Le calcul de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ à partir de $\mathcal{R}(t,t')$ fait intervenir une double transformée de Fourier [7]

$$\mathcal{R}(\omega,\omega') = \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ e^{i\omega t}\mathcal{R}(t,t')e^{-i\omega' t'}. \tag{3.19}$$

$\mathcal{R}(\omega,\omega')$ caractérise comment un milieu, soumis à une excitation à ω', va émettre à la fréquence ω. C'est une quantité complexe qui rend compte de la phase de la polarisation induite. $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ caractérise donc une émission dans laquelle la composante émise à la fréquence ω possède une relation de phase avec la composante du champ excitateur à la fréquence ω'. Elle permet de séparer les deux processus d'excitation et d'émission qui se *confondent* dans le cas stationnaire. Comme précisé à la section 2.1.2, nous ne supposons pas un ordre de linéarité spécifique pour les processus qui conduisent à l'obtention de la réponse linéaire non-stationnaire.

3.3.2 Quantités mesurées dans les expériences

Grâce à une formulation dans le domaine spectral il est possible de relier simplement différentes expériences par intégration sur des variables spectrales.

Le champ incident $\mathcal{E}(t)$ utilisé dans les expériences de transmission désigne le champ de l'impulsion sonde. Lorsque cette impulsion sonde est décalée temporellement d'un délai τ, le milieu voit une impulsion sonde de champ $\mathcal{E}_\tau(t)$ dont la transformée de Fourier vaut $\mathcal{E}_\tau(\omega) = e^{i\omega\tau}\mathcal{E}(\omega)$.

7. Le signe $-$ dans le $e^{-i\omega' t'}$ de l'équation 3.19 est nécessaire à l'écriture de l'équation 3.17.

3.3.2.1 Expériences intégrées spectralement

Les variations d'intensité transmise dans les expériences de transmission différentielle sont données par l'équation 2.47 page 29

$$S(\tau) \propto \mathrm{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}_\tau^\star(t)\Delta\mathcal{P}_\tau(t)\right) = \mathrm{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi}\ \mathcal{E}_\tau^\star(\omega)\Delta\mathcal{P}_\tau(\omega)\right) \tag{3.20}$$

et donc, d'après l'équation 3.17 page précédente,

$$S(\tau) \propto \mathrm{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi}\ \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega'}{2\pi}\ \mathcal{E}_\tau^\star(\omega)\Delta\mathcal{R}(\omega,\omega')\mathcal{E}_\tau(\omega')\right). \tag{3.21}$$

3.3.2.2 Expériences résolues spectralement

Le signal pompe-sonde résolu spectralement se déduit l'équation 3.9 que l'on réécrit ici dans le cas où la polarisation différentielle n'est pas forcément dirigée selon la polarisation de l'impulsion sonde.

$$\Delta\alpha(\omega,\tau) \propto \mathrm{Im}\left(\frac{\vec{\mathcal{E}^\star}_\tau(\omega).\Delta\vec{\mathcal{P}}_\tau(\omega)}{I_i(\omega)}\right) = \frac{1}{I_i(\omega)}\mathrm{Im}\left(\mathcal{E}^\star(\omega)e^{-i\omega\tau}\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega'}{2\pi}\ \Delta\mathcal{R}(\omega,\omega')\mathcal{E}(\omega')e^{i\omega'\tau}\right). \tag{3.22}$$

Cette dernière équation nous permet de discuter les effets de polarisation perturbée dans le cas d'une sonde de largeur spectrale finie. Elle permet aussi de formaliser la discussion de la section 3.1 page 35 sur les effets d'interférence entre le champ incident et le champ rayonné dans le cas d'une fonction de réponse linéaire non-stationnaire. Elle montre enfin comment, lorsqu'un transfert de cohérence entre deux fréquences différentes est possible, c'est-à-dire lorsque $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ possède des termes non-diagonaux non-nuls, l'absorption devient dépendante de la phase du champ incident.

Le signal des expériences intégrées spectralement qui se déduit de l'équation 3.8 page 39 se retrouve bien par intégration spectrale de l'absorption différentielle :

$$S(\tau) \propto \int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\ \Delta\alpha(\omega,\tau)I_i(\omega). \tag{3.23}$$

Le signal des expériences de détection du champ émis (cf. équation 2.61 page 31) se calcule de la même façon en remplaçant $\mathcal{E}^\star(\omega)$ par $\mathcal{E}^\star_{\mathrm{ref}}(\omega)$ dans l'équation 3.22.

3.3.2.3 Expériences bidimensionnelles

On peut s'intéresser à la quantité $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ en soi. La connaissance de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$, équivalente à celle de $\mathcal{R}(t,t')$, permet de caractériser la réponse non-stationnaire du milieu. En outre, elle permet de visualiser clairement une émission à une fréquence ω provenant de fréquences d'excitation ω' différentes. Notons cependant que cette information sur les corrélations entre fréquences d'excitation et d'absorption se trouve aussi dans le spectre dépendant du temps $\alpha_{\mathrm{imp}}(\omega,\tau)$ donné par l'équation 3.14. $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ est une quantité mesurable, par exemple à l'aide de techniques analogues à celles utilisées en spectroscopie bidimensionnelle par transformée

de Fourier [76, 77, 78]. Notons cependant que bien que dépendant aussi de deux variables spectrales, la quantité $\mathcal{R}(\omega,\omega')$, liée à la réponse non-stationnaire du milieu, diffère de la quantité bidimensionnelle stationnaire mesurée en spectroscopie bidimensionnelle.

3.3.3 Cas d'un changement de fréquence instantané

3.3.3.1 Calcul de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$

Nous donnons l'expression de la réponse $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ dans le cas particulier de la réponse établie au chapitre 2 (équation 2.40 page 27). Nous utilisons une réponse qui modélise un milieu possédant une raie de largeur Γ subissant un changement instantané de force d'oscillateur variant de $|\mu_i|^2$ à $|\mu_i|^2$ et un changement de fréquence de résonance $\Delta\nu = \frac{|\omega_f-\omega_i|}{2\pi} = \frac{\Delta\omega}{2\pi}$. Cette réponse particulière montre des effets de polarisation perturbée et permet de discuter les effets d'une largeur sonde finie dans le cas d'un changement de fréquence cohérent.

$$\mathcal{R}(t,t') = i\theta(t-t')\mu(t)\mu^\star(t')e^{-\Gamma(t-t')}e^{-i\int_{t'}^{t} du\ \omega(u)}, \tag{3.24}$$

$$\text{avec} \quad \omega(t) = \theta(-t)\omega_i + \theta(t)\omega_f \tag{3.25}$$

$$\text{et} \quad \mu(t) = \theta(-t)\mu_i + \theta(t)\mu_f. \tag{3.26}$$

$$\tag{3.27}$$

$\mathcal{R}(\omega,\omega')$, calculé à partir de l'équation 3.19 page 44 donne 4 termes :

$$\frac{-|\mu_i|^2}{(\omega-\omega_i+i\Gamma)}\frac{i}{(\omega'-\omega+i\epsilon)}, \tag{3.28}$$

$$\frac{-|\mu_f|^2}{(\omega-\omega_f+i\Gamma)}\frac{-i}{(\omega'-\omega-i\epsilon)}, \tag{3.29}$$

$$\frac{|\mu_i|^2}{(\omega-\omega_i+i\Gamma)}\frac{i}{(\omega'-\omega_i+i\Gamma)}, \tag{3.30}$$

$$\text{et} \quad \frac{-\mu_i^\star\mu_f}{(\omega-\omega_f+i\Gamma)}\frac{i}{(\omega'-\omega_i+i\Gamma)}, \tag{3.31}$$

où ϵ est infiniment petit et positif.

Les termes 3.28 et 3.30 proviennent du domaine d'intégration t et t' négatifs. Le terme 3.29 provient du domaine t et t' positifs. Le terme 3.31 provient du domaine d'intégration $t' < 0$ et $t > 0$.

- Les termes 3.28 et 3.29 sont «infiniment» proches de la diagonale et ressemblent à une réponse de type stationnaire. Nous les appelons termes quasi-stationnaires. Dans le spectre impulsionnel, ils vont contribuer à un terme intuitif que l'on peut interpréter en termes de population.
- Les termes 3.30 et 3.31 donnent à $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ des composantes non-diagonales. Ils reflètent les effets de polarisation perturbée et contribuent au spectre impulsionnel seulement à des délais négatifs (cf. équation 3.34). Ces deux termes correspondent aux effets de polarisation perturbée discutés dans la section 3.2.4 page 40 dans le cas d'un changement

de fréquence induit par l'impulsion pompe. Pourvu que la différence de fréquences $\Delta\omega$ soit supérieure à Γ, ces deux termes sont bien séparés dans le plan (ω,ω').[8]

La partie imaginaire de ces deux derniers termes sont représentés figure 3.5, le terme 3.30 occupe une largeur spectrale Γ le long de la diagonale autour de (ω_i,ω_i) tandis que le terme 3.31 page précédente se trouve en dehors de la diagonale et occupe une largeur spectrale Γ autour de (ω_f,ω_i) : il correspond à l'émission à ω_f pour une fréquence d'excitation à ω_i. Seule la partie imaginaire est montrée, elle seule intervient dans une expérience pompe-sonde d'absorption dans laquelle la sonde possède une phase spectrale plate.

Par contre, la figure 3.5 ne montre pas les termes 3.28 et 3.29 de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ qui sont très difficilement représentables puisqu'ils sont placés le long de la diagonale dans le plan (ω,ω').

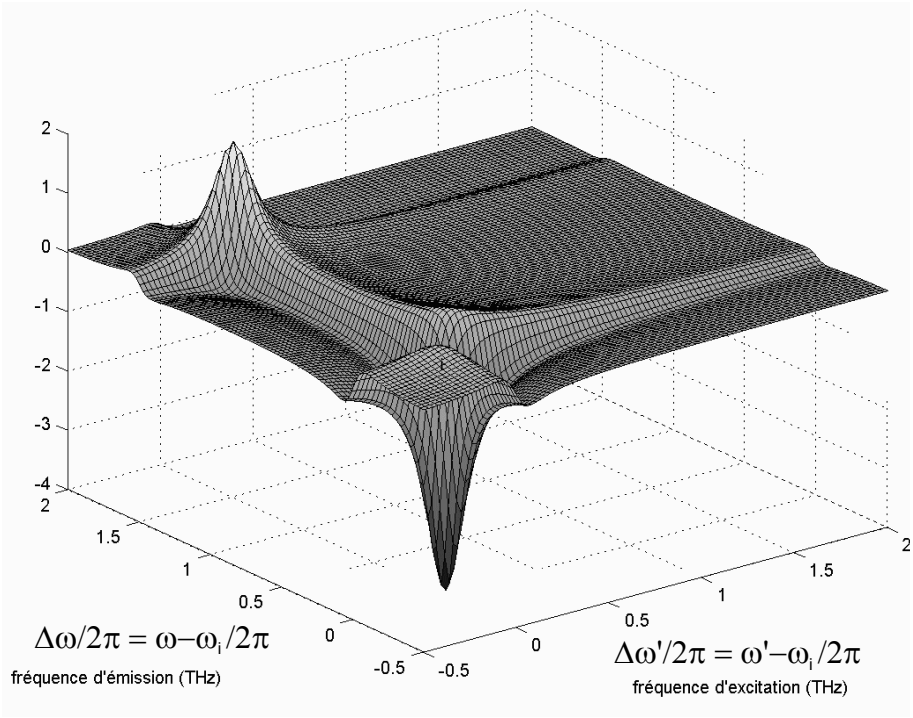

FIG. 3.5 : *Im($\mathcal{R}(\omega,\omega')$) calculée dans le cas d'une raie lorentzienne (temps de déphasage $\frac{1}{\Gamma}$ = 2 ps) effectuant un changement de fréquence instantané de $\Delta\nu$ = 1.5 THz. Seuls les termes 3.30 et 3.31 sont représentés. L'axe vertical est arbitraire et $\mu_f = \frac{\mu_i}{2}$. Dans cette figure comme dans la figure 3.6 page 49, la fréquence nulle correspond à la fréquence initiale ω_i (référentiel tournant).*

8. Dans le cas de cette réponse simple, c'est seulement le rapport $\frac{\Delta\omega}{\Gamma}$ qui contrôle l'intensité des effets de cohérence comme le montre 3.15.

3.3.3.2 Spectre impulsionnel dépendant du temps

Calculons le spectre impulsionnel dépendant du temps (équation 3.14). Il se déduit aussi de l'équation 3.22 en prenant $\mathcal{E}(\omega) = 1$:

$$\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) \propto \text{Im}\left\{\int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega'}{2\pi}\, e^{-i(\omega-\omega')\tau}\mathcal{R}(\omega,\omega')\right\}. \tag{3.32}$$

Les termes quasi-stationnaires 3.28 et 3.29 page 46 fournissent à $\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau)$ la contribution

$$\theta(-\tau)\text{Im}\left\{\frac{-|\mu_i|^2}{\omega-\omega_i+i\Gamma}\right\} + \theta(\tau)\text{Im}\left\{\frac{-|\mu_f|^2}{\omega-\omega_f+i\Gamma}\right\}, \tag{3.33}$$

qui forme le spectre dépendant du temps intuitif : le spectre d'absorption est fixe aux délais positifs et négatifs. Il change brutalement autour du délai pompe-sonde nul de sa valeur initiale à sa valeur finale.

Les termes 3.30 et 3.31 ajoutent au spectre dépendant du temps la contribution suivante :

$$\theta(-\tau)\text{Im}\left\{\frac{|\mu_i|^2 e^{\Gamma\tau}e^{-i(\omega-\omega_i)\tau}}{\omega-\omega_i+i\Gamma}\right\} + \theta(-\tau)\text{Im}\left\{-\frac{\mu_i^\star\mu_f e^{\Gamma\tau}e^{-i(\omega-\omega_i)\tau}}{\omega-\omega_f+i\Gamma}\right\}. \tag{3.34}$$

Le spectre différentiel

$$\Delta\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) = \alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) - \text{Im}\left\{\frac{-|\mu_i|^2}{\omega-\omega_i+i\Gamma}\right\}, \tag{3.35}$$

obtenu en retranchant au spectre précédemment calculé le spectre obtenu en l'absence de pompe, est représenté sur la figure 3.6. L'intégration sur la fréquence d'excitation ω' (équation 3.32) des termes représentés figure 3.5 fournit les contributions à délais négatifs du spectre impulsionnel. Le terme 3.30 est à l'origine d'oscillations spectrales autour de la fréquence initiale $\omega_i = 0$ alors que le terme 3.31 page 46 contribue autour de la fréquence finale ω_f. Le spectre présente à cet endroit des oscillations à la fois spectrales et temporelles. Ces oscillations temporelles se trouvent le long de l'axe temporel τ et possèdent une fréquence $\Delta\nu$.[9]

L'intégration du spectre impulsionnel différentiel $\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\,\Delta\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau)$ correspond à la transmission différentielle $S(\tau)$ d'une impulsion sonde infiniment brève (équation 3.23 page 45). Pour des raisons de causalité, la transmission de cette sonde à délais pompe-sonde négatifs n'est pas affectée par une impulsion pompe qui perturbe le milieu après son passage, le signal $S(\tau)$ différentiel avec et sans pompe est alors nul pour $\tau < 0$. Nous en déduisons que

$$\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\,\Delta\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau) = 0 \quad \text{pour un délai } \tau \text{ négatif.} \tag{3.36}$$

Ceci est bien vérifié par l'intégration spectrale de l'équation 3.34.

9. Ces oscillations temporelles sont aussi présentes dans la contribution du terme 3.30 page 46, mais ont une période bien plus grande, de l'ordre de $\frac{1}{\Gamma}$ dans les ailes du spectre.

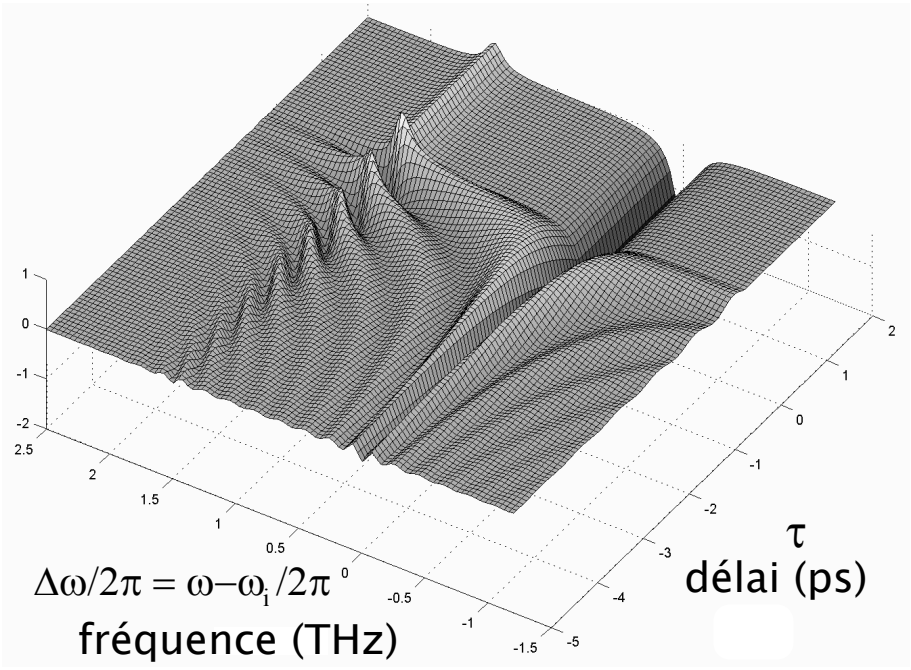

FIG. 3.6 : *Spectre différentiel $\Delta\alpha_{imp}(\omega,\tau)$ calculé (équation 3.32 page ci-contre) dans le cas d'une raie lorentzienne dont le temps de déphasage est $\frac{1}{\Gamma} = 2$ ps et effectuant un changement de fréquence instantané de $\Delta\nu = 1.5$ THz. L'axe vertical est arbitraire et $\mu_f = \frac{\mu_i}{2}$.*

L'absorption autour de la fréquence ω_f qui oscille en changeant de signe est due à la nature interférentielle de l'absorption mentionnée à la section 3.1.3 page 37 et résulte d'une interférence du champ émis à la fréquence ω_f avec la composante du champ sonde incident à cette même fréquence. C'est la même oscillation à la différence de fréquences entre la fréquence finale et initiale se retrouve dans les expériences de détection homodyne autoréférencée (cf. section 2.6.2.4 page 34).

3.3.3.3 Observation des effets de cohérence

Le calcul qui mène au spectre composé de 3.33 page 48 et 3.34 page 48 suppose

- une impulsion de pompe infiniment brève,
- une impulsion de sonde dont le spectre couvre l'ensemble des fréquences en jeu (les raies ω_i et ω_f de largeur Γ),
- ainsi qu'un changement de fréquence au cours duquel la cohérence est conservée.

Relâcher ces hypothèses conduit à mettre en évidence une différence entre les deux termes de l'équation 3.34 page 48. En particulier, nous verrons dans les paragraphes suivants que le dernier terme de l'expression 3.34 se révèle beaucoup plus *sensible* à ces hypothèses.

a Influence de la durée de l'impulsion pompe dans l'observation des effets de cohérence L'observation des effets de cohérence dépend de la résolution temporelle de l'expérience et n'est possible que lorsque la durée de l'impulsion pompe est plus courte que le temps de déphasage (cf. section 3.2.4 page 40). Ce critère nécessaire pour observer les effets de cohérence issus du terme 3.30 ne suffit pas pour observer des oscillations de cohérence issues du terme 3.31 page 46. Nous discutons quantitativement ce point dans le cadre d'une impulsion pompe de durée finie prise en compte par l'équation 2.7 page 18. L'influence de la durée de la pompe sur une réponse spectrale obtenue à partir d'une réponse impulsionnelle $r(\omega,\omega')$ se déduit des équations 2.7 page 18 et 3.19 page 44.

$$\mathcal{R}(\omega,\omega') = \tilde{I}_p(\omega - \omega')r(\omega,\omega'). \tag{3.37}$$

$\tilde{I}_p(\omega)$ désigne la transformée de Fourier de l'intensité temporelle de la pompe et non l'intensité spectrale. Les effets de cohérence se traduisent par des termes non-diagonaux dans la réponse impulsionnelle $r(\omega,\omega')$. Suivant la durée de la pompe, nous allons avoir accès à des termes plus ou moins éloignés de la diagonale.

- Pour pouvoir observer la polarisation perturbée provenant du terme 3.30 page 46, un spectre de pompe plus large que la largeur Γ est nécessaire. Ceci correspond à impulsion pompe d'une durée plus brève que le temps de déphasage T_2.
- Pour pouvoir observer le terme 3.31 page 46, c'est en revanche la différence de fréquences $\Delta\nu$ qui est à comparer à la largeur spectrale de $\tilde{I}_p(\omega - \omega')$. Ceci reflète que, dans le cas où la pompe possède une durée supérieure à $\frac{1}{\Delta\nu}$, les contributions à la polarisation des différentes populations excitées par le profil temporel de l'intensité pompe sont déphasées et interfèrent destructivement.

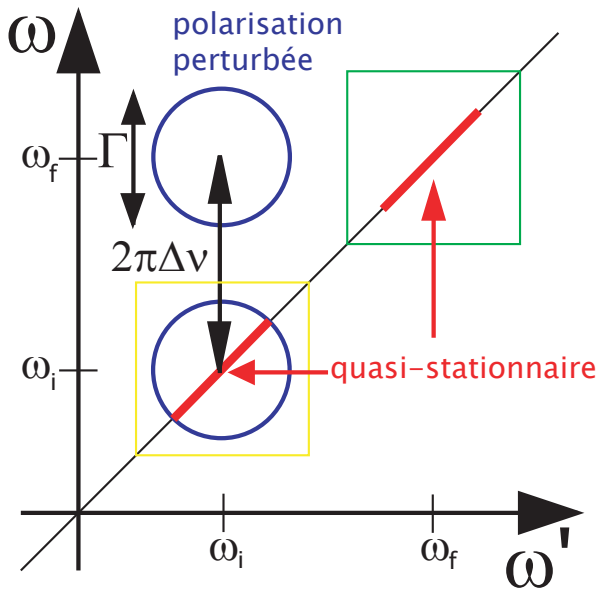

FIG. 3.7 : *Représentation schématique de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$. Les quatre termes sont représentés. Les termes quasi-stationnaires 3.28 et 3.29 se trouvent le long de la diagonale en rouge et les termes de polarisation perturbée 3.30 et 3.31 sont représentés par les cercles bleus. Lorsqu'une sonde de largeur spectrale finie, inférieure à $\Delta\nu$, est utilisée, les expériences résolues spectralement ne sont pas sensibles au terme croisé 3.31. Les carrés correspondent au domaine de fréquence auxquelles sont sensibles des expériences utilisant des spectres de sonde de largeur finie supérieure à Γ mais inférieur à $\Delta\nu$ dans le cas d'une sonde centrée à la fréquence initiale (en jaune) et dans le cas d'une sonde centrée à la fréquence finale (en vert).*

b Influence du spectre d'impulsion sonde utilisé Considérons l'utilisation d'une impulsion sonde possédant un spectre fini plus étroit que la différence de fréquences $\Delta\nu$. Le spectre dépendant du temps mesuré n'est plus alors $\alpha_{\text{imp}}(\omega,\tau)$ donné par 3.14, mais est donné par l'équation 3.22 page 45. Suivant le spectre de sonde utilisé, les expériences sont donc sensibles à des termes différents :

- Si l'impulsion sonde est centrée sur la fréquence initiale, l'expérience pompe-sonde résolue spectralement est sensible aux termes proches de la diagonale à la fréquence initiale, c'est-à-dire 3.28 et 3.30 comme le montre la figure 3.7 page précédente. Il y a un effet de polarisation perturbée qui est seulement dû à l'extinction de la polarisation à la fréquence initiale.
- Lorsque l'impulsion sonde est centrée sur la fréquence finale, le spectre d'absorption ne va être sensible qu'au terme quasi-stationnaire 3.31 à la fréquence finale (terme le long de la diagonale sur la figure 3.7 page précédente). Aucun effet de cohérence n'est alors observé. Ceci se comprend aussi d'un point de vue temporel : il n'y a pas d'effet de polarisation perturbée puisque la sonde, non résonnante à la fréquence initiale, ne peut pas induire de polarisation à délais négatifs.

Lorsque la largeur de l'impulsion sonde accessible est limitée, il n'est donc pas possible d'être sensible au terme non-diagonal 3.31. Il est toutefois possible d'accéder au terme diagonal à l'aide de deux répliques décalées spectralement (et possédant une relation de phase). Une telle configuration a déjà été utilisée en spectroscopie multidimensionnelle [79].

c Influence de la cohérence du transfert La fonction de réponse utilisée (équation 3.24 page 46) suppose un changement de fréquence cohérent. Lorsque l'excitation se produit aux délais négatifs, il existe une relation de phase entre la polarisation induite aux délais négatifs à la fréquence ω_i et la polarisation induite aux délais positifs à la fréquence ω_f. La prise en compte d'éventuels processus de déphasage dans le transfert de cohérence peut s'effectuer par l'introduction d'un saut de phase aléatoire ϕ dans l'équation 3.24 page 46. Ce saut de phase de $\phi = \int_{0^-}^{0^+} dt\ \delta\omega(t)$ aléatoire est dû aux différents chemins $\delta\omega(t)$ pouvant être empruntés par la fréquence lors du transfert. Seul le terme 3.31 page 46 qui relie les domaines temporels positifs et négatifs est affecté par l'introduction d'un tel déphasage. Ce terme est alors multiplié par un facteur $e^{-i\phi}$ dont la moyenne sur les différents chemins empruntés mesure la cohérence du transfert. Dans le cas d'une phase équirépartie sur $[0,2\pi]$, cette moyenne est nulle et traduit, comme dans le cas d'une impulsion pompe longue (paragraphe a page 50), l'interférence destructive qui a lieu entre les différentes polarisations microscopiques.

d Information sur la cohérence du transfert Dans le cas d'une sonde de largeur $\Delta\nu$, les oscillations à délais négatifs issues du terme 3.31 page 46 permettent de donner une information sur les processus de déphasage. Les forces d'absorption $|\mu_i|^2$ et $|\mu_f|^2$ étant connues, une baisse de l'amplitude de ces oscillations par rapport à l'amplitude $\mu_i\mu_f$ attendue dans le cas d'un changement de fréquence cohérent renseigne sur les processus de déphasage.

Une expérience intégrée spectralement non sensible aux effets de polarisation perturbée ne permet pas d'obtenir d'information sur la cohérence du transfert (cf. section 3.3.3.2 page 48). Il en est de même pour une expérience résolue spectralement utilisant une sonde qui ne possède pas dans son spectre à la fois les domaines de fréquence initiale et finale, c'est-à-dire

qui ne peut accéder aux termes non-diagonaux de la fonction de réponse. En particulier, le terme 3.30 page 46 ne peut permettre de faire une distinction entre un déphasage et une baisse de la force d'absorption [80].

3.3.4 Lien avec les expériences de Raman impulsionnel

Les termes de polarisation perturbée dus aux termes non-diagonaux de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ sont confinés aux délais négatifs dans les expériences pompe-sonde. Si la présence d'éléments non-diagonaux $\mathcal{R}(\omega_1,\omega_2)$ dans une réponse linéaire non-stationnaire se manifeste toujours sous la forme d'oscillations temporelles à la différence de fréquences $\omega_1 - \omega_2$, ces oscillations n'apparaissent pas seulement aux délais négatifs. Dans les expériences de Raman impulsionnel où une cohérence vibrationnelle est excitée de manière impulsive par un processus Raman [55, 81, 82, 83], des oscillations à cette fréquence vibrationnelle sont observées dans les expériences d'absorption visibles résolues spectralement.

Brièvement, la pompe visible peut exciter une cohérence vibrationnelle, vis-à-vis de la sonde, ce qui se traduit par des termes diagonaux non-nuls dans la fonction de réponse puisqu'une interaction avec ω' peut alors créer une cohérence à ω (figure 3.8 page suivante). Dans les expériences de polarisation perturbée, le rôle de la pompe n'est pas de créer une cohérence mais de modifier une cohérence existante. Les deux interactions du milieu avec la sonde sont donc placées de part et d'autre de l'interaction de la pompe avec le milieu.

3.4 Point de vue temps-fréquence

Nous avons déjà introduit deux fonctions de réponse équivalentes, $\mathcal{R}(t,t')$ et $\mathcal{R}(\omega,\omega')$. Nous présentons ici une représentation spectro-temporelle $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ de la fonction de réponse linéaire non-stationnaire introduite dans la section 2.1 page 16. La partie imaginaire de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ possède les caractéristiques d'un spectre d'absorption dépendant du temps.

Une description spectro-temporelle de la fonction de réponse stationnaire est donné dans la référence [84]. Cette description traite le cas d'une réponse linéaire stationnaire. Nous développons ici le cas d'une fonction de réponse linéaire non-stationnaire.

Bien que la fonction $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ soit mesurable expérimentalement,[10] ce n'est pas, comme ses homologues $\mathcal{R}(t,t')$ et $\mathcal{R}(\omega,\omega')$, une quantité possédant un contenu physique clair. $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ analyse néanmoins la fonction de réponse en temps et en fréquence, et, dans les limites fixées par les relations d'Heisenberg (temps-fréquence), elle est particulièrement utile pour représenter une réponse dans laquelle une fréquence dépend du temps. Comme nous l'avons fait dans la section 3.3 page 43, nous présentons $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ dans le cadre de l'approximation du champ tournant déjà présente dans l'écriture de l'équation 2.1.

L'annexe D détaille le calcul qui permet d'obtenir l'expression de la représentation temps-fréquence.

10. $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ s'obtient directement à partir de $\mathcal{R}(t,t')$ ou de $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ par une transformée de Fourier.

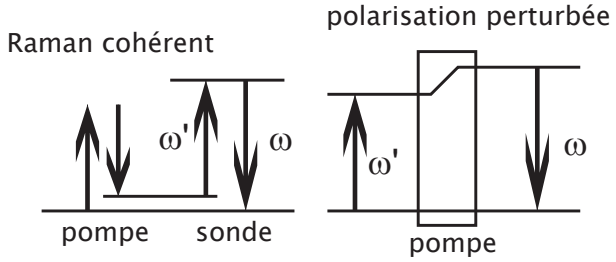

FIG. 3.8 : *Oscillations de cohérence à délais positifs et négatifs. A gauche, nous avons représenté le mélange à quatre ondes dont l'absorption résulte dans une expérience de type Raman impulsionnel. La pompe vient exciter une cohérence vibrationnelle (deux premières interactions). Cette cohérence provoquent la diffusion cohérente de la sonde de la fréquence ω' vers ω (la composante à ω' de la sonde vient créer une polarisation à la fréquence ω). Si ω se trouve également dans le spectre de la sonde, ceci se traduit par des oscillations à la fréquence différence dans les expériences pompe-sonde résolues spectralement à délais positifs. A droite, nous représentons de façon similaire un effet de polarisation perturbée dû à un changement de fréquence. La pompe ne vient pas créer une cohérence mais modifier une cohérence existante excitée par une première impulsion sonde à la fréquence ω' : pour les instants positifs qui suivent la pompe, le changement de fréquence du à la pompe induit une polarisation à la fréquence ω est présente dans le milieu. Dans une expérience d'absorption résolue spectralement, le champ transmis est analysé spectralement 3.2 : le battement entre le champ émis par la polarisation à ω et les composantes spectrales de la sonde à cette même fréquence ω donnent lieu à des oscillations de cohérence (voir figure 3.6 page 49).*

3.4.1 Présentation

La fonction de Wigner d'une impulsion représentée par un champ électrique complexe $\mathcal{E}(t)$ est

$$W(t,\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dt' \; \mathcal{E}^{\star}(t + \frac{t'}{2})\mathcal{E}(t - \frac{t'}{2})e^{-i\omega t'}. \tag{3.38}$$

C'est une fonction qui représente l'impulsion suivant une variable temporelle t et une variable spectrale ω [85]. Elle rend compte des caractéristiques du champ $\mathcal{E}(t)$.[11] L'intensité temporelle et spectrale de l'impulsion considérée s'obtiennent respectivement par intégration sur les fréquences et sur le temps de la fonction $W(t,\omega)$. C'est une des façons de visualiser des impulsions au profil compliqué dans le plan temps-fréquence (t,ω).

Afin d'obtenir $\mathcal{R}^W(t,\omega)$, nous allons utiliser le même outil technique et nous définissons à partir de la fonction de réponse $\mathcal{R}(\omega,\omega')$ donnée à la section 3.3 page 43

$$\mathcal{R}^W(t,\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega'}{2\pi} \; \mathcal{R}(\omega + \frac{\omega'}{2},\omega - \frac{\omega'}{2})e^{-i\omega' t}. \tag{3.39}$$

Dans le cas stationnaire[12], $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ est une quantité indépendante de t qui vaut $\epsilon_0\chi^{(1)}(\omega)$. $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ généralise cette quantité dans le cas non-stationnaire, auquel cas elle dépend de la variable temporelle t.

$\mathcal{R}^W(t,\omega)$ s'exprime également à partir de $\mathcal{R}(t,t')$

$$\mathcal{R}^W(t,\omega) = \int_{0}^{\infty} dt' \; \mathcal{R}(t + \frac{t'}{2},t - \frac{t'}{2})e^{i\omega t'}. \tag{3.40}$$

Cette dernière équation est à rapprocher de l'équation 3.14 page 40 qui donne l'expression du spectre en fonction du temps.

3.4.2 Signal d'absorption intégré spectralement

L'intérêt de cette définition 3.40 réside dans le fait de pouvoir exprimer simplement l'intensité transmise d'un champ incident à travers un milieu décrit par $\mathcal{R}(t,t')$ comme fonction de la fonction de Wigner $W_\tau(t,\omega)$,[13] définie à l'équation 3.38, du champ incident $\mathcal{E}_\tau(t) = \mathcal{E}(t-\tau)$ (cf. équation 2.47 page 29 et annexe D.6 page 111 qui traite ce calcul en détail). Le signal des expériences pompe-sonde intégrées spectralement s'exprime alors comme

$$S(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty}\int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega dt}{2\pi} W_\tau(t,\omega)\mathrm{Im}(\Delta\mathcal{R}^W(t,\omega)). \tag{3.41}$$

$\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$ apparaît comme une densité d'absorption dans le plan temps-fréquence. En particulier, l'intégration sur l'axe spectral donne (cf. équation D.12 page 112)

$$\int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi} \; \mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega)) = \mathrm{Im}(\mathcal{R}(t,t)) \tag{3.42}$$

11. La fonction de Wigner du champ complexe est toutefois indépendante de sa phase absolue. Cependant, la fonction de Wigner du champ réel fait intervenir un terme autour de la fréquence nulle qui dépend de la phase absolue. Ceci est en accord avec la relation 3.45 page 57 puisque de tels effets sont décrits par une corrélation entre fréquences positives et négatives.

12. cf. équation 3.18 page 44

13. On note $W_\tau(t,\omega) = W(t-\tau,\omega)$, la transformée de Wigner du champ $\mathcal{E}_\tau(t) = \mathcal{E}(t-\tau)$.

qui est proportionnel au carré du dipôle à l'instant t, c'est l'absorption intégrée. L'équation 3.41 page précédente est équivalente à l'équation 2.47 page 29; $\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$ rend donc aussi compte des effets de cohérence. Dans le cas où de tels effets sont présents, le calcul de $\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$ fait apparaître des oscillations observables à la figure 3.9. Cette équation généralise l'équation 2.53 page 29 et fait apparaître l'ensemble des expériences pompe-sonde intégrées spectralement à différentes fréquences centrales de sonde comme une convolution de $\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$ par la fonction de Wigner de l'impulsion sonde, c'est-à-dire une sorte de spectrogramme de la fonction de réponse.

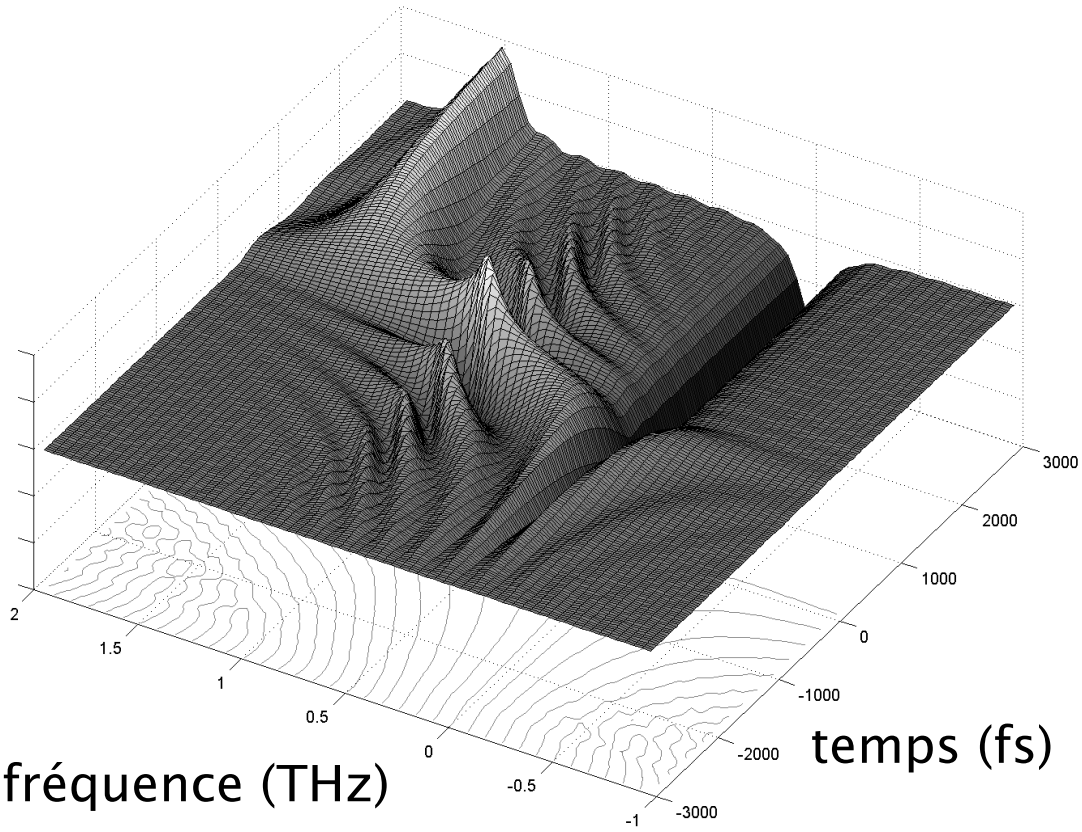

FIG. 3.9 : *Simulation de $Im(\Delta\mathcal{R}^W(t,\omega))$ dans le référentiel tournant dans le cas d'une raie lorentzienne possédant un temps de déphasage de 2 ps effectuant un changement de fréquence de $\Delta\nu = 1.5$ THz en 400 fs.*

3.4.3 Signal de détection homodyne

3.4.3.1 Fonction de Wigner d'une séquence de deux impulsions

La fonction de Wigner 3.38 ne dépend pas linéairement mais quadratiquement du champ qu'elle représente. Dans le cas d'un champ incident se composant d'une séquence de deux impulsions (éventuellement déphasées de $\Delta\phi$) et décalées d'un délai $\Delta\tau$, elle fait apparaître un terme croisé oscillant selon l'axe des fréquences ; ce terme reflète des interférences spectrales.

Dans le cas d'un champ incident

$$\mathcal{E}_\tau(t) + e^{i\Delta\phi}\mathcal{E}_{\tau+\Delta\tau}(t), \tag{3.43}$$

la fonction de Wigner du champ somme s'exprime en fonction de la fonction de Wigner $W_\tau(\omega,t)$ d'une unique impulsion :

$$W_\tau(\omega,t) + W_{\tau+\Delta\tau}(\omega,t) + 2\cos(\omega\Delta\tau + \Delta\phi)W_{\tau+\frac{\Delta\tau}{2}}(\omega,t). \tag{3.44}$$

Ce dernier terme croisé d'interférence spectrale qui est à l'origine des signaux que l'on cherche à détecter dans une expérience de détection homodyne autoréférencée, ou encore, les oscillations de la fonction de réponse spectro-temporelle sont reliées à la présence d'effets de cohérence.

a Oscillations de la réponse temps-fréquence Aux oscillations temporelles de la réponse temps-fréquence dans un cas exhibant des effets de cohérence (figure 3.9 page ci-contre) correspondent la présence de termes non-diagonaux non-nuls dans la réponse spectrale (équation D.10 page 112) :

$$\mathcal{R}(\omega,\omega') = \widetilde{\mathcal{R}_t^W}(\omega-\omega',\frac{\omega'+\omega}{2}), \tag{3.45}$$

où $\widetilde{\mathcal{R}_t^W}$est défini en D.9 page 112. Ces termes non-diagonaux sont révélés par la présence de deux fréquences différentes dans le spectre du champ incident. Les oscillations spectrales de la réponse temps-fréquence sont dues à une dynamique plus rapide que le temps de déphasage (équation D.12 page 112) et sont mises en évidence dans les expériences utilisant par exemples des séquences d'impulsion ou d'autres formes de sonde complexes. [14]

3.4.4 $\mathcal{R}^W(t,\omega)$: Précisions et utilisation

b Partie réelle et imaginaire de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ est complexe, cependant, la connaissance de sa seule partie imaginaire suffit pour calculer la transmission de tout champ incident. Cela signifie que $\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$ caractérise complètement la réponse linéaire non-stationnaire de l'échantillon. La partie réelle de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ contient donc une information redondante par rapport à l'information contenue dans la partie imaginaire. Comme dans les relations de Kramers-König qui relient la partie réelle et imaginaire de la susceptibilité linéaire $\chi^{(1)}(\omega)$, c'est la causalité de la fonction de réponse qui est à l'origine de la relation entre les propriétés d'indice et d'absorption décrites par la partie réelle et imaginaire de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$.

Effectivement, cette partie réelle se déduit bien de la partie imaginaire. La partie imaginaire de la fonction de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ s'obtient, d'après l'équation 3.40 page 55, par

$$\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega)) = \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \hat{\mathcal{R}}(t+\frac{t'}{2},t-\frac{t'}{2})e^{i\omega t'} \tag{3.46}$$

$$\text{où } \hat{\mathcal{R}}(t,t') \ = \frac{\mathcal{R}(t,t') - \mathcal{R}^\star(t',t)}{2i}. \tag{3.47}$$

14. La fonction de Wigner de la figure de la figure 3.9 page ci-contre montre par exemple les oscillations du signal pompe-sonde lorsque l'on utilise une sonde possédant une dérive de fréquence correspondant au changement de fréquence $\Delta\nu$.

Connaissant $\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$, on peut donc, par transformée de Fourier inverse, retrouver $\hat{\mathcal{R}}(t,t')$, supprimer sa partie non-causale $\mathcal{R}^\star(t',t)$ [15] et ainsi avoir accès à $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ complexe par une nouvelle transformée de Fourier directe.

c Utilisation Le principal avantage de la quantité $\mathrm{Im}(\mathcal{R}^W(t,\omega))$ est d'être une représentation temps-fréquence de la réponse **complète** du milieu non-stationnaire qui peut être utilisé comme un outil de calcul ou d'analyse et de visualisation. Son principal inconvénient réside cependant dans le fait de ne pas être relié directement à une quantité physique.

15. $\mathcal{R}^\star(t',t)$ a pour support le domaine $t < t'$, contrairement à $\mathcal{R}(t,t')$ qui, par causalité, ne prend des valeurs non nulles que pour $t > t'$.

Chapitre 4

Mise en œuvre expérimentale

Ce chapitre présente le montage et les techniques expérimentales que nous avons mis en place ou utilisés dans ce travail. A partir d'une source laser amplifiée Ti:Sa à 800 nm, nous obtenons une sonde dans l'infrarouge moyen autour de 5 μm (2000 cm^{-1}), ainsi qu'une impulsion de pompe à 400 nm (sections **4.1** et **4.2**). La section **4.3** donne les caractéristiques des échantillons de carboxymyoglobine que nous utilisons dans nos expériences. Les méthodes de détection différentielle (section **4.4**) ainsi que le dispositif interférométrique spécifique aux expériences de détection du champ émis (section **4.5**) sont ensuite décrites.

Afin d'améliorer le rapport signal à bruit de nos expériences, nous avons mis en place un montage différentiel, qui comprend la modulation haute fréquence (50 kHz) de l'impulsion de pompe pour la détection synchrone du signal ainsi que la détection d'une intensité de référence dans l'infrarouge.[1] Nos expériences sont capables de mesurer une variation du signal de 10^{-6}. L'interféromètre de notre montage a été stabilisé afin d'obtenir un contrôle précis du délai entre les deux impulsions nécessaires aux expériences de détection du champ émis. La phase relative des deux impulsions est contrôlée à quelques centièmes de radians.

4.1 Source laser

4.1.1 Source Amplifiée

Le montage expérimental est basé sur une source commerciale Coherent. Celle-ci délivre des impulsions à 800 nm, d'une durée d'environ 130 fs à un taux de répétition pouvant aller de quelques kHz jusqu'à 250 kHz. Nous avons utilisé cette source avec un taux de répétition de 100 kHz adapté à nos expériences. A un taux de répétition de 100 kHz, l'énergie délivrée est de 6-7 μJ par impulsion.[2]

Un oscillateur à modes bloqués (Vitesse, Coherent) délivre des impulsions à 800 nm, de quelques nJ et d'une durée d'environ 100 fs à un taux de répétition de 80 MHz. Cet oscillateur est pompé par un laser Nd:YAG doublé à 532 nm (Verdi 2 Watts, Coherent). Un dispositif acousto-optique (cavity-dumper) sélectionne les impulsions à injecter dans la cavité

1. La culture du laboratoire introduit un décalage spectral par rapport à la terminologie usuelle : nous qualifions le 800 nm de visible, et l'infrarouge moyen est appelé infrarouge.

2. Pour un taux de répétition de 200 kHz, la même source délivre 4 μJ.

d'un amplificateur régénératif (RegA, Coherent), le taux de répétition est alors abaissé à la cadence désirée. Le cristal de Saphir dopé au Titane (Ti:Sa) de l'amplificateur régénératif est également pompé à 532 nm (Verdi 10 Watt, Coherent). Les impulsions amplifiées sont ensuite extraites par le même modulateur acousto-optique avant d'être comprimées par un quadruple passage sur un réseau.

Pendant ce travail, cette source à pompage solide est venue remplacer une source basée sur le même amplificateur régénératif (Rega, Coherent) pompé par un laser Argon (Innova Coherent) plus puissant (15 W) mais plus instable. L'amplificateur était alors injecté par un oscillateur (Mira 900 Coherent), dont la longueur d'onde était accordable, contrairement à l'oscillateur Vitesse non accordable dont la cavité est scellée. Ce changement de l'oscillateur et du laser de pompe ont permis d'accroître la stabilité de la source amplifiée.

L'ensemble (oscillateur, laser de pompe, amplificateur régénératif) est placé sous une hotte à flux laminaire, dans une salle thermostatée.

4.1.2 Amplification paramétrique optique et génération d'infrarouge moyen

Un amplificateur paramétrique optique (OPA) est pompé par cette source amplifiée à 800 nm. La figure 4.1 page ci-contre en montre le premier étage d'amplification. Cet OPA a été réalisé par Emmanuel Péronne et Jean-François Lampin [86,87]. Il a été remonté au cours de ce travail à une hauteur plus faible pour une meilleure stabilité.

25 % de l'énergie fournie par l'amplificateur régénératif ($\sim$ 1 μJ) est prélevé pour engendrer un continuum spectral par automodulation de phase en focalisant (f=5 mm) dans une lame de saphir. La qualité du continuum obtenu permet de donner une mesure approximative de la qualité de la compression de l'impulsion délivrée par la source amplifiée. Ce continuum, théoriquement symétrique autour de 800 nm, s'étend jusque dans le proche infrarouge ($\sim$ 2 μm). Cette partie du continuum est amplifiée dans l'OPA.

Les 75 % d'énergie restants (quelques μJ) constituent le faisceau pompe de l'OPA.

Cet OPA comprend deux étages d'amplification, contenant chacun un cristal de β-borate de baryum (BBO) de 2 mm d'épaisseur, utilisé en configuration type II. Dans le premier étage d'amplification,[3] l'angle du cristal de BBO est réglé afin de sélectionner par accord de phase la partie du continuum spectral que l'on désire amplifier. Le second étage, identique, permet une nouvelle amplification du faisceau signal. L'OPA délivre un signal et un complémentaire dans l'infrarouge proche dont la somme des fréquences ω_s et ω_c est la fréquence du faisceau pompe $\omega_p = \omega_s + \omega_c$. Afin d'engendrer par différence de fréquences des longueurs d'onde dans l'infrarouge moyen autour de 5 μm ($\omega_{IR} = \omega_s - \omega_c$), les longueurs d'onde du signal et du complémentaire se trouvent respectivement autour de $\lambda_s = 1.3$ μm et $\lambda_c = 1.9$ μm.

Après utilisation dans le deuxième étage d'amplification, le faisceau pompe à 800 nm de l'OPA est ensuite réutilisé. Ce faisceau, doublé dans un troisième cristal de BBO d'épaisseur 2 mm utilisé en type II, fournit l'impulsion pompe (400 nm) de nos expériences.

Les faisceaux signal et complémentaire sont ensuite séparés et recombinés par des lames

3. Le réglage de la superposition du continuum avec la pompe s'effectue avec plus de facilité lorsque l'on superpose la partie rouge du continuum sur le faisceau pompe en utilisant un filtre supprimant les longueurs d'ondes visibles du continuum.

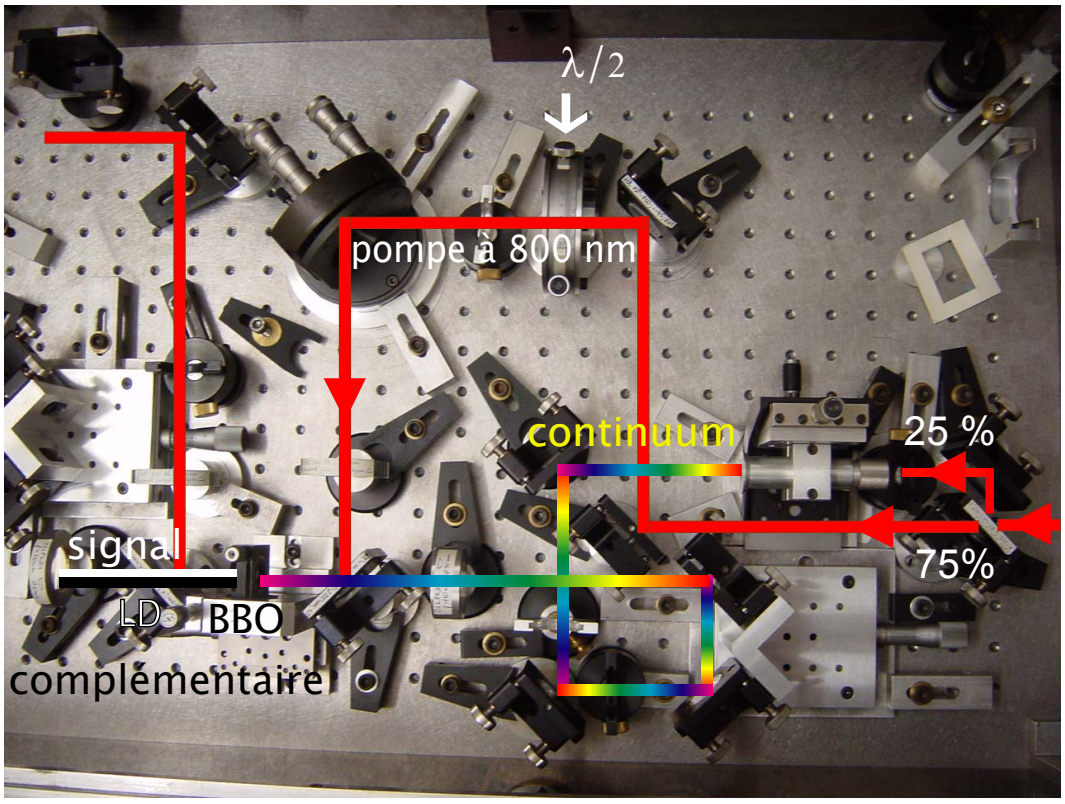

FIG. 4.1 : *Premier étage d'amplification de l'OPA. La partie infrarouge proche du continuum est amplifiée par une pompe à 800 nm dans un cristal BBO (type II) d'épaisseur 2 mm. Les polarisations du continuum et de la pompe sont croisées. L'angle du cristal sélectionne par accord de phase la plage spectrale du continuum amplifiée. La génération d'un faisceau complémentaire (idler) accompagne l'amplification du faisceau signal. A la sortie de ce premier étage d'amplification, les faisceaux signal et complémentaire sont séparés de la pompe par une lame dichroïque (LD) afin que signal et pompe soient superposés dans un second étage d'amplification identique.*

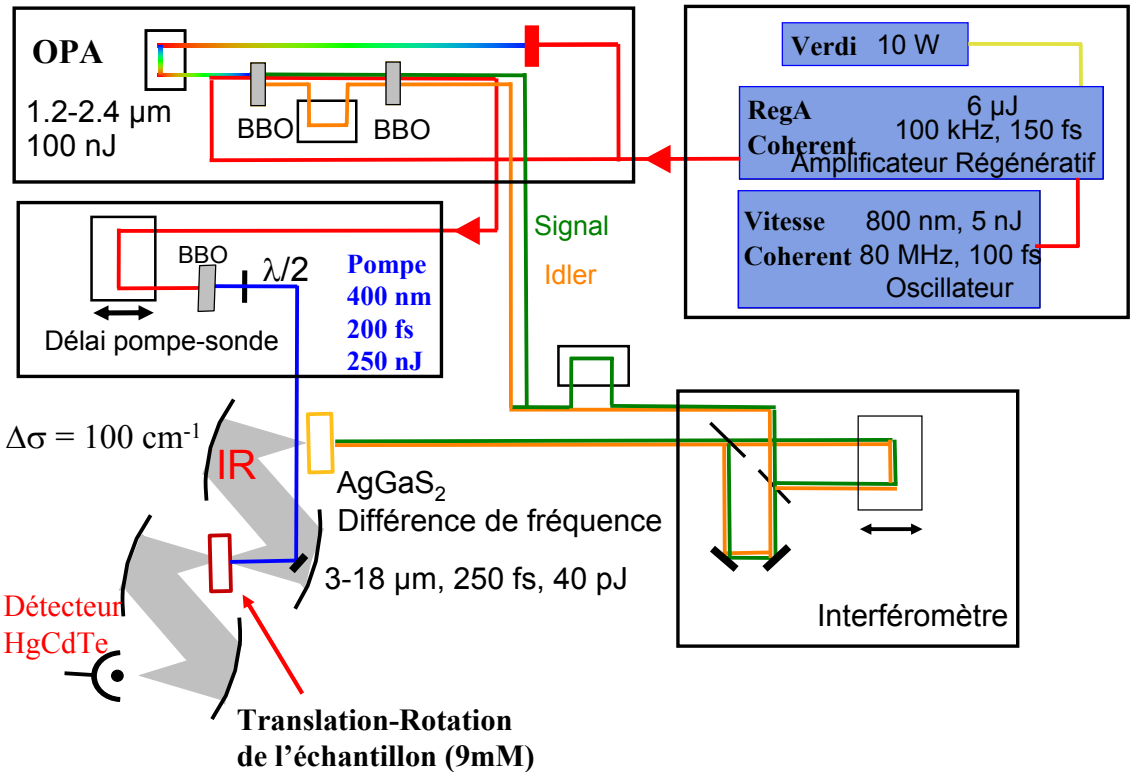

FIG. 4.2 : *Shéma général du montage expérimental. La source commerciale Coherent est composée d'un oscillateur Vitesse (800 nm, 80 MHz) qui injecte un amplificateur régénératif Rega. L'amplification est assurée par un cristal de Ti:Sa pompé par un Verdi 10W. Cet amplificateur délivre des impulsions à 800 nm (∼ 6 µJ, 100 kHz). Ces impulsions sont utilisées par un amplificateur paramétrique optique (OPA). La pompe résiduelle de cet OPA est doublée dans un cristal de BBO pour fournir l'impulsion à 400 nm qui déclenche la dissociation (faisceau pompe). L'OPA fournit un faisceau signal et un faisceau complémentaire («idler»). Après la superposition temporelle de ces deux impulsions, la différence de fréquence entre ses deux faisceaux est effectuée dans un cristal d'$AgGaS_2$ et fournit une impulsion dans l'infrarouge moyen avec laquelle nous allons sonder la vibration du CO. La divergence des faisceau infrarouge impose d'utiliser des miroirs paraboliques hors axe après le cristal d'$AgGaS_2$. L'intensité spectrale de ces impulsions infrarouges est mesurée par spectrométrie par transformée de Fourier (cf. paragraphe 4.2.1) qui utilise un interféromètre de type Mach-Zehnder.*

dichroïques pour assurer leur superposition temporelle et spatiale dans un cristal de sulfure d'Argent et de Gallium ($AgGaS_2$) d'épaisseur 1 mm, où il sont focalisés. Un processus de différence de fréquences engendre alors un faisceau dans l'infrarouge moyen ($\sim$ 5 μm) très divergent : des miroirs paraboliques traités or sont utilisés pour recollimater et focaliser les faisceaux infrarouges. L'OPA, ainsi que la génération d'infrarouge par différence de fréquences sont décrits dans la référence [87].

4.2 Caractérisation

4.2.1 Spectromètre Infrarouge

Le spectre de l'impulsion infrarouge engendrée est mesuré par interférométrie temporelle par transformée de Fourier. La divergence des faisceaux obtenus après la génération d'infrarouge rendant délicate la réalisation d'un interféromètre dans ce domaine de longueur d'onde, l'interféromètre de type Mach-Zender que nous utilisons (cf. figure 4.9 page 75) se situe donc dans le domaine infrarouge proche avant la génération d'infrarouge moyen. Il passe donc dans chaque bras de l'interféromètre un couple de faisceaux signal-complémentaire.

Un moteur pas-à-pas contrôle le délai τ entre les deux répliques du champ à caractériser et permet l'acquisition d'un interférogramme. La partie oscillante de cet interférogramme est l'autocorrélation $A(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} dt\ E(t)E(t-\tau)$ du champ E infrarouge. Elle est aussi le produit de convolution entre $E(-t)$ et $E(t)$; sa transformée de Fourier $E^\star(\omega)E(\omega)$ fournit la densité spectrale d'énergie du champ infrarouge (cf. figure 4.3). Nous obtenons typiquement des spectres d'une largeur à mi-hauteur de $\Delta\sigma = 100$ cm^{-1} (3 THz).

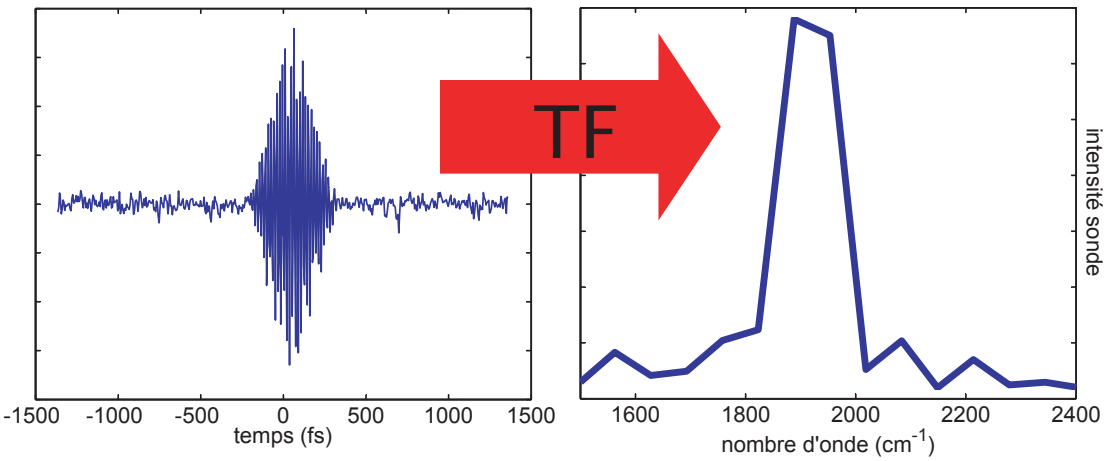

FIG. 4.3 : *Spectromètre par transformée de Fourier. A gauche : interférogramme mesurant l'autocorrélation du champ sonde obtenu par différence de fréquences dans un cristal de sulfure d'Argent et de Gallium. A droite : transformée de Fourier de l'interférogramme donnant le spectre de l'impulsion sonde autour de 2000 cm^{-1} (5 μm). La transformée de Fourier est tronquée autour de la fréquence centrale de la sonde.*

Positionner, comme nous le faisons, un interféromètre avant le processus non-linéaire qui engendre l'impulsion à caractériser impose de prendre des précautions. Par rapport à l'interférogramme qui serait obtenu en plaçant l'interféromètre après la génération, des termes supplémentaires indésirables apparaissent. Il se manifestent lorsque les impulsions des deux bras se recouvrent temporellement et résultent d'une émission provenant d'une interaction *croisée* entre les deux voies de l'interféromètre.

Dans notre montage, c'est la superposition des impulsions signal et complémentaire provenant de bras différents de l'interféromètre qui engendre une émission infrarouge parasite. L'utilisation d'une géométrie dans laquelle les deux faisceaux issus de l'interféromètre ne sont pas colinéaires permet de s'affranchir de ce terme croisé [88, 89]. Dans une telle géométrie, l'infrarouge émis par l'interaction croisée du signal et du complémentaire des deux voies de l'interféromètre est émis dans une direction différente que l'infrarouge engendré par le signal et complémentaire provenant d'une même voie. Malgré l'angle qu'ils font entre eux, les faisceaux infrarouges provenant chacun d'une même voie de l'interféromètre sont assez divergents pour posséder un recouvrement spatial qui permet l'interférence. C'est dans cette configuration non-colinéaire que notre interféromètre est utilisé.

4.2.2 Corrélation entre impulsion visible et impulsion infrarouge

La corrélation de l'impulsion sonde infrarouge avec l'impulsion pompe à 400 nm est mesurée dans un échantillon d'arséniure de Gallium. Dans ce matériau, l'impulsion visible excite instantanément les électrons de la bande de valence à la bande de conduction. Le faisceau infrarouge est alors absorbé par les électrons de la bande de conduction. Cette absorption est dite absorption par porteurs libres. La transmission infrarouge en fonction du délai pompe-sonde est montrée sur la figure 4.4 page suivante. La dérivée de ce signal est la convolution des intensités infrarouge et visible. En supposant, pour ces deux impulsions, une forme gaussienne et des durées identiques, nous obtenons une estimation de la durée de nos impulsions. Nous obtenons des impulsions qui sont généralement un peu plus longues que la limite par transformée de Fourier : durée à mi-hauteur d'environ 250 fs. Une impulsion de largeur $\Delta\sigma = 100$ cm^{-1} (3 THz) limitée par transformée de Fourier posséderait une durée de 150 fs (cf. page 105).

Ce signal d'absorption de porteurs libres dans l'arséniure de Gallium, relativement facile à mesurer, est une expérience *référence* que nous utilisons pour les réglages et la calibration des expériences pompe-sonde dans la carboxymyoglobine. Pour se placer dans les conditions les plus proches possibles de celles de ces expériences, l'arséniure de Gallium est placé derrière une fenêtre de fluorure de Calcium (CaF_2) comme la solution de carboxymyoglobine (cf. 4.3.1 page ci-contre). Le signal d'absorption de porteurs libres nous sert en particulier à

- affiner la superposition spatiale entre le faisceau pompe et sonde,
- définir le délai pompe-sonde nul,
- normaliser l'amplitude des signaux pompe-sonde obtenus dans différentes expériences, [4]
- régler la phase du chopper synchronisé au laser (cf. section 4.4.1 page 68),

4. Nous ne tenons pas compte dans cette normalisation de la variation de l'absorption avec la longueur d'onde infrarouge incidente. Cette absorption de porteurs libres varie avec λ^3 où λ est la longueur d'onde de la sonde infrarouge incidente.

– régler la phase de la détection synchrone.

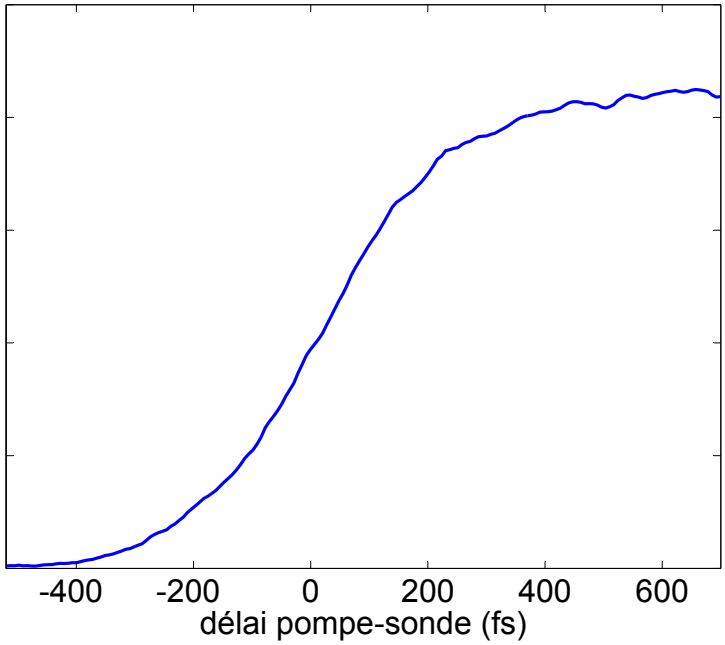

FIG. 4.4 : *Signal d'absorption de porteurs libres dans l'arséniure de Gallium et servant à l'obtention de la corrélation entre l'impulsion et l'impulsion sonde*

4.3 Échantillons de carboxymyoglobine

4.3.1 Préparation de l'échantillon

Nous avons utilisé de la myoglobine de cheval (Sigma). Dans un tampon de TrisHCl (PA = 7.6), la myoglobine est réduite dans un excès de dithionite : le Fer de l'hème passe de la forme oxydée Fe(III) (ou Fe^{3+}) à la forme réduite (II) (ou Fe^{2+}) et provoque un changement de la couleur brune de la metmyoglobine à celle rouge de la déoxymyoglobine. Sous cette forme réduite, le Fer peut alors lier un ligand, en particulier l'oxygène de l'air, ce que nous devons éviter; c'est pourquoi l'échantillon est préalablement dégazé et maintenu sous atmosphère d'Argon. La déoxymyoglobine obtenue est alors exposée à un flux de CO pendant environ une dizaine de minutes. La solution obtenue est 9 millimolaire en carboxymyoglobine.[5] Un échantillon consiste en quelques dizaines de μL de cette solution placée, avec une rondelle intercalaire de 25 μm, entre deux fenêtres de CaF_2 d'épaisseur 2 mm et de diamètre 25 mm. La manipulation s'effectue à l'air, rapidement, pour éviter une contamination par l'oxygène. Aucun contact avec l'air n'est toléré dans la préparation d'échantillons de déoxymyoglobine qui ont été préparés dans un sac à gants sous atmosphère d'Azote.

5. C'est une concentration assez forte; pour des concentrations supérieures, l'échantillon est trop visqueux.

L'échantillon est caractérisé par son spectre d'absorption visible (enregistré sur un spectromètre Perkin-Elmer) qui permet de distinguer les formes deoxy-, et carboxy- de la myoglobine (voir figure 1.4 page 9).

Après préparation, et entre les différentes expériences, la carboxymyoglobine est conservée au réfrigérateur. Les expériences se déroulent à température ambiante.

4.3.2 Dissociation de la liaison Fe-CO par l'impulsion pompe

Afin de pouvoir illuminer une nouvelle partie de l'échantillon à chaque nouveau tir laser, l'échantillon est positionné sur un porte-échantillon mobile qui permet de le déplacer.

L'échantillon possède une forte densité optique dans le domaine visible et absorbe la presque totalité de l'énergie de l'impulsion pompe. Dans le cas du ligand CO, l'absorption d'un photon provoque la dissociation du CO (le rendement quantique est de 1). Approximativement 25 % des molécules du volume sondé par le faisceau sonde sont dissociées à chaque tir laser. Après la dissociation induite par la pompe, le CO s'échappe de la myoglobine et une autre molécule de CO revient se fixer en quelques ms.[6] Afin de pouvoir obtenir le maximum de signal possible, il faut s'assurer que chaque tir laser *voit* un échantillon frais dans lequel toutes les molécules de myoglobine contiennent un CO. Nous déplaçons donc l'échantillon pour renouveler les molécules de myoglobine entre chaque tir. La taille de la tache focale du faisceau pompe (diamètre 100 μm) ainsi que le taux de répétition du laser déterminent la vitesse minimale de ce déplacement. Nous avons utilisé un taux de répétition du laser de 100 kHz (au lieu de 250 kHz auquel il peut fonctionner) afin de diminuer cette vitesse de déplacement minimum. 10 μs séparent chaque tir laser. Cette vitesse correspond, pour un échantillon placé sur une couronne de 17 mm de diamètre, à près de 11000 tours/minute.

Le déplacement choisi est un mouvement de rotation : les molécules présentes sous le faisceau ont donc déjà été utilisées au *tour précédent*. Il faut s'assurer, pour pouvoir présenter au laser des molécules ayant eu le temps de revenir à l'équilibre (à la forme MbCO) entre deux tirs consécutifs, que le temps que met l'échantillon pour effectuer un tour est supérieur au temps de recombinaison du CO. Le support et les fenêtres utilisés fixe le diamètre du cercle ($\approx$ 17 mm) sur lequel se déplace l'échantillon et la vitesse minimale de déplacement imposée par le laser n'est pas compatible avec le temps de recombinaison milliseconde du CO. Nous avons donc utilisé, en plus du mouvement de rotation, un mouvement de translation qui permet d'utiliser d'autres zones de l'échantillon. Pour un moteur tournant à 10000 tours/minute, ceci correspond à une vitesse de translation de 2 cm par seconde.

Le système de rotation-translation a été réalisé au laboratoire (cf. figure 4.5 page suivante) : une courroie entraîne la rotation de l'échantillon et le mouvement de translation est imposé au porte-échantillon par une came.[7]

Nous avons utilisé une modulation du faisceau pompe afin d'effectuer une détection synchrone dans un domaine haute fréquence (cf. section 4.4 page ci-contre), à 50 kHz, la moitié du taux de répétition du laser. Ceci permet de réduire la contrainte sur la vitesse minimale à donner à l'échantillon que l'on peut diviser par deux. Toutefois, une telle modulation ajoute

6. Il n'y a pas de recombinaison géminée pour le CO après photodissociation, contrairement aux autres ligands NO et O_2 dont une fraction non négligeable recombine rapidement sans sortir de la protéine [30].

7. ou un excentrique pour pouvoir obtenir un mouvement plus souple et diminuer ainsi les vibrations engendrées par le mouvement du moteur.

une ligne de base dans la mesure différentielle. La quantité différentielle mesurée n'est plus $S_{\text{Avec Pompe}} - S_{\text{Sans Pompe}}$ mais $S_{\text{Avec Pompe}} - S_{\text{base}}$, où S_{base} est l'absorption d'un échantillon partiellement dissocié.

La faible épaisseur des échantillons que nous utilisons rend faible l'absorption du faisceau infrarouge par l'eau de la solution de carboxymyoglobine, qui ne limite pas l'intensité d'infrarouge transmise disponible pour nos mesures.

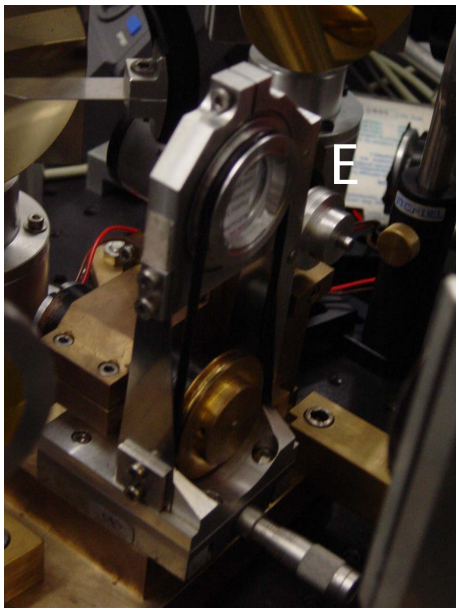

FIG. 4.5 : *Moteur porte-échantillon, le mouvement de rotation de l'échantillon est imprimé à l'échantillon par une courroie. On distingue à droite l'excentrique E qui permet de donner au moteur son mouvement de rotation.*

4.4 Détection différentielle

Les signaux que nous cherchons à détecter dans les expériences de transmission différentielle sont faibles, ce sont des variations de l'ordre de 10^{-4}–10^{-5} de l'intensité infrarouge. Ceci est dû au fait que nous mesurons l'intensité transmise (intégrée spectralement) d'une sonde spectralement large ($\Delta\sigma =$ 100 cm^{-1}, voir figure 4.3) vis-à-vis d'une raie fine $\Delta\sigma = 12$ cm^{-1} (voir figure 1.5). Initialement, nous utilisions une modulation du faisceau à 2 kHz par un hacheur mécanique et une détection synchrone qui nous permettait d'obtenir un bruit de l'ordre de 10^{-4}. Dans cette section, nous présentons les modifications apportées à la détection infrarouge au cours de ce travail. Ces changements ont permis d'améliorer significativement (d'un facteur 30) le rapport signal à bruit dans les expériences de détection différentielle. Ces améliorations ont consisté en la mise en place d'un hacheur rapide à 50 kHz et en la détection d'une intensité de référence dans l'infrarouge. Ces modifications profitent à toutes les expériences différentielles réalisées avec ce montage expérimental. Actuellement, le bruit sur nos signaux est de l'ordre de quelques 10^{-6}.

4.4.1 Hacheur mécanique rapide

Le fort taux de répétition de notre laser (100 kHz) permet de moduler l'intensité du faisceau pompe à 50 kHz. Cette technique de modulation haute fréquence est plus simple à mettre en place qu'une détection tir-à-tir. De plus, cette dernière technique est surtout adaptée pour les systèmes possédant un taux de répétition plus faible (kHz) que le nôtre (100 kHz) où le rapport cyclique est beaucoup plus faible que dans notre cas (temps de réponse du détecteur de quelques μs pour un intervalle de temps de 10 μs entre chaque tir laser) et où la réjection de bruit espérée est plus importante.

Le grand rapport cyclique entre le temps de réponse du détecteur ($\sim \mu$s) et l'intervalle de temps séparant deux tirs laser (10 μs) rendent cette dernière technique beaucoup moins avantageuse au niveau de la réjection du bruit que pour les systèmes laser possédant un taux de répétition plus faible (kHz).

Avant d'envisager la mise en place de ce hacheur rapide, nous avons mesuré le spectre du bruit pour nous assurer que le domaine spectral autour de 50 kHz n'est pas bruité. Nous avons effectué des mesures du spectre du signal envoyé à la détection synchrone. L'acquisition du spectre de ce signal dans les conditions de détection expérimentales dans lesquelles le moteur de l'échantillon est en mouvement (rotation et translation, cf. section 4.3.2) est effectuée sur un oscilloscope numérique qui nous permet d'effectuer la transformée de Fourier de cette acquisition.

Ceci nous a permis de nous placer dans les conditions expérimentales pour lesquelles le bruit est minimal à 50 kHz. En particulier, nous avons choisi la vitesse de rotation du moteur (cf. section 4.3.2) la mieux adaptée à une détection à 50 kHz.

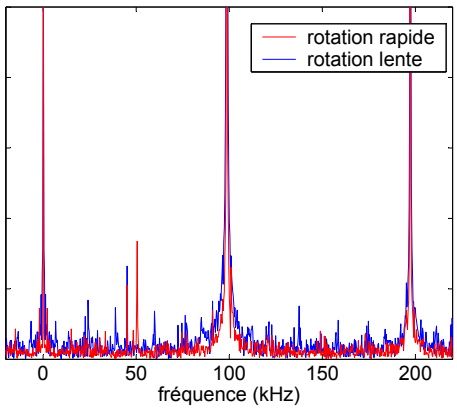

FIG. 4.6 : *Spectre du train d'impulsion laser passant à travers l'échantillon en mouvement pour différentes vitesses de rotation de l'échantillon. Le fait que les pics observés autour de 50 kHz ne se retrouvent pas à des multiples entiers de 100 kHz indiquent qu'il ne s'agit pas d'une modulation du laser mais d'un effet direct sur la détection.*

Les hacheurs mécaniques commerciaux ne permettent pas d'atteindre une fréquence de modulation de 50 kHz.[8] Un hacheur mécanique rapide et synchronisé sur le laser a donc

8. Nous n'avons pas envisagé l'utilisation d'un modulateur acousto-optique qui présente l'inconvénient d'une grande épaisseur de milieu optique dispersant l'impulsion de pompe.

été fabriqué au laboratoire. 360 fentes de largeur 400 μm ont été découpées dans une roue montée sur un moteur. Le faisceau pompe à moduler est focalisé (tache focale de ~ 100 μm) pour pouvoir passer à travers ces fentes et obtenir ainsi une modulation à 100%.

La synchronisation du hacheur sur le laser est réalisée à l'aide d'un microcontrôleur (DSP Motorola DSP56F807) commandant le moteur du chopper. Le DSP reçoit un signal de synchronisation issu du laser ainsi qu'un signal de contrôle provenant d'une LED modulée par le hacheur. Un algorithme de type PID est implémenté dans le DSP et permet de réaliser l'asservissement en phase du hacheur sur le laser (cet algorithme fait intervenir trois différents gains ajustables dits proportionnel, intégral et dérivé dans la boucle de rétroaction). Il reste à l'utilisateur à régler la phase relative de ces deux signaux. Ce paramètre est communiqué en cours de fonctionnement au DSP par l'intermédiaire d'un port RS232. Cette phase est fixée à l'aide du signal pompe-sonde obtenu dans l'arséniure de Gallium (cf. section 4.2.2 page 64). La mécanique de ce hacheur rapide a été réalisée par Marcel Bierry (LOB) et l'ensemble du dispositif de synchronisation est le fruit du travail de Xavier Solinas (LOB).

4.4.2 Détecteurs infrarouges

Le faisceau infrarouge produit est détecté à l'aide de détecteurs HgCdTe[9] (Judson) refroidis à l'azote liquide (77K) (cf. figure 4.8). La surface de ces détecteurs sur laquelle le faisceau infrarouge est focalisé est choisie petite (100 μm^2) afin de réduire au maximum le bruit qui est proportionnel à la surface de détection. Ils sont munis d'une fenêtre en Germanium qui absorbe les radiations infrarouges proches et sont sensibles dans la gamme 2-16 μm. Ils détectent cependant le faisceau complémentaire se situant à ~ 1.9 μm. Un filtre supplémentaire (Spectrogon) éliminant ce faisceau complémentaire est mis en place de sorte que le détecteur ne soit sensible qu'à l'infrarouge moyen autour de 5 μm.

Le signal provenant des détecteurs est amplifié par un pré-amplificateur à gain variable ($\times$ 100 à 1000). Le temps de réponse de l'ensemble détecteur–pré-amplificateur est de quelques μs. Ce signal amplifié alimente l'amplificateur à détection synchrone (EGG) qui filtre ce signal à la fréquence de modulation du hacheur mécanique avant de le démoduler. La détection synchrone est utilisée avec un temps d'intégration de 300 ms.

4.4.3 Détection utilisant une référence

Deux détecteurs HgCdTe sont utilisés pour mesurer à la fois l'intensité transmise à travers l'échantillon et une intensité de référence prélevée avant l'échantillon à l'aide d'une lame en séléniure de Zinc (voir figure 4.8). Cette intensité est ensuite soustraite à l'intensité transmise afin de supprimer le bruit dû aux fluctuations du laser. Afin de réaliser une mesure différentielle la plus précise possible, nous devons posséder deux détecteurs ayant des caractéristiques identiques.

En particulier, deux amplificateurs identiques ont été réalisés au laboratoire. Ils sont directement raccordés aux détecteurs afin que les signaux non amplifiés provenant du détecteur ne soient pas perturbés par des parasites.

9. ou MCT pour Mercury Cadmium Telluride.

Notre amplificateur à détection synchrone accepte deux signaux en entrée dont il va faire la différence. Les signaux amplifiés des deux détecteurs alimentent ces entrées. Nous avons pris soin d'utiliser l'intensité infrarouge la plus élevée possible afin de se placer *au-dessus* du bruit de l'électronique tout en restant dans un régime de réponse linéaire pour la détection, ce qui est crucial pour la qualité de la mesure différentielle.

4.4.3.1 Linéarité des détecteurs

Nous avons évalué la linéarité de notre détection en mesurant la dérivée de sa courbe de réponse à l'aide d'une technique de modulation. On fait parvenir sur le détecteur deux faisceaux, le premier est muni d'une densité variable, le second, de faible intensité constante, est modulé par un hacheur. La quantité mesurée par la détection synchrone à la fréquence du hacheur est alors proportionnelle à la dérivée de l'intensité mesurée au *point* fixé par l'intensité variable. On observe alors un plateau pour les faibles valeurs de l'intensité, c'est le régime linéaire de la détection, puis une chute correspondant à la saturation. Ceci permet d'évaluer assez précisément l'intensité de saturation.

4.4.3.2 Soustraction des intensités

Afin d'assurer une soustraction optimale des intensités, il faut corriger la différence de retard introduite par l'amplification électronique du signal de chaque détecteur et les câbles coaxiaux. Pour cela, une capacité est introduite au niveau d'un des deux pré-amplificateurs.

Puisque nous utilisons une détection synchrone, il n'est pas crucial que les deux détecteurs aient exactement la même fonction de réponse, il suffit qu'ils soient identiques sur bande spectrale étroite[10] autour de la fréquence de modulation. S'il existe une différence dans la phase des deux voies (à la fréquence de détection), on ne peut pas exactement annuler le signal en l'absence de pompe après soustraction en faisant varier uniquement l'intensité d'une des deux voies. L'erreur résiduelle est matérialisée par un cercle dans le plan de Fresnel représenté figure 4.7 page ci-contre. En modulant les intensités incidentes sur les détecteurs comme expliqué au paragraphe suivant, nous minimisons le rayon de ce cercle. La valeur de capacité qui convient pour compenser cette différence de phase est donc celle qui permet d'annuler le rayon minimal. Une amplification à détection synchrone à phase double (*dual-phase*) facilite le réglage de cette phase puisqu'elle mesure directement ce rayon. Dans le cas où les fonctions de réponse des deux détecteurs sont les mêmes, le réglage effectué est valide pour toutes les fréquences de détection. Dans le cas contraire, il doit être réajusté lorsque l'on change de fréquence de détection.

Il faudrait pouvoir effectuer l'annulation du signal après soustraction à la fréquence de modulation du faisceau pompe (50 kHz). En pratique, il faudrait pouvoir moduler l'infrarouge arrivant sur les deux détecteurs à 50 kHz. Ceci nécessiterait, pour placer le hacheur, une focalisation qui n'existe pas sur le montage. L'annulation du signal entre les deux détecteurs est effectuée à 100 kHz à l'aide d'un polariseur sur l'intensité transmise, ce polariseur permettant un réglage plus fin que le gain d'intensité variable installé sur les pré-amplificateurs.

L'efficacité de la soustraction peut atteindre 5.10^{-3} après le réglage. En pratique, on observe une dérive de cette soustraction et la différence peut atteindre jusqu'à 5 % de l'in-

10. fixée par le temps d'intégration de la détection synchrone

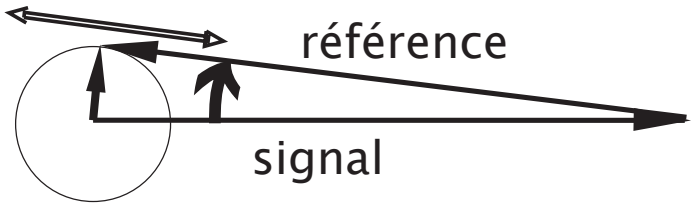

FIG. 4.7 : *Principe du réglage de la détection différentielle : Plan de Fresnel à la fréquence de détection. Une capacité est introduite sur l'une des deux voies pour minimiser le retard entre la voie référence et la voie signal. La capacité choisie correspond au retard qui rend le rayon minimal (ce rayon pouvant être facilement mesuré par une détection synchrone dual-phase). Nous pouvons donc nous assurer d'un réglage optimal à la fréquence de détection même pour des fonctions de réponse des deux détecteurs différentes (auquel cas ce réglage dépend de la fréquence de détection).*

tensité détectée. Cette dérive est peut-être due à une faible non-linéarité du détecteur, la soustraction correcte dépendant alors de l'intensité de fonctionnement qui peut varier suite à des dérives lentes de la source laser.

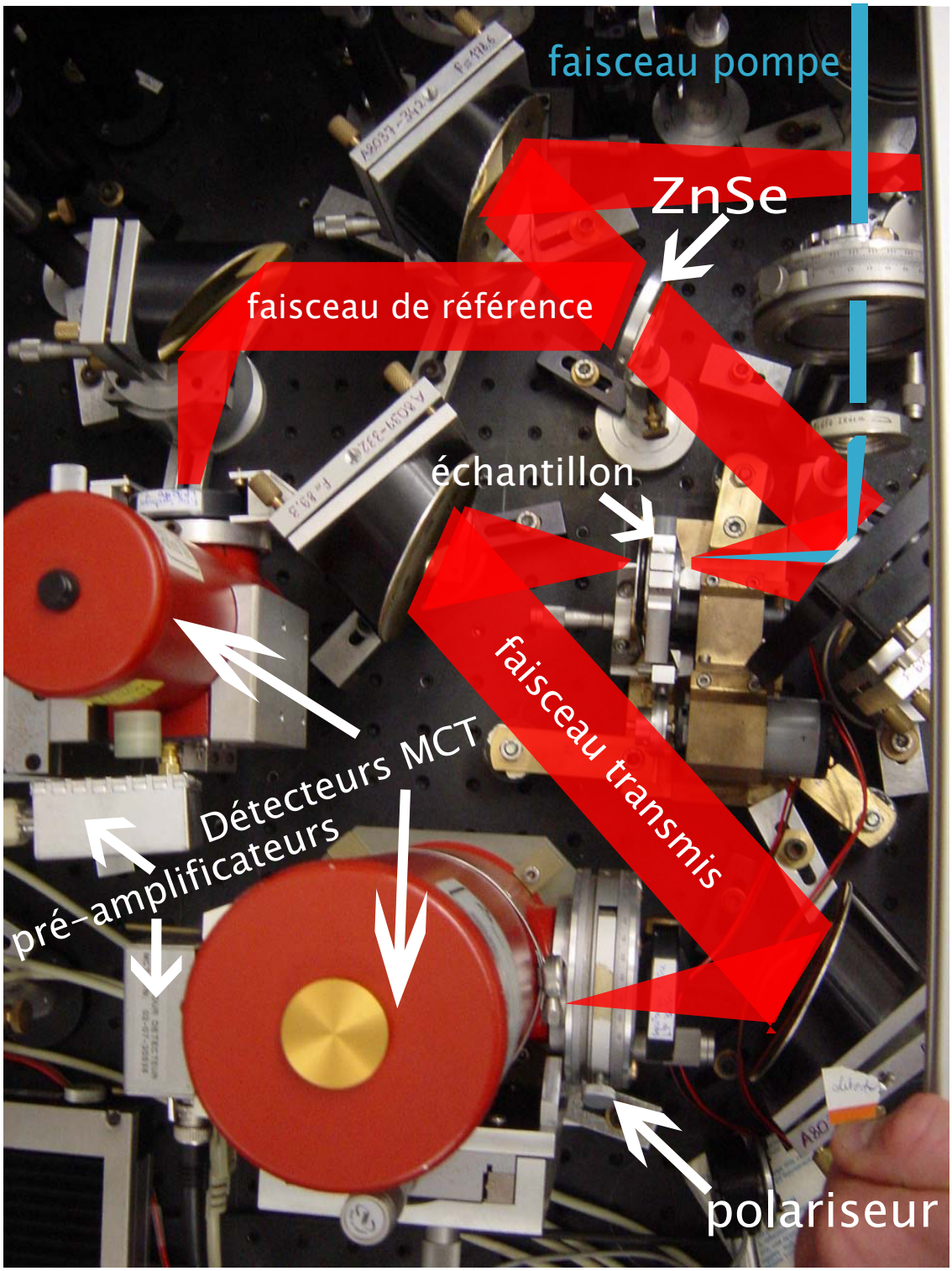

FIG. 4.8 : *Détection différentielle infrarouge. Une lame en séléniure de Zinc (ZnSe) prélève une partie de l'intensité infrarouge avant incidence sur l'échantillon pour nous permettre la mesure d'une intensité de référence. Un polariseur placé sur le faisceau transmis permet un réglage fin de l'intensité qui arrive sur le détecteur pour équilibrer cette intensité transmise mesurée avec l'intensité de référence. Une lame* $\frac{\lambda}{2}$ *à 400 nm nous permet le réglage de la polarisation entre la sonde infrarouge et le faisceau pompe visible. Des filtres placés devant les deux détecteurs sur le faisceau infrarouge permettent de s'affranchir de l'intensité du faisceau complémentaire.*

4.4.4 Superposition pompe-sonde

La résolution temporelle des expériences est dégradée par l'utilisation d'une pompe et d'une sonde non-colinéaires. Les miroirs traités or utilisés pour l'infrarouge ne peuvent pas être utilisés pour le faisceau à 400 nm sans pertes conséquentes d'intensité. Afin d'aménager une arrivée colinéaire des faisceaux pompe et sonde dans l'échantillon, nous utilisons une lame traitée anti-reflet à 400 nm de 2 mm de diamètre que nous insérons dans le faisceau infrarouge collimaté et sur laquelle le faisceau visible est réfléchi à 45° (figure 4.8 page précédente). Une lentille placée avant cette lame sur le trajet du faisceau pompe le focalise sur l'échantillon. Le faisceau infrarouge collimaté ayant un diamètre d'environ 50 mm, la lame réfléchissant la pompe ne diminue pas l'intensité infrarouge de façon significative.

4.5 Expérience de détection du champ émis

4.5.1 Configurations expérimentales

Nous détaillons ici les aspects expérimentaux des expériences de détection du champ émis décrites dans la section 1.2 page 12. Nous énumérons différentes configurations envisagées pour effectuer une détection homodyne à l'aide d'une impulsion infrarouge de référence avant de présenter la configuration que nous avons choisie au 4.5.1.4.

Notons que nous utilisons ici le terme référence (impulsion de référence) pour désigner l'impulsion qui sert à mesurer par interférence le champ infrarouge émis. Cette référence est à distinguer du faisceau de référence qui sert à s'affranchir des fluctuations du laser (cf. figure 4.8 page précédente).

4.5.1.1 Notre première approche

Dans une première configuration expérimentale, nous avons mis en place un montage dans le but de réaliser une expérience de détection homodyne référencée à l'aide de deux cristaux d'$AgGaS_2$, le premier cristal engendrant l'impulsion excitatrice et l'autre, placé après l'échantillon de carboxymyoglobine, engendrant l'impulsion de référence.

En pratique, ce montage n'a pas permis d'obtenir des résultats utilisables. Deux points importants rendent en effet cette solution difficilement praticable :

- Dans une telle configuration, les deux faisceaux suivent des chemins optiques différents, nuisant à la stabilité de la phase relative des deux impulsions qui est très importante pour la détection en phase du champ émis. Par ailleurs, chaque voie de l'interféromètre étant dédiée à une unique impulsion, la question de la caractérisation indépendante de ces deux impulsions pose des problèmes pratiques supplémentaires.
- La génération infrarouge dépend de façon cruciale de la superposition temporelle et spatiale des faisceaux signal et complémentaire. Il est difficile d'obtenir deux faisceaux infrarouges de mêmes propriétés, à partir d'un réglage unique pour deux couples signal-complémentaire empruntant des chemins optiques différents. Nous n'avons pas essayé de mettre en place des réglages différents pour les couples signal-complémentaires correspondant à chacune des deux impulsions (impulsion excitatrice et impulsion de référence).

4.5.1.2 Interférométrie dans l'infrarouge moyen

Une autre approche consiste à engendrer les faisceaux infrarouges dans un cristal unique, et ensuite réaliser un interféromètre dans l'infrarouge moyen, l'échantillon étant placé dans l'une de ces deux voies. Cette approche résout le problème qui se pose lorsque l'on veut engendrer deux impulsions infrarouges à partir d'un unique réglage sur le couple signal-complémentaire. Elle nécessite néanmoins la réalisation et l'alignement d'un interféromètre dans l'infrarouge moyen possédant un foyer pour y placer l'échantillon. Cet interféromètre étant difficile à aligner et devant être éventuellement asservi, nous n'avons pas essayé de mettre en place une telle configuration.

4.5.1.3 Utilisation d'un asservissement en phase passif

Puisqu'il n'est pas nécessaire de faire varier le délai entre les impulsions excitatrice et de référence pour pouvoir obtenir une information sur le champ émis (cf. section 2.6.2 page 30), et que la seule variation du délai pompe par rapport à une séquence d'impulsions est suffisante, il est naturel d'envisager un dispositif permettant un asservissement en phase passif. Un tel dispositif peut simplement consister en l'utilisation d'une réflexion comme impulsion de référence. Une relation de phase stable entre l'impulsion et sa réflexion est alors garantie.

Une telle approche est extrêmement attractive tant elle apporte une solution robuste et simple au problème de la stabilisation en phase de deux impulsions. Cependant, elle ne permet pas la sélection d'un terme d'interférence croisé (cf. annexe E page 113) comme l'interféromètre qui permet la modulation de l'une des deux voies (cf. section 4.5.2.1 page 76).

Un dernier argument pourrait cependant la mettre en avant : le terme pompe-sonde dû à l'impulsion de référence dépend quadratiquement de son champ alors que le terme d'interférence champ émis-référence (terme croisé) dépend linéairement de chaque champ. En jouant sur les intensités relatives des deux impulsions, par exemple en utilisant une impulsion excitatrice de plus forte intensité que l'impulsion de référence, on peut jouer sur le rapport entre le terme croisé et le terme pompe-sonde (cf. équation 2.66 page 32) pour mettre en avant le terme croisé. Nous n'avons pas essayé d'exploiter un tel type de configuration qui laisse un doute sur la nature du signal observé.

Des technique de type optique diffractive [90] ont également été envisagées. Cependant, le fait de devoir faire intervenir deux couples signal-complémentaire diffractés dans des directions différentes complique fortement cette approche.

4.5.1.4 Configuration retenue : détection d'un terme d'interférence champ émis-référence

Finalement, la configuration expérimentale que nous avons retenue pour cette expérience repose sur un interféromètre asservi utilisé dans une configuration colinéaire (cf. section 4.5.2.1) qui permet de contrôler précisément le délai entre les deux impulsions infrarouges identiques engendrées dans le même cristal (impulsion excitatrice et impulsion de référence) tout en permettant la détection d'un terme croisé par une modulation d'un des deux faisceaux (cf. section 4.5.2.2 page 79).

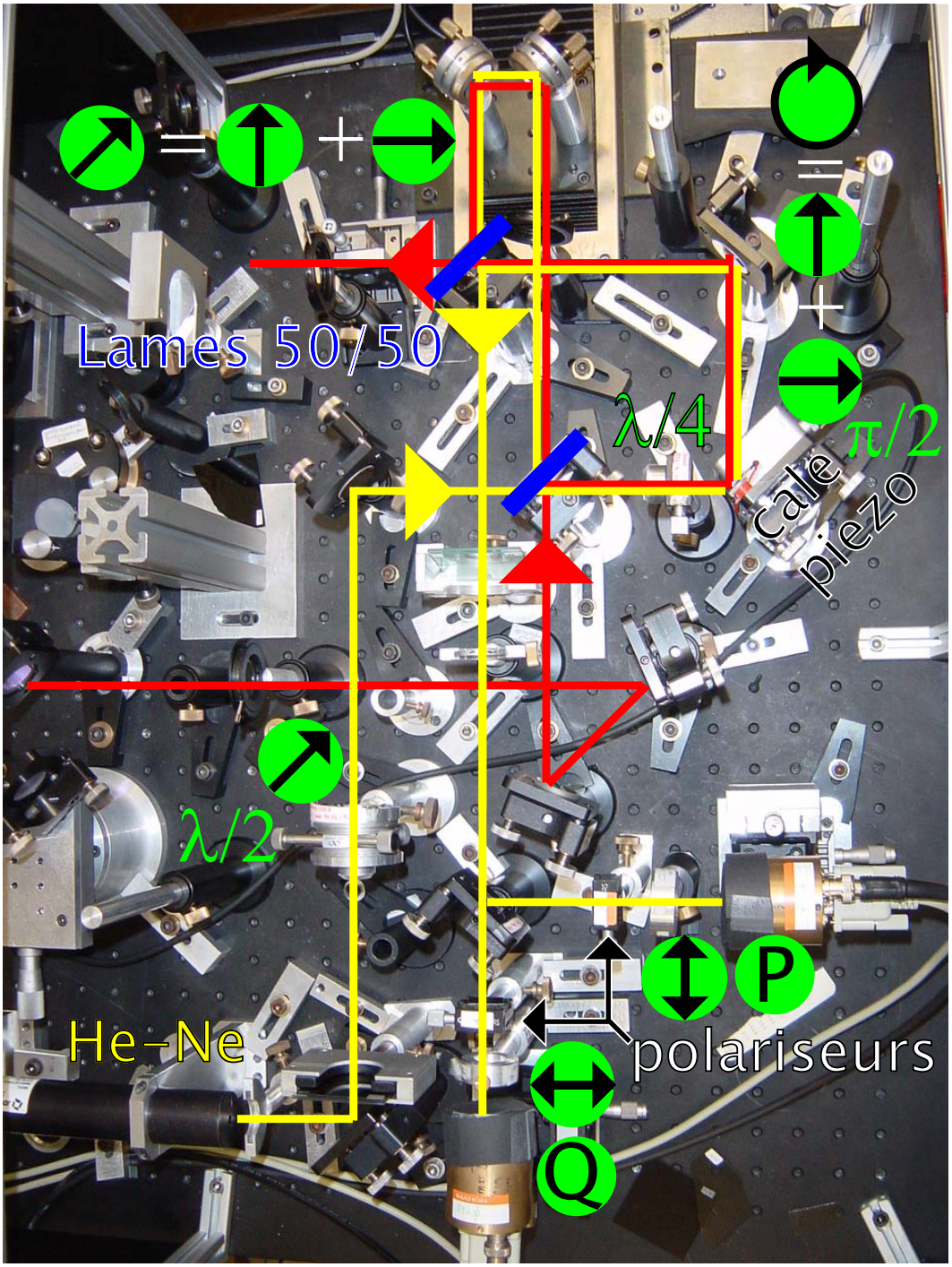

FIG. 4.9 : *Interféromètre de Mach-Zehnder. Cet interféromètre dans lequel se propagent les faisceaux signal et complémentaire nous sert de spectromètre infrarouge (section 4.2.1). Muni d'un système d'asservissement en phase, il nous permet également de contrôler précisément le délai entre l'impulsion excitatrice et l'impulsion de référence : la propagation d'un laser Hélium-Néon dans l'interféromètre donne deux systèmes de franges d'interférences en quadrature détectés par les deux détecteurs (Q et P). Ce signal interférométrique nous permet de contrôler une cale piézoélectrique qui vient corriger la longueur d'un des bras afin de maintenir le délai entre les deux voies de l'interféromètre constant (cf. section 4.5.2.1 page suivante).*

Cette configuration apporte plusieurs avantages :

- Les deux impulsions suivent le même chemin optique en dehors de l'interféromètre. Par rapport à une configuration dans laquelle l'impulsion de référence ne passe pas à travers l'échantillon, ceci apporte l'avantage de pouvoir contrôler la phase des deux impulsions sur l'ensemble du parcours des faisceaux à partir seulement du contrôle des délais dans l'interféromètre.
- Le délai entre les deux impulsions infrarouges est maintenu constant, et seul le délai entre la séquence d'impulsions et l'impulsion pompe est déplacé pendant l'expérience. Le contrôle de ce dernier délai est beaucoup moins critique pour la réalisation de l'expérience. Il est plus facile de réaliser l'asservissement du délai entre les deux impulsions infrarouges à une seule valeur que de devoir changer de point d'asservissement du délai de l'impulsion de référence tout au long de l'acquisition.
- Cette configuration possède aussi l'avantage de ne pas nécessiter deux générations infrarouges indépendantes puisque les deux impulsions peuvent être engendrées au même endroit du même cristal.

Cette configuration dans laquelle les deux impulsions passent à travers l'échantillon donne un signal possédant *a priori* trois contributions (cf. équation 2.66 page 32 et conjointement la figure 2.2 page 33) : deux contributions pompe-sonde et un terme croisé que nous cherchons à isoler. L'impulsion excitatrice se trouve à délais négatifs pour exciter le CO avant dissociation, elle n'engendre donc pas de signal pompe-sonde : il nous faut donc seulement isoler le terme interférométrique du signal pompe-sonde dû à l'impulsion de référence. Pour ceci, nous modulons le faisceau de l'impulsion excitatrice, le terme croisé dépend du champ excitateur alors que le signal pompe-sonde dû à l'impulsion de référence n'en dépend pas. Notre amplificateur à détection synchrone détecte alors à la fréquence somme de la fréquence de modulation de la pompe et de l'impulsion excitatrice. Lorsque le délai de cette dernière impulsion est négatif, nous ne sommes sensible qu'au terme croisé différentiel.

4.5.2 Réalisation

4.5.2.1 Interféromètre asservi par deux systèmes de franges en quadrature et un DSP

L'interféromètre de notre montage expérimental (cf. section 4.2.1 page 63) sert de spectromètre par transformée de Fourier pour la caractérisation du champ infrarouge. C'est ce même spectromètre qui est utilisé pour les expériences de détection du champ émis. Dans ces expériences, une voie de l'interféromètre produit l'impulsion excitatrice tandis que l'autre génère l'impulsion de référence (cf. section 1.2 page 12). Afin de contrôler, pendant des temps longs et de manière précise, le délai entre les deux impulsions nécessaires à la détection du champ émis, nous avons mis en place un asservissement sur notre interféromètre (cf. figure 4.9 page précédente).

a Nécessité de la stabilisation de la phase La figure 4.10 page suivante montre des interférogrammes successifs obtenus sans stabilisation de la phase et rend compte de la variation de délai entre les deux voies de l'interféromètre sur plusieurs acquisitions. Lorsqu'aucune

précaution particulière n'est prise, la fluctuation du délai peut atteindre jusqu'à une frange (à 5 μm), ce qui réduit très fortement le contraste si l'on se contente de moyenner toutes les acquisitions. Ceci n'est pas tolérable dans les expériences de détection du champ émis qui nécessitent l'enregistrement d'un signal interférométrique sur un temps d'acquisition long et donc un délai stable pendant toute la durée de l'acquisition.

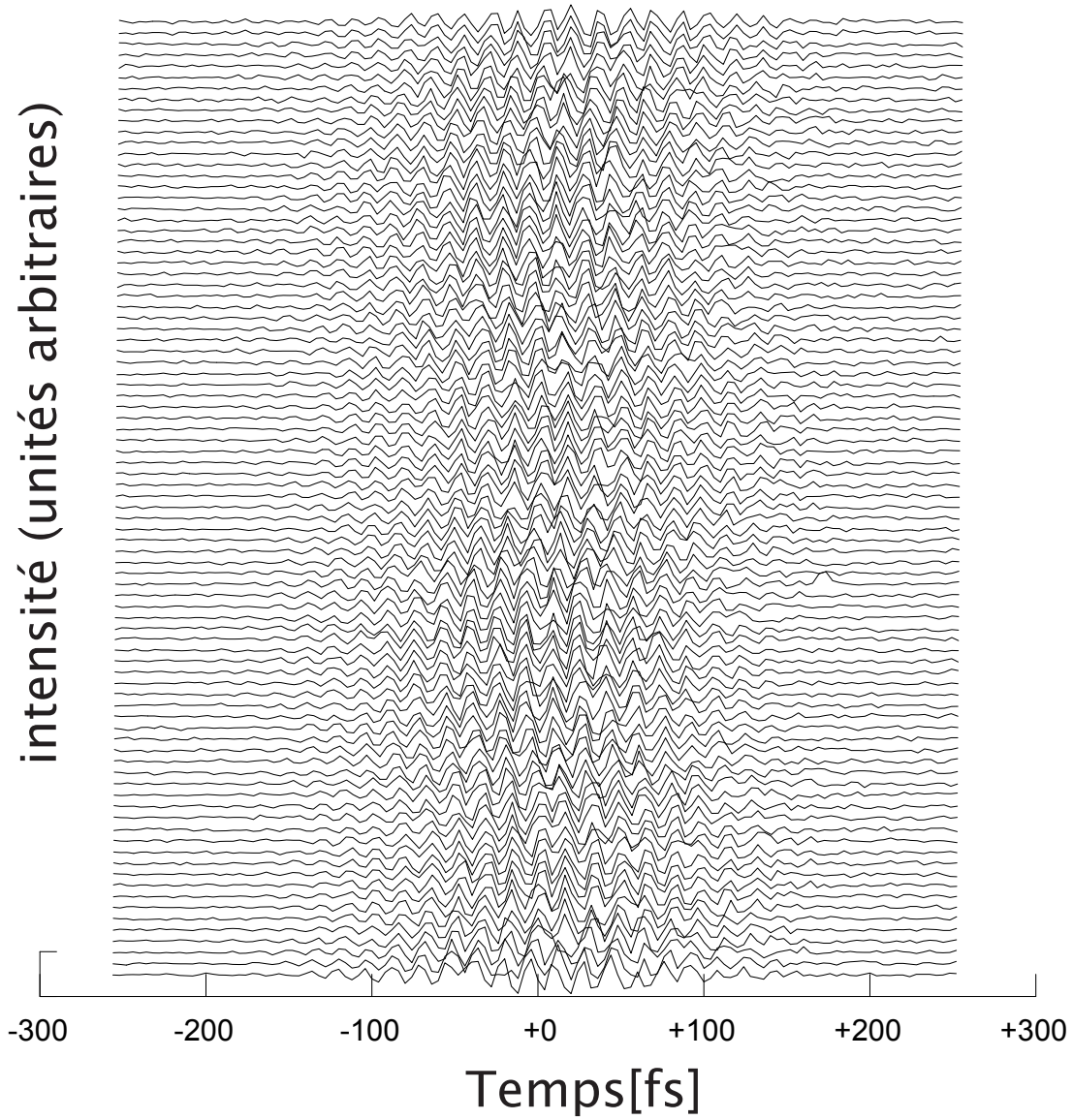

FIG. 4.10 : *Acquisitions successives d'interférogrammes sans asservissement de la phase entre l'impulsion excitatrice et l'impulsion de référence. Les décalages du délai entre les deux voies de l'interféromètre ne permettent pas d'effectuer des acquisitions sur une longue durée sans pertes de contraste. Ces interférogrammes devraient tous être identiques, aux fluctuations du laser près.*

Nous avons d'abord envisagé de recaler numériquement les interférogrammes. Cependant,

alors qu'une telle méthode est facilement envisageable pour des interférogrammes simples, ceci devient difficilement envisageable lorsque les signaux interférométriques sont complexes (possédant simultanément plusieurs fréquences). De plus, un recalage des interférogrammes ne peut pas corriger des fluctuations de phase intervenant pendant l'acquisition d'un unique interférogramme.

b Interféromètre asservi Nous ne décrirons que brièvement ce dispositif puisque ce système d'asservissement numérique développé au Laboratoire d'Optique et Biosciences est décrit en détail dans la thèse de Nadia Belabas [76].

Un laser Hélium-Néon continu polarisé (Melles Griot) se propage dans notre interféromètre (cf. figure 4.9 page 75) et nous fournit, par la détection des interférences entre les deux voies, une mesure des variations de phase entre les deux bras. Afin de garder cette différence de phase constante, le signal d'erreur par rapport à une valeur consigne de la phase est utilisé par un système numérique utilisant un DSP pour corriger la position de la cale piézoélectrique sur laquelle se trouve un des miroirs de l'interféromètre.

Dans un des bras de l'interféromètre, le laser Hélium-Néon possède une polarisation linéaire, dans l'autre bras, une lame $\frac{\lambda}{4}$ est insérée pour polariser circulairement le faisceau.[11] En décomposant cette polarisation suivant les axes neutres de la lame $\frac{\lambda}{4}$ représentés comme les axes verticaux et horizontaux dans les dessins de la figure 4.9 page 75, nous obtenons deux polarisations orthogonales déphasées de $\frac{\pi}{2}$. La même décomposition donne dans l'autre bras deux polarisations orthogonales en phase. Des polariseurs croisés, toujours disposés selon ces mêmes axes sont placés devant chacune des deux diodes de détection. Nous obtenons deux systèmes de franges d'interférences en quadrature qui permettent de réaliser un système de comptage de franges.

Deux avantages de ce système d'asservissement le rendent particulièrement intéressant pour notre expérience :

- Grâce à la détection de deux signaux en quadrature et d'un système numérique d'asservissement, il possède l'avantage de pouvoir se verrouiller sur n'importe quelle valeur de la phase, et non à certains multiples d'une longueur d'onde comme le serait le même système avec un unique système de franges. En particulier, il ne fixe pas, *a priori*, un pas d'échantillonage fixe multiple de la longueur d'onde du laser Hélium-Néon pour les expériences dans lesquelles le délai entre deux impulsions doit varier.
- De plus, contrairement à un dispositif d'asservissement analogique, il permet d'insérer dans notre interféromètre un hacheur mécanique. Ceci est possible tant que le temps caractéristique des fluctuations de phase de l'interféromètre reste plus long que la période de modulation du hacheur mécanique. L'acquisition par le DSP du signal d'interférence du laser Hélium-Néon peut s'effectuer de manière synchronisée avec le hacheur mécanique, de façon à n'enregistrer le signal que pendant que les deux voies ne sont pas obturées. Ceci est utile pour pouvoir détecter uniquement le terme interférentiel entre le champ émis et le champ de référence (cf. section 4.5.2.2 page ci-contre). Nous utilisons un hacheur mécanique à 4 kHz dans notre montage expérimental.

11. Les polarisations croisées du signal et du complémentaire sont superposées aux axes neutres de cette lame.

Les vibrations provenant des différents éléments mobiles de notre expérience : hacheurs mécaniques, moteur de l'échantillon, perturbent très fortement l'asservissement. Tous ces éléments ont été isolés mécaniquement pour pouvoir obtenir une stabilisation de l'ordre de 3.10^{-2} radians à 5 μm.[12]

4.5.2.2 Somme de fréquences pour la détection du terme d'interférence

Dans les expériences de détection homodyne autoréférencée, nous désirons détecter un terme croisé différentiel (cf. équation 2.66 page 32) correspondant au *déclin de la polarisation* perturbé par l'impulsion pompe. Ceci est réalisé à l'aide d'une double modulation du signal : la détection synchrone démodule le signal à la fréquence somme de la modulation de l'impulsion pompe (50 kHz) et de l'impulsion excitatrice ($\sim$ 4 kHz). Cette détection nécessite une référence à la somme de fréquences prenant en compte les variations de phase de ces deux modulations non synchronisées.

Nous avons développé au laboratoire une somme de fréquences numérique basée sur un DSP qui fournit un signal à la somme de fréquences désirée, utilisable par l'amplificateur à détection synchrone à partir des signaux de référence fournis par les deux modulateurs. L'opération analogique équivalente réalisée numériquement par le DSP est la suite des deux opérations suivantes :

- génération du produit des deux signaux à des fréquentes différentes ;
- filtrage du signal obtenu pour ne conserver qu'une des deux composantes spectrales différence ou somme de fréquences comme nous l'avons choisi.

Le DSP mesure la fréquence et la phase de chacun des signaux qui proviennent des deux hacheurs à 50 kHz (modulation du faisceau pompe) et à 4 kHz (modulation de l'impulsion excitatrice). La connaissance de la phase de ces deux signaux permet au DSP de calculer la phase théorique de la composante à la fréquence somme du produit des signaux. C'est sur cette valeur calculée de la phase que le DSP réalise l'asservissement d'un oscillateur local à la fréquence somme des fréquences d'entrée du DSP. Ce dernier signal est le signal de référence utilisé par l'amplificateur à détection synchrone.

12. correspondant à 20 unités DSP. L'unité DSP mesure l'écart-type de la différence de marche à 632 nm entre les bras de l'interféromètre en $\frac{\lambda_{HeNe}}{512}$.

Chapitre 5

Résultats expérimentaux et simulations

Nous présentons dans ce chapitre les résultats expérimentaux obtenus au cours de ce travail de thèse. Les expériences que nous présentons étudient la dynamique femtoseconde des premières étapes du transfert du ligand CO dans la myoglobine que nous avons introduite de façon générale au chapitre **1**.

Après dissociation de l'hème, le CO quitte la protéine. Pour rejoindre le solvant, il va passer par une série de sites intermédiaires à l'intérieur de la protéine. Au cours de la première étape, le ligand passe du Fer de l'hème au «docking site», un site proche se trouvant dans la poche de l'hème. Au cours de ce transfert, les caractéristiques vibrationnelles du ligand sont modifiées. Ces changements se traduisent par une variation de l'absorption infrarouge du CO qui renseigne sur l'évolution du ligand à l'intérieur de la poche de l'hème. C'est donc en suivant au cours du temps la variation de transmission d'une sonde infrarouge que nous observons le transfert du ligand de l'hème vers le «docking site».

Nos expériences pompe-sonde de transmission différentielle utilisent une impulsion de pompe visible à 400 nm qui déclenche la dissociation du ligand CO et des sondes infrarouges à différentes longueurs d'ondes dans le domaine d'absorption du ligand autour de 1900–2200 cm^{-1} (section **5.1**). Elles ont été réalisées à l'aide du montage expérimental et du système de détection infrarouge décrits dans le chapitre **4**.

Les résultats sont analysés (section **5.2**) à l'aide de simulations reproduisant la variation de l'absorption infrarouge due à la dissociation du ligand CO. Ces simulations se basent sur la fonction de réponse linéaire non-stationnaire décrite au chapitre **2** (équation 2.40).

L'analyse des résultats obtenus montre qu'au cours du transfert la force d'oscillateur du CO subit une décroissance sur une échelle de temps de 400 fs. A notre connaissance, cette diminution progressive de la force d'oscillateur n'a jamais été observée auparavant, ni dans la myoglobine, ni dans d'autres systèmes de type métaux carbonyles tels que par exemple $W(CO)_6$ [1]. Nous comparons ce résultat avec des expériences résolues spectralement précédemment réalisées par Anfinrud et al. [26,52]. Cette force d'oscillateur variable pourrait être utilisée comme un indicateur de la distance Fe-CO lors du processus de dissociation.

1. ou plus généralement M_mCO_n, où M désigne un métal, par exemple : Fe, W, Ru, Ni... [53].

5.1 Expériences pompe-sonde

5.1.1 Présentation

Nous avons suivi la dynamique du transfert du ligand CO dans la myoglobine dans le domaine infrarouge. Lors de son transfert de l'hème vers le «docking site», les propriétés vibrationnelles du ligand sont fortement modifiées. Il change de fréquence de résonance, de force d'oscillateur ainsi que d'orientation à l'intérieur de la poche de l'hème. Son temps de déphasage peut également varier. Au cours du transfert, le CO change de fréquence de résonance vibrationnelle et passe d'une fréquence centrale d'absorption de $\nu_{\mathrm{A}} = 1945$ cm^{-1} (58.35 THz ou 5.14 μm) à $\nu_{\mathrm{B}} = 2130$ cm^{-1} (63.9 THz ou 4.69 μm). Sa force d'oscillateur est aussi réduite d'un facteur 34 [26] entre ces deux états. L'utilisation de l'angle magique entre les polarisations des impulsions pompe et sonde permet de s'affranchir des effets de rotation du CO (section 2.3 page 20).

Nos expériences intégrées spectralement ne sont pas sensibles aux effets de polarisation perturbée (cf. chapitre 3, page 48). Ces effets, dus à un temps de cohérence du CO ($\sim$ 1ps) plus long que la résolution temporelle des expériences femtosecondes se manifestent à des délais pompe-sonde proches de zéro et empêchent une lecture claire du signal résolu spectralement. Contrairement aux expériences résolues spectralement, nous pouvons donc effectuer des observations à des temps courts de quelques centaines de femtosecondes. Cependant, l'utilisation d'une telle configuration possède l'inconvénient de donner des signaux faibles. En effet, la sonde utilisée possède une largeur spectrale environ dix fois plus grande que la largeur spectrale de la raie vibrationnelle sondée, d'où un faible signal différentiel de l'ordre de 10^{-4}–10^{-5}.

Les expériences que nous présentons sont principalement sensibles à deux paramètres importants : le changement de fréquence de résonance et de force d'oscillateur du CO.

Les différentes amplitudes des signaux sont normalisées à l'aide du signal pompe-sonde que nous obtenons dans un échantillon d'arséniure de Gallium décrit section 4.2.2 page 64. Ceci permet de normaliser simultanément par rapport à l'intensité du faisceau pompe et à celle du faisceau sonde, ainsi que de tenir compte de leur recouvrement dans l'échantillon après la traversée de la fenêtre de CaF_2. Ce même signal nous permet de déterminer le délai pompe-sonde zéro des expériences.

5.1.2 Utilisation de différentes sondes infrarouges

Afin toutefois d'obtenir une information spectrale dans nos expériences, nous avons utilisé différentes longueurs d'ondes de sonde. Le déplacement de la raie du CO est de l'ordre de 200 cm^{-1}, ce qui est plus large que la largeur spectrale de 100 cm^{-1} de notre sonde. Bien qu'intégrées spectralement, nos expériences dépendent de la fréquence d'absorption du CO.

Les différents spectres de sonde que nous avons utilisés pour réaliser nos expériences sont présentés dans la figure 5.1 page ci-contre. Nous présentons six différentes valeurs pour la fréquence centrale de sonde. Deux de ces valeurs correspondent aux fréquences initiale du CO lié à l'hème (1945 cm^{-1}) et finale du CO au «docking site» (2130 cm^{-1}). Nous avons aussi

effectué la même expérience pour d'autres valeurs de la fréquence, en dessous (1875 cm^{-1}) et au-dessus (2184 cm^{-1}) des fréquences initiale et finale, ainsi que pour des fréquences intermédiaires (2000 et 2064 cm^{-1}).

Sur la même figure 5.1, les raies d'absorption du CO sont schématiquement représentées par des gaussiennes de largeur $\Delta\sigma = 12.5$ cm^{-1} (pour plus de lisibilité, les profils d'absorption sont représentés avec la même force d'absorption intégrée). Nous nous référerons aux différentes expériences repérant ces spectres par la fréquence centrale X de la sonde correspondante : expérience à X cm^{-1}.

Les résultats de nos expériences pompe-sonde différentielles, utilisant la modulation à 50 kHz et la détection infrarouge décrites au chapitre 4 sont présentés figure 5.2.

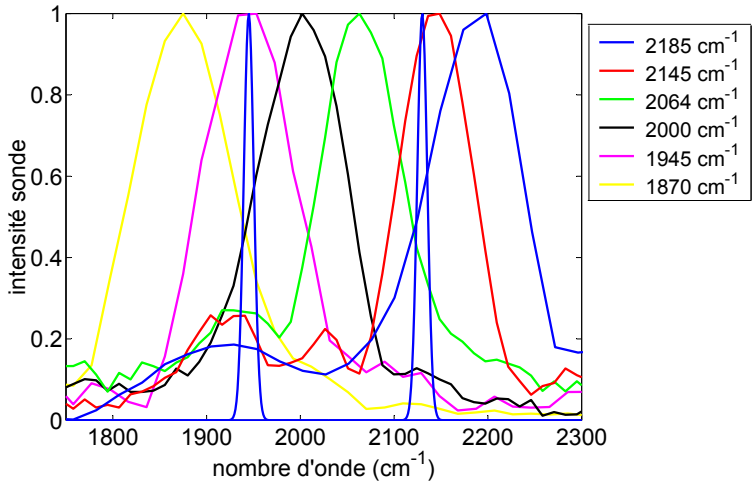

FIG. 5.1 : *Spectres des différentes sondes utilisées. Les différentes fréquences centrales de sonde utilisées couvrent l'ensemble de la zone spectrale intéressante pour le transfert du CO. Les bandes d'absorption du CO sont schématisées par deux gaussiennes de largeur à mi-hauteur $\Delta\sigma = 12.5$ cm^{-1}. Les deux bandes sont représentées avec la même force d'absorption. La bande à la fréquence finale possède en fait une absorption intégrée 34 fois plus faible que celle du CO à la fréquence initiale [26].*

a L'expérience à 1945 cm^{-1} Dans cette expérience, le spectre de la sonde est centré sur la raie vibrationnelle du CO lié à l'hème (fréquence centrale : 1945 cm^{-1}). Cette expérience est sensible au départ du CO de l'hème. Le déplacement de la raie du CO en dehors du spectre de la sonde infrarouge provoque une baisse de l'absorption, nous observons donc un signal pompe-sonde différentiel négatif correspondant à une augmentation de la transmission de la sonde. La dynamique du signal observée à cette fréquence est compatible avec un changement de fréquence quasi-instantané plus rapide que notre résolution temporelle. Le départ rapide de la raie vibrationnelle du CO de cette zone de fréquence rend cette expérience insensible à la partie finale du transfert.

b L'expérience à 2145 cm^{-1} Le spectre de la sonde recouvre maintenant la raie du CO lorsque celui-ci se trouve sur le «docking site». La courbe expérimentale montre une

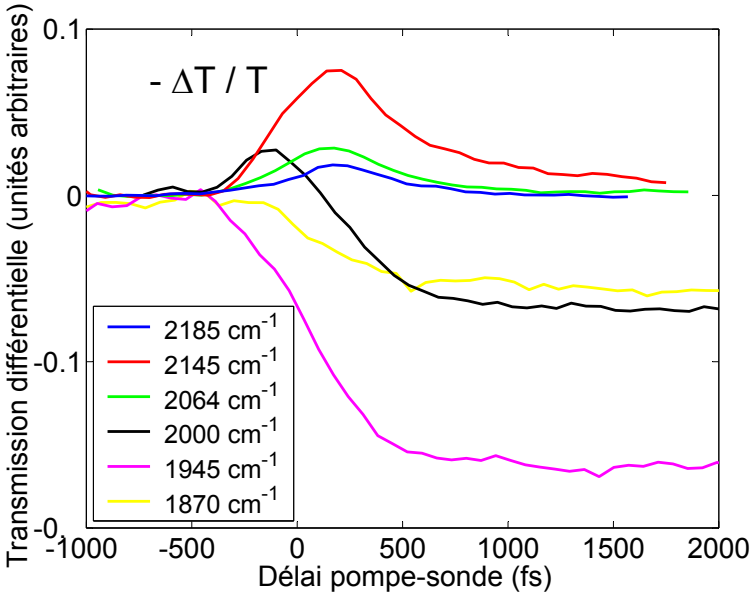

FIG. 5.2 : *Transmission différentielle pour différentes valeurs de la fréquence centrale de sonde (expériences à l'angle magique). L'énergie de pompe utilisée pour ces différentes expériences était d'environ 180-280 nJ. L'amplitude des signaux obtenus est normalisée par l'amplitude d'un signal dans l'arséniure de Gallium qui permet également de déterminer le délai zéro (voir figure 4.4 page 65). L'amplitude relative des signaux est estimée correcte à 20 % près. Le pas temporel est de 70 fs. Les courbes présentées sont des moyennes d'environ 500 passages. 0.1 unités arbitraires correspondent à une valeur de 1.25 10^{-4} de la transmission différentielle $-\Delta T / T$.*

augmentation de l'absorption due au changement de la fréquence du CO qui entre dans le spectre de la sonde au cours du transfert. De façon surprenante, la valeur absolue de l'absorption différentielle transitoire à la fréquence finale est dans un premier temps (pendant environ 500 fs) du même ordre de grandeur que la valeur de l'absorption différentielle à la fréquence initiale. Dans un deuxième temps, cette absorption diminue pour finalement atteindre (à un délai picoseconde) la valeur de l'absorption différentielle attendue d'après la littérature [26]. Le rapport des valeurs absolues d'absorption différentielle à la fréquence finale et initiale correspond alors effectivement au rapport connu de 34 [26] entre la force d'oscillateur des l'état A initial et B final. Nous interprétons ce comportement comme un changement non instantané de la force d'oscillateur de la transition vibrationnelle du CO lors du processus de dissociation (de l'hème) et de transfert (de l'hème vers le «docking site»).

c Les expériences à 2064 cm^{-1} et 2184 cm^{-1} Nous nous sommes intéressés à la présence possible de valeurs intermédiaires comprises entre la valeur initiale et finale de la fréquence vibrationnelle du CO. Pour ceci, nous avons effectué des expériences pour d'autres fréquences centrales de sonde (2064 cm^{-1} et 2185 cm^{-1}) placées de part et d'autre de l'absorption du CO sur le «docking site».

- Les valeurs similaires de l'absorption différentielle de part et d'autre de la fréquence finale indiquent que ce ne sont pas des fréquences vibrationnelles intermédiaires qui sont responsables de ces signaux.
- La comparaison avec les simulations qui sera discutée section 5.2 montre que le signal est dû au recouvrement du spectre sonde avec la raie vibrationnelle finale et qu'un élargissement de la raie vibrationnelle n'est pas nécessaire a l'explication des signaux obtenus
- Cependant, nous estimons également par nos simulations qu'un élargissement d'environ 40 cm^{-1} peut être présent sans influencer nos mesures (voir section 5.2 page suivante). Elles indiquent qu'un élargissement de la raie vibrationnelle du CO supérieur à 70 cm^{-1} commence à influencer nos mesures. Ce comportement en fonction de la largeur de l'élargissement spectral est attendu puisque la largeur spectrale de nos impulsions sonde est de 100 cm^{-1}.

d Les expériences à 1870 cm^{-1} De la même façon, l'expérience à 1870 cm^{-1} nous permet de nous assurer qu'il n'y a pas d'élargissement conséquent de la raie autour de la fréquence initiale du CO. Les simulations (page 89) montrent que pour une sonde à cette fréquence, le signal obtenu s'explique simplement par le recouvrement du spectre de la sonde et de la raie du CO : il n'est pas nécessaire de recourir à un élargissement de la raie pour décrire cette expérience. Cependant, nous ne pouvons pas exclure un faible élargissement à la fréquence initiale qui ne modifierait pas notre signal.

e Les expériences à 2000 cm^{-1} Cette expérience montre un comportement intermédiaire entre le signal à la fréquence initiale et le signal à la fréquence finale. Par la suite, nous verrons que le signal pour cette fréquence de sonde est dépendant de la dérive de fréquence (*chirp*) de l'impulsion sonde.

f Expérience de contrôle dans déoxymyoglobine Des expériences précédentes indiquent qu'une pompe de forte intensité peut induire un échauffement du solvant induisant une absorption située autour de 5 μm [91]. Afin de nous assurer que notre signal ne provient pas d'un éventuel échauffement du solvant, nous avons effectué des expériences de contrôle dans la déoxymyoglobine. Dans cette forme de la myoglobine, le Fer de l'hème est réduit sans qu'aucun ligand ne soit lié à l'hème. L'absorption de notre pompe à 400 nm est similaire à celle de la carboxymyoglobine. Sous cette forme, la myoglobine ne contient pas le ligand CO. Nous avons utilisé pour cette expérience une sonde dans un domaine de fréquence intermédiaire à 2050 cm^{-1} (entre 1945 et 2130cm^{-1}). Contrairement aux échantillons de carboxymyoglobine, les échantillons de déoxymyoglobine ne donnent pas de signal sortant du bruit.

Afin de vérifier que l'échantillon de déoxymyoglobine ne s'était pas dégradé, par exemple en fixant un O_2, et pour être sûrs que nous possédions toujours un signal dans MbCO, nous n'avons pas fait d'acquisitions longues dans la déoxymyoglobine. Étant donnée la valeur du bruit dans ces expériences, nous estimons que le signal provenant de la déoxymyoglobine est au moins 10 fois plus faible que le signal provenant de MbCO et l'absorption différentielle que nous observons ne provient donc que des modifications des caractéristiques vibrationnelles du CO. Nous ne sommes pas sensibles à un échauffement du solvant. Cette différence avec les expériences analogues réalisées précédemment [91] s'explique par notre utilisation d'une pompe bien moins intense.

Les deux expériences effectuées à 1945 cm^{-1} (autour de la fréquence initiale) et à 2145 cm^{-1} (autour de la fréquence finale) donnent les caractéristiques principales du transfert de ligand, c'est-à-dire, comme nous le détaillons dans l'analyse qui suit (section 5.2) :

- un changement quasi-instantané de la fréquence de vibration du CO ;
- et une force d'oscillateur qui décroît de façon progressive de sa valeur initiale à sa valeur finale avec une constante de temps 400 fs.

5.2 Analyse des données expérimentales

5.2.1 Simulations

5.2.1.1 Description du transfert de ligand dans MbCO

Nous rendons compte de nos expériences en les confrontant à des simulations. Comme expliqué au chapitre 2, les simulations décrivent le transfert du ligand à l'aide d'un jeu de paramètres qui dépendent du temps :

- la fréquence de transition vibrationnelle du CO ;
- la force d'absorption ;
- le temps de déphasage dépendant du temps lié à une raie gaussienne (section 2.4 page 25) ;
- et l'angle que fait le CO avec la normale au plan de l'hème.

Les valeurs initiales et finales que nous avons utilisées pour ces différents paramètres sont tirées de la littérature [26, 50]. Nous avons ajusté la dynamique de ces différents paramètres

pour reproduire nos résultats expérimentaux. Comme nous le détaillons par la suite, nous avons obtenu un accord qualitatif qui permet de décrire le transfert du CO à l'aide d'un changement de fréquence quasi-instantané et une décroissance progressive de la force d'oscillateur avec une constante de temps de 400 fs.

Nous n'avons pas tenté de reproduire dans les simulations le détail de la structure de l'absorption infrarouge du CO dans la myoglobine. En particulier, nous n'avons pas essayé de modéliser les différents états A ou B (cf. chapitre 1) dus à différentes conformations de la myoglobine ou aux différentes positions du CO dans la poche de l'hème. Ceci est justifié dans la mesure où nous ne sommes pas sensibles à la structure de l'absorption mais seulement à une quantité intégrée. Il se pourrait toutefois que des deux raies distinctes possèdent des dynamiques différentes et influencent ainsi l'absorption différentielle spectralement intégrée. Cependant, le bon accord qualitatif que nous avons obtenu avec une unique population justifie *a posteriori* notre choix qui nous permet de ne pas multiplier le nombre de paramètres ajustables.

5.2.1.2 Calcul numérique : précisions

Les simulations des expériences de transmission différentielle que nous avons effectuées utilisent la fonction de réponse dont la construction est détaillée au chapitre 2. Les signaux sont calculés à l'aide des équations 2.48 et 2.49 page 29.

Comme précisé à la section 2.2, nous faisons l'approximation du champ tournant. Nous réalisons donc nos simulations dans le référentiel tournant (à la fréquence de résonance initiale du CO), ce qui permet un échantillonnage beaucoup moins contraignant du champ sonde et de la fonction de réponse, et donc un calcul plus rapide. Le calcul utilise pour le champ sonde des enveloppes temporelles gaussiennes. Les sondes utilisées sont supposées limitées par transformée de Fourier, sauf dans le cas précis où nous évaluons l'influence de la dérive de fréquence des impulsions sondes dans nos expériences. La largeur spectrale des sondes simulées correspond, pour chaque expérience, à un ajustement des spectres mesurés reproduits à la figure 5.1, toutes ces largeurs spectrales à mi-hauteur se trouvent dans l'intervalle 80–100 cm^{-1}.

Toutes les simulations présentées utilisent une impulsion de pompe de largeur temporelle à mi-hauteur de 250 fs dont le profil d'intensité gaussien est pris en compte par une convolution, comme précisé à l'équation 2.48 page 29. Elles ont été développées sous l'environnement MATLAB.

Ces simulations prennent en compte les effets de cohérence et de photosélection ainsi que différentes caractéristiques qui influencent l'absorption infrarouge du ligand : son changement de fréquence de résonance et de force d'oscillateur. [2]

5.2.2 Ajustements, simulations des résultats expérimentaux

Lorsque nous ne spécifions pas explicitement le contraire, les simulations présentées utilisent une rotation de 0 à 90° de l'angle du dipôle CO vis-à-vis de la normale à l'hème [50, 52]

2. Les effets de cohérence et les effets de rotation du CO sont aussi inclus dans les simulations mais ont *a priori* une influence négligeable dans nos expériences intégrées spectralement à l'angle magique.

avec un temps caractéristique de 400 fs, ainsi qu'un temps de déphasage constant correspondant à une raie gaussienne de largeur à mi-hauteur fixe $\Delta\sigma = 12.5$ cm^{-1} (voir figure 1.5 page 10).

5.2.2.1 Changement de force d'oscillateur instantané

La figure 5.3 présente une simulation dans laquelle nous utilisons des changements de force d'oscillateur et de fréquence de résonance quasi-instantanés. Le grand désaccord entre le calcul et l'expérience (figure 5.2 reproduite dans les courbes en pointillés figure 5.3) au niveau des amplitudes relatives des signaux à la fréquence finale et initiale nous oblige à choisir une variation moins brutale de la force d'oscillateur qui permet de reproduire simultanément l'amplitude de l'absorption transitoire de l'expérience à la fréquence finale.

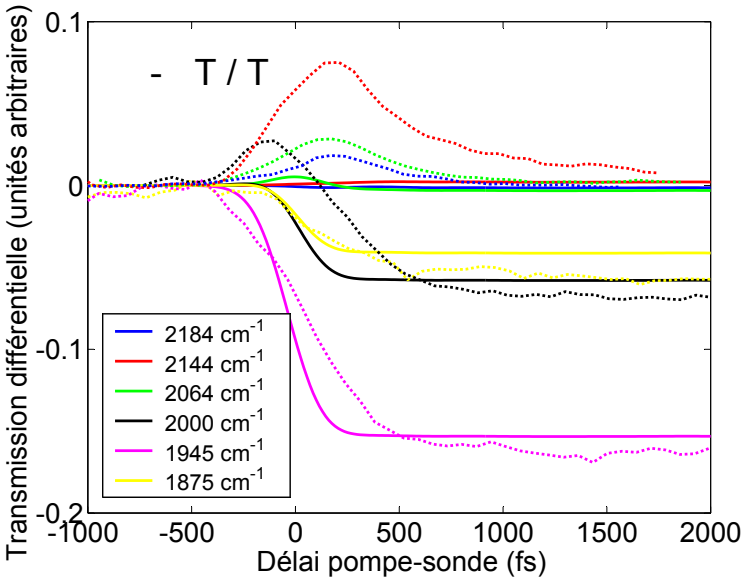

FIG. 5.3 : *Utilisation d'une variation instantanée de la force d'absorption. En pointillés : courbes expérimentales de la figure 5.2 page 84. En traits pleins : simulations utilisant une variation quasi-instantanée de la force d'absorption qui passe directement de la valeur initiale (1) à la valeur finale (1/34). L'amplitude relative des signaux à la fréquence initiale (1945 cm^{-1}) et finale (2144 cm^{-1}) ne peut pas être reproduite sans utiliser une variation plus lente de la force d'oscillateur.*

5.2.2.2 Changement quasi-instantané de la fréquence de résonance et changement progressif de la force d'oscillateur

En utilisant une décroissance exponentielle de la force d'oscillateur avec un temps caractéristique de 400 fs, nous obtenons l'ajustement présenté à la figure 5.4 page suivante. Les amplitudes relatives de toutes les expériences sont reproduites simultanément, à notre précision expérimentale près (environ 20%). Cet ajustement permet de rendre compte quali-

tativement des caractéristiques des signaux observés. Le moins bon ajustement obtenu pour l'expérience à 2000 cm^{-1} est discuté section 5.2.2.4.

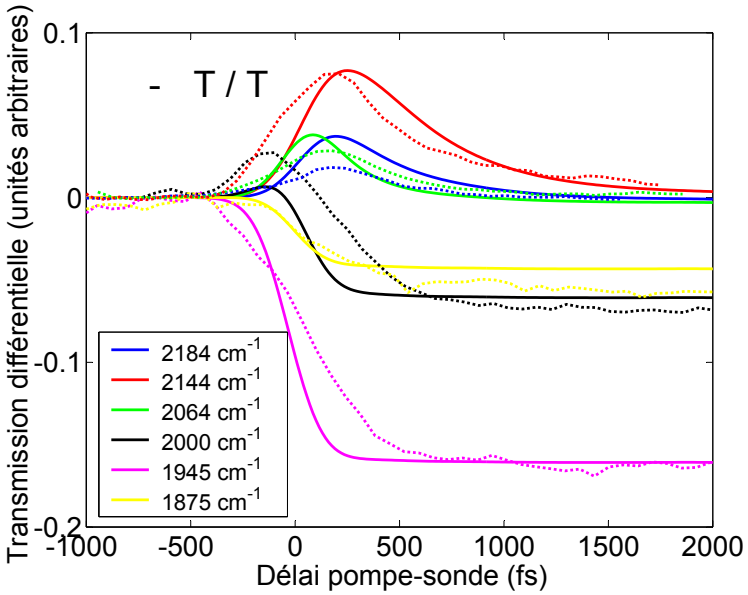

FIG. 5.4 : *Ajustement des paramètres de la simulation et comparaison aux expériences. En pointillés : courbes expérimentales de la figure 5.2 page 84. En traits pleins : simulations des expériences de transmission différentielle utilisant un changement de fréquence quasi-instantané ainsi qu'une diminution progressive de la force d'oscillateur qui passe de sa valeur initiale à sa valeur finale avec une constante de temps de 400 fs. Le CO subit une rotation de 90° avec la même constante de temps et la largeur spectrale de l'absorption infrarouge est choisie constante puisque la prise en compte d'un élargissement de la raie ne permet pas d'obtenir un meilleur accord.*

Le transfert du CO est donc bien pris en compte par une force d'oscillateur décroissante avec une constante de temps exponentielle de 400 fs et un changement de fréquence vibrationnelle du CO quasi-instantané. Cet ajustement donne les principales caractéristiques vibrationnelles du transfert du CO auxquelles nous avons accès dans nos expériences, c'est-à-dire la fréquence de transition et la force d'oscillateur. Tant que la largeur spectrale de la raie du CO reste inférieure à 40 cm^{-1}, sa possible dynamique influence très peu le résultat de nos expériences qui utilisent des sondes de 100 cm^{-1} de largeur à mi-hauteur.

Comme attendu pour des expériences à l'angle magique, la variation de l'angle du dipôle n'a pas d'influence significative sur nos résultats. Néanmoins, comme discuté section 5.2.3, des effets de cohérence peuvent se manifester de façon inattendue par la rotation du CO dans les expériences résolues spectralement.

5.2.2.3 Changement progressif de la fréquence vibrationnelle du CO

La figure 5.5 page suivante présente une simulation qui inclut une variation de la fréquence de résonance avec la même constante de temps de 400 fs que la variation de la force d'oscilla-

teur. Dans ce cas, les pics d'absorption différentiels pour les sondes aux fréquences 2144 cm^{-1} et 2184 cm^{-1} se trouvent retardés par rapport aux sommets des courbes expérimentales. L'utilisation d'un tel changement de fréquence vibrationnelle progressif n'est donc pas compatible avec nos expériences.

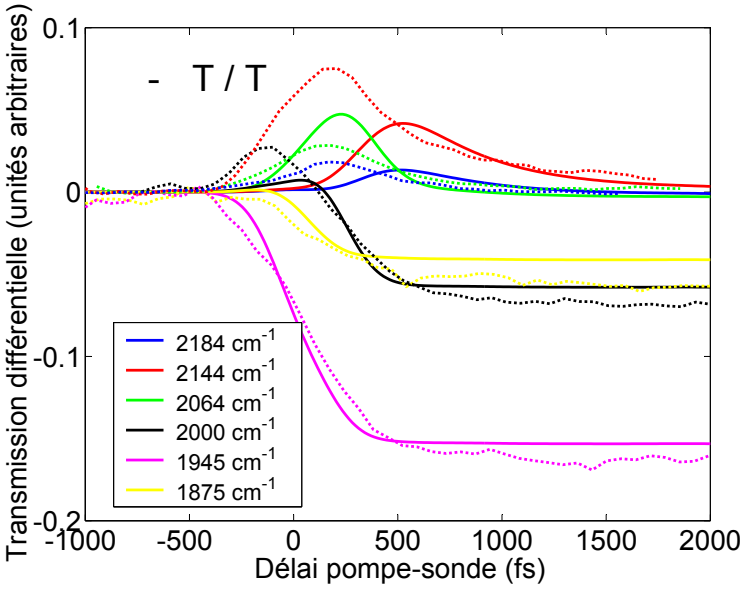

FIG. 5.5 : *Influence de la variation progressive de la fréquence de résonance du CO. En pointillés : Courbes expérimentales de la figure 5.2 page 84. En traits pleins : Simulations utilisant les mêmes paramètres que les simulations précédentes (changement de force d'oscillateur avec une constante de temps de 400 fs) sauf pour la fréquence qui varie de façon non quasi-instantanée entre la valeur initiale et finale avec une constante de temps de 400 fs. L'ajout de cette fréquence dépendant du temps décale considérablement les pics de l'absorption différentielle calculée autour des fréquences finales.*

5.2.2.4 Effet d'une dérive de fréquence de la sonde

Comme précisé dans le chapitre 4 page 59, les impulsions infrarouges que nous utilisons sont un peu plus longues (250 fs) que ce qui correspond à la limite par transformée de Fourier (150 fs). Or, nos simulations utilisent des impulsions sonde limitées par transformée de Fourier. Afin de s'assurer que ceci ne vient pas modifier notre interprétation des résultats, nous avons effectué des simulations avec des impulsions possédant une dérive de fréquence linéaire correspondant à la phase spectrale quadratique $\phi'' \sim 10000$ rad.fs^2 nécessaire (ϕ'' est défini à l'équation A.12 page 105) pour donner aux impulsions infrarouges dont la largeur spectrale est connue (~ 100 cm^{-1}) la durée temporelle à mi-hauteur de 250 fs déduite des expériences dans l'arséniure de Gallium (voir figure 4.4 page 65). Les impulsions utilisées dans les simulations possèdent une fréquence instantanée croissante. Les simulations correspondantes sont présentées à la figure 5.6 page ci-contre et sont comparées aux simulations de la figure 5.4 utilisant des impulsions limitées par transformée de Fourier.

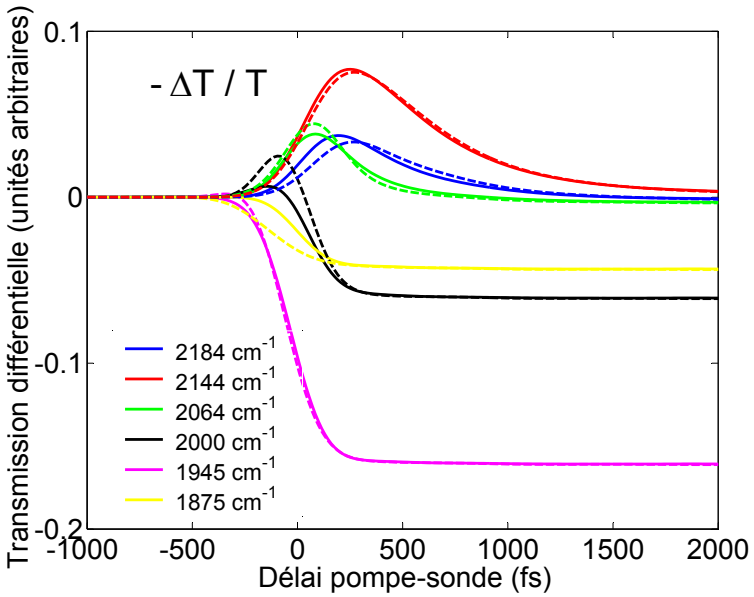

FIG. 5.6 : *Effet d'une dérive de fréquence de l'impulsion sonde. En traits pleins : ajustement des expériences obtenu pour une sonde limitée par transformée de Fourier (voir figure 5.4 page 89). En traits tiretés : les mêmes paramètres sont utilisés pour les variations des caractéristiques du CO mais une phase spectrale quadratique* $\phi'' = 10000$ *rad.fs*^{2} *est utilisée pour allonger la durée des impulsions sonde. La dérive de fréquence modifie peu le signal calculé pour des sondes centrées sur la fréquence initiale et finale. Pour des fréquences centrales de sonde intermédiaires cependant, le signal calculé est modifié.*

Les simulations pour les expériences à la fréquence initiale et finale ne sont pratiquement pas modifiées. Pour les expériences utilisant des fréquences de sonde intermédiaires (2000 et 2064 cm^{-1}), et surtout pour la fréquence de sonde intermédiaire à 2000 cm^{-1}, le signal est modifié par la présence d'une dérive de fréquence. Le signal apparaît plus piqué pour de telles impulsions car la fréquence instantanée de l'impulsion varie comme la fréquence du CO. Pour la fréquence intermédiaire à 2000 cm^{-1}, l'utilisation d'une telle sonde rend mieux compte du signal observé (voir figure 5.2).

Globalement, les effets liés à une dérive de fréquence de la sonde sont faibles. Il en est de même pour une dérive de fréquence de signe négatif.

5.2.3 Élargissement spectral de la raie vibrationnelle du CO

5.2.3.1 Influence de l'élargissement de la raie du CO dans les expériences intégrées spectralement

Nos expériences intégrées spectralement utilisent des sondes de largeur spectrale à mi-hauteur $\Delta\sigma = 100$ cm^{-1}. Elles sont donc peu sensibles à un éventuel élargissement de la raie du CO dans le cas où cet élargissement est inférieur à la largeur spectrale de la sonde. Nous avons évalué la sensibilité de nos expériences à un tel élargissement pour pouvoir comparer nos expériences avec des expériences résolues spectralement précédemment réalisées [52] qui montrent aux délais pompe-sonde courts un signal à la fréquence finale qui est plus large spectralement que la raie vibrationnelle du CO lié à l'hème (12.5 cm^{-1} à mi-hauteur).

La figure 5.7 page ci-contre montre deux jeux de simulations : un utilisant les paramètres utilisés figure 5.4 avec lesquels nous avons simulé nos expériences sans tenir compte d'un élargissement de la raie du CO et un avec un élargissement de la raie vibrationnelle du CO de 70 cm^{-1}, les autres paramètres étant fixés par ailleurs. La largeur de la raie du CO retrouve sa valeur initiale de 12.5 cm^{-1} après 400 fs. La section 2.4 page 25 détaille comment nous simulons cette largeur spectrale dépendant du temps. La seule conséquence de cet élargissement de la raie du CO est de diminuer légèrement l'amplitude du signal à la fréquence finale. Ceci ne modifie donc pas nos conclusions sur la variation de la force d'oscillateur. Puisqu'un élargissement de la raie du CO ne peut que diminuer l'amplitude de notre signal autour de la fréquence finale, le fait que nous négligions cet élargissement ne peut que mener à une sous-estimation de la force d'oscillateur du CO. Les origines possibles d'un tel élargissement sont discutées par la suite.

5.2.3.2 Comparaisons à des expériences résolues spectralement

Les expériences résolues spectralement déjà réalisées sur le même système par Anfinrud et al. [26,52] présentent un signal de fond spectralement large qui est soustrait dans l'analyse des données pour pouvoir se concentrer sur les raies plus fines caractérisant le «docking site» qui émergent de ce signal de fond. Cette méthode d'analyse qui ne tient pas compte de l'absorption intégrée puisqu'elle néglige un signal de fond large ne permet pas de rendre compte de la variation de la force d'oscillateur.

L'élargissement spectral (ou signal de fond) présent dans les expériences de Anfinrud et al. a été interprété comme une diminution du temps de déphasage de la raie due à un

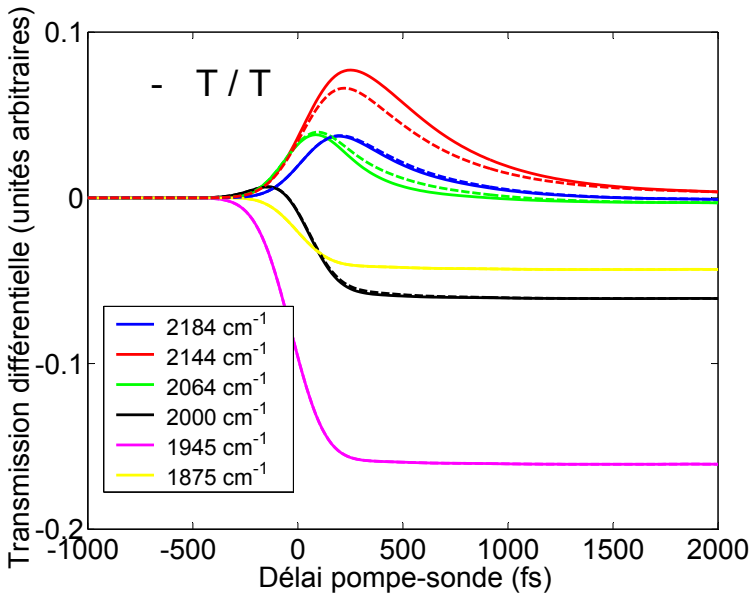

FIG. 5.7 : *Effet d'un élargissement de la raie vibrationnelle du CO. En traits pleins : ajustement obtenu sans tenir compte d'un élargissement de la raie du CO. En traits tiretés : Simulations avec un élargissement de* $\Delta\sigma = 70\ cm^{-1}$. *Cet élargissement relaxe vers sa valeur initiale de* $\Delta\sigma = 12.5\ cm^{-1}$ *avec une constante de temps de 400 fs. La seule simulation modifiée de façon non-négligeable par un tel élargissement est la simulation de l'expérience à la fréquence finale.*

relâchement des contraintes rotationnelles imposées au CO par l'environnement de la protéine au cours du transfert. Le scénario suivant a été proposé [26].

Lié au Fer de l'hème, le CO est contraint rotationnellement : il se trouve approximativement selon la normale au plan de l'hème [50]. La liaison étant rompue, le CO évolue alors dans une cage protéique qui ne lui impose pas de direction particulière : ceci entraîne un élargissement spectral. Une fois arrivé sur le «docking site», l'environnement protéique va se resserrer autour du CO en lui imposant une direction particulière : les contraintes rotationnelles sont alors rétablies par la protéine, la raie du CO se rétrécit et la force d'oscillateur du CO vient se concentrer progressivement dans une bande spectrale étroite.

Ceci amène une contradiction apparente entre nos expériences et les expériences précédentes : là où nous observons une baisse progressive de la force d'oscillateur, les expériences résolues spectralement montrent la formation progressive d'une structure spectrale.

Afin de pouvoir comparer nos résultats aux expériences résolues spectralement d'Anfinrud et al. [52], nous avons effectué des simulations d'expériences résolues spectralement. Les figures 5.8 et 5.9 présentent des simulations avec une sonde de durée 150 fs limitée par transformée de Fourier placée spectralement autour de la fréquence finale.

La simulation de la figure 5.8 inclut un élargissement de la raie du CO de 70 cm^{-1} qui relaxe avec une constante de temps de 1.6 ps correspondant au temps donné dans la référence [52] pour l'apparition de la raie finale du CO. Cet élargissement ne modifie que légèrement les simulations (voir figure 5.7).

En revanche, dans la figure 5.8, le temps de déphasage est constant.

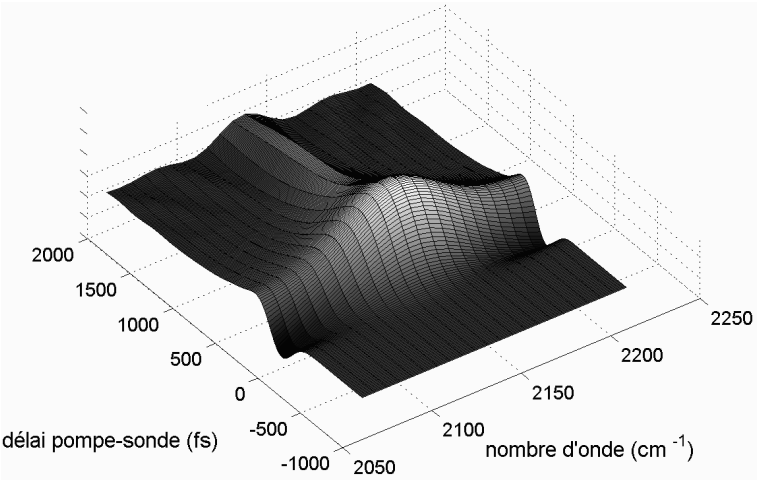

Fig. 5.8 : *Simulation de l'absorption différentielle résolue spectralement pour une impulsion sonde centrée autour de la fréquence finale. Nous avons introduit un élargissement de la raie du CO (70 cm^{-1}) qui relaxe vers sa valeur initiale (12.5 cm^{-1}) avec une constante de temps de 1.6 ps. Comme celui introduit à la figure 5.7, cet élargissement n'influence pas nos expériences pompe-sonde intégrées spectralement.*

Dans ces deux simulations, nous voyons apparaître un signal de fond spectralement large autour du délai pompe-sonde nul. Nous montrons maintenant qu'un élargissement inhérent de

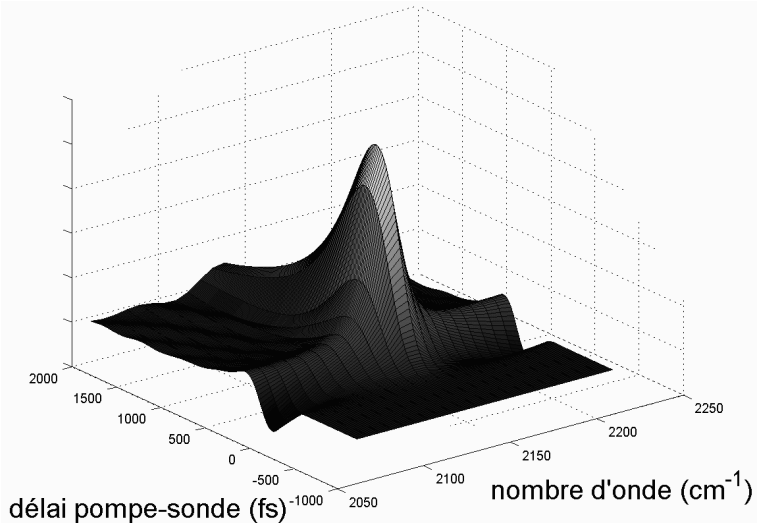

FIG. 5.9 : *Simulation de l'absorption différentielle pour une impulsion sonde centrée autour de la fréquence finale. Plus faible que dans les simulations présentées à la figure 5.8 page précédente, un signal spectralement large est néanmoins toujours visible autour du délai pompe-sonde nul. Cet élargissement du spectre n'est pas dû à une diminution du temps de cohérence de la raie vibrationnelle.*

la raie du CO est observable dans ces expériences résolues spectralement. Cet élargissement du spectre d'absorption à la fréquence finale est illustré par la simulation montrée à la figure 5.9 qui n'inclut pas d'élargissement phénoménologique. Il est dû à la diminution de la force d'oscillateur du CO et à la rotation du dipôle du CO comme nous le détaillons ci-dessous.

5.2.3.3 Effets de cohérence déterministes dans l'élargissement du spectre résolu spectralement

Comme détaillé à la section b page 52, les expériences résolues spectralement réalisées avec un spectre de sonde qui ne contient pas la fréquence initiale ne peuvent donner lieu à des effets de polarisation perturbée : il n'y a pas d'excitation résonnante de la polarisation et donc pas de polarisation qui puisse être perturbée par la pompe pour des délais pompe-sonde négatifs.

Toutefois, le spectre dépendant du temps d'une raie dont les caractéristiques varient plus vite que son temps de déphasage entraînent des modifications dans l'interprétation du spectre. En particulier, la largeur du spectre observée doit être interprétée avec prudence car elle ne peut pas être directement reliée à un temps de déphasage. Nous discutons dans la section suivante l'effet d'une modification de la force d'oscillateur et de l'orientation du CO plus rapides que le temps de déphasage sur la largeur apparente de la raie vibrationnelle du CO.[3] Bien que n'apparaissant pas à des délais pompe-sonde négatifs, ces effets sont de même nature que les effets de polarisation perturbée.

3. Ces remarques s'appliquent d'ailleurs également à un changement rapide de la fréquence de transition du CO.

a Diminution de la force d'oscillateur Considérons le cas du CO dont la force d'oscillateur décroît avec une constante de temps de 400 fs. Ce temps de décroissance est inférieur au temps de déphasage du CO, de l'ordre 800 fs (correspondant à la largeur 12.5 cm^{-1} de la raie vibrationnelle). Lorsque la sonde arrive à un délai positif avant que la force d'oscillateur ait baissé, elle est résonnante avec la fréquence finale du CO et crée donc une polarisation. La décroissance de cette polarisation n'est pas gouvernée par le temps de déphasage mais par la diminution plus rapide de la force d'oscillateur. La raie mesurée apparaît élargie puisque la largeur du spectre observée est liée à la rapidité du déclin de la polarisation (cf. équation 3.13 page 40).

b Changement d'orientation du CO De la même façon, une rotation du CO non instantanée mais toutefois plus rapide que le temps de déphasage peut donner lieu à un élargissement du spectre sur un temps court correspondant au temps caractéristique de cette rotation. Plaçons nous donc dans le cas où la rotation du CO est plus lente que la durée de la sonde et plus rapide que le temps de déphasage.

Lorsque la sonde arrive à un délai positif, en résonance avec la fréquence du CO à la fréquence finale, avant qu'une rotation du CO ait eu lieu, elle induit une polarisation résonnante. Cette polarisation est orientée suivant la direction de la sonde. Lorsque maintenant chaque CO de l'échantillon subit une rotation, ceci va induire un changement dans la polarisation macroscopique. Pour un échantillon où toutes les molécules sont orientées suivant la même direction, la polarisation change de direction avec le CO.

Pour un échantillon liquide, il faut tenir compte d'une moyenne sur toutes les orientations des molécules. Plaçons nous à l'angle magique entre la pompe et la sonde, auquel cas la polarisation macroscopique due aux différentes molécules de CO se trouve toujours suivant la polarisation de la sonde.[4] La rotation individuelle de chaque molécule n'entraîne plus une rotation de la polarisation mais une baisse de la polarisation due à un effet de moyenne.

Dans ces deux cas (échantillon orienté ou liquide), cette rotation entraîne un élargissement du spectre puisqu'alors la polarisation selon la direction de la sonde décroît avec le temps caractéristique de la rotation et non plus avec le temps de déphasage.

Cet élargissement spectral dû à une rotation du CO vient renforcer l'élargissement dû à la diminution de la force d'oscillateur. En effet, lors de son transfert de l'hème au «docking site», le CO subit une rotation de 90° qui rend cet élargissement potentiellement important.

5.2.4 La force d'oscillateur comme sonde du transfert du CO

Nos expériences montrent que la dissociation et le transfert du ligand ne peuvent être décrits par un changement instantané de la force d'oscillateur du CO. Nous pourrions penser, *a priori*, que ce changement de force d'oscillateur se produit de façon synchrone avec la dissociation du CO de l'hème (qui se produit en ~ 50 fs [32,33,34,35]) par une réorganisation rapide des électrons engagés dans la liaison avec le Fer de l'hème. Ce comportement étonnant semble montrer que la simple dissociation ne peut pas, à elle seule, rendre compte de la dynamique de la force d'oscillateur. Nous envisageons que cette modification lente puisse provenir de l'interaction du ligand avec son proche environnement, par exemple avec le Fer

4. Seule la partie isotrope de la fonction de réponse contribue alors à la polarisation (cf. section 2.3.3).

de l'hème ou encore l'histidine 64 située dans la poche de l'hème en interaction avec le CO par l'intermédiaire d'une liaison hydrogène. Des calculs théoriques en fonction de la distance entre le CO et l'hème sont cependant nécessaires pour pouvoir soutenir cette hypothèse et essayer de comprendre une telle variation de la force d'oscillateur. Une dépendance de la force d'oscillateur du CO avec l'angle entre l'axe Fe-C-O et l'histidine 64 à déjà été montrée par les calculs de Stefan Franzen [22]. Ces calculs s'appliquent cependant à un CO lié à l'hème et ne considèrent pas le cas d'un CO dissocié dans la poche de l'hème.

Des comparaisons avec des calculs pour un CO dissocié devraient permettre de corréler la force d'oscillateur avec la position du CO dans la poche de l'hème et pouvoir ainsi l'utiliser comme une sonde du transfert.

Conclusions

La liaison de ligands (CO, NO, O_2) aux hémoprotéines est un mécanisme qui fait partie intégrante de nombreuses fonctions biologiques et les mécanismes gouvernant la capture et le relargage de ces ligands sont essentiels pour l'activité de nombreuses hémoprotéines. Les premières étapes du transfert de ligand du site de liaison (hème) vers l'extérieur de ces protéines se déroulent à l'échelle femtoseconde ; elles font l'objet de cette étude.

Pour avoir accès à la dynamique du transfert, nous utilisons les changements des caractéristiques vibrationnelles du ligand. Les raies d'absorption associées à la vibration du ligand (~ 5 μm) possèdent des temps de cohérence de l'ordre de la picoseconde, i.e supérieurs aux temps caractéristiques de la dynamique du transfert de ligand étudié. Ceci se traduit dans les expériences pompe-sonde résolues spectralement par des effets de cohérence qui empêchent une lecture claire du signal. Nous avons donc, au cours de ce travail, cherché à utiliser des techniques permettant de s'affranchir de ces effets de cohérence ou à les exploiter et ainsi accéder aux premiers instants du transfert de ligand dans les hémoprotéines.

J'ai travaillé sur deux configurations expérimentales afin de pouvoir accéder aux caractéristiques infrarouges du ligand CO après sa dissociation du Fer de l'hème. Dans ces deux configurations expérimentales, le ligand est dissocié à l'aide d'une pompe visible à 400 nm.

J'ai mis en place une expérience de **transmission différentielle pompe-sonde intégrée spectralement** utilisant une sonde dans le domaine infrarouge. Ces expériences intégrées spectralement sondent les modifications de l'absorption dues au ligand pendant son transfert ; contrairement aux expériences résolues spectralement, elles ne sont pas sensibles aux effets de cohérence. Cependant, les signaux à détecter sont faibles, de l'ordre de 10^{-5}.

J'ai aussi participé à la mise en place d'une **technique de détection du champ émis** par le ligand CO au cours du transfert. Ce champ émis est détecté par **homodynage** avec un champ de référence. Cette expérience qui détecte un signal de type interférométrique nécessite deux impulsions possédant une relation de phase stable pendant toute la durée de l'acquisition.

Ces deux configurations expérimentales, expériences pompe-sonde intégrées spectralement et détection du champ émis par homodynage, sont complémentaires : la première est adaptée à l'étude de processus de transfert impliquant des changements de fréquence supérieurs à la largeur spectrale de la sonde tandis que la seconde est idéale pour suivre des déplacements de fréquence vibrationnelle à l'intérieur de la largeur spectrale de l'impulsion.

Afin d'améliorer le rapport signal à bruit, j'ai installé sur le montage expérimental

une technique de détection différentielle infrarouge plus performante. L'efficacité de cette détection infrarouge se base sur deux points importants. D'une part, à l'aide d'un hacheur mécanique à 50 kHz synchronisé par asservissement numérique sur le laser à 100 kHz, notre amplificateur à détection synchrone détecte dans un domaine haute fréquence où les bruits parasites sont beaucoup plus faibles qu'autour de 2 kHz, la fréquence précédemment utilisée. D'autre part, j'ai ajouté sur le montage expérimental la mesure d'une intensité de référence directement dans le domaine infrarouge, en prélevant une partie du faisceau sonde avant l'échantillon. Ce signal de référence soustrait à l'intensité du signal associé au faisceau sonde transmis permet de s'affranchir du bruit tir-à-tir du laser.

Ces modifications ont permis une amélioration d'un facteur 30 du rapport signal à bruit. Grâce à ces modifications du montage expérimental, nous avons pu réaliser des expériences pompe-sonde intégrées spectralement dans la myoglobine, une hémoprotéine très étudiée, notamment comme système de référence pour l'interaction hème-ligand. L'étude de ce système à l'aide d'une sonde infrarouge permet un accès direct à la vibration du ligand (CO), contrairement aux expériences visibles sensibles aux transitions électroniques de l'hème. Ces expériences de transmission différentielle intégrées spectralement, effectuées pour différentes longueurs d'onde de sonde infrarouge, ont permis d'observer un effet inattendu : lors du passage du ligand du site de fixation (hème) au «docking site» voisin, le premier site dans lequel le ligand se trouve dans la myoglobine après dissociation, la force d'oscillateur du ligand CO change de force d'absorption de manière progressive avec une constante de temps de 400 fs.

J'ai aussi travaillé à la mise en place du système d'asservissement permettant de réaliser des expériences de détection du champ émis. La stabilisation en phase des deux impulsions est maintenant fonctionnelle et de premières expériences de démonstration ont déjà été réalisées dans la carboxymyoglobine. Dans ces expériences de détection du champ émis, j'ai proposé que les deux faisceaux infrarouges passent à travers l'échantillon et qu'afin d'être uniquement sensible à un terme croisé provenant de l'interférence de l'impulsion de référence et du champ émis, nous utilisions une technique de double modulation. J'ai participé au développement d'un dispositif numérique permettant d'effectuer la somme de fréquences de deux modulations non synchronisées.

Dans la carboxymyoglobine cependant, la différence de fréquence entre le CO lié à l'hème et le CO sur le «docking site» est supérieure à la largeur spectrale de notre sonde. Ceci n'en fait pas un système idéal pour cette configuration expérimentale qui est mieux adaptée à l'étude du transfert de ligand dans la cytochrome c oxydase où le changement de fréquence vibrationnelle est inférieur à la largeur spectrale de nos impulsions infrarouges.

Afin de rendre compte de ces deux types d'expériences, j'ai développé des simulations. La base théorique de ces simulations consiste en une description de l'échantillon en présence d'une impulsion pompe par une fonction de réponse linéaire non-stationnaire calculée explicitement dans le cas d'un système à deux niveaux pour un échantillon liquide photosélectif. Ce système à deux niveaux modélise la vibration infrarouge du CO dont la fréquence, la force d'oscillateur et le temps de déphasage varient au cours du temps. Les effets dus à la rotation du CO sont également inclus. Ce modèle phénoménologique permet de rendre compte des changements de l'absorption infrarouge du CO lors de son transfert et nous a permis d'obtenir un bon accord qualitatif avec nos données expérimentales. Le programme de simulations

que j'ai mis en place permet de calculer, à partir de la même fonction de réponse, le signal attendu dans les expériences pompe-sonde intégrées et résolues spectralement ainsi que dans les expériences de détection du champ émis dans les diverses configurations présentées.

Sur un plan plus théorique, j'ai introduit une représentation spectro-temporelle originale de la fonction de réponse non-stationnaire. Elle permet en particulier d'exprimer simplement le résultat d'expériences intégrées spectralement à l'aide de la fonction de Wigner du champ sonde. Comme la susceptibilité linéaire stationnaire $\chi^{(1)}(\omega)$ dont elle est une généralisation au cas non-stationnaire, ses parties réelle et imaginaire sont reliées aux propriétés d'indice et d'absorption du milieu non-stationnaire.

Nos expériences intégrées spectralement montrent une diminution progressive de la force d'oscillateur dans la myoglobine. Cette diminution progressive inattendue n'avait pas été observée dans les expériences résolues spectralement précédemment réalisées. Ce résultat n'est cependant pas incompatible avec ces observations précédentes qui se sont plus focalisées sur la structure spectrale de l'absorption du ligand CO sur le «docking site» que sur l'absorption intégrée, c'est-à-dire la force d'oscillateur.

La relaxation des contraintes rotationnelles imposées au CO et le fait que le ligand puisse emprunter différentes trajectoires au cours du transfert entraînent une baisse du temps de déphasage qui élargit la raie vibrationnelle. C'est l'interprétation qui a été donnée de l'élargissement spectral observé dans des expériences précédentes résolues spectralement. Nous montrons qu'il existe un élargissement spectral inhérent de la raie vibrationnelle lorsque sa dynamique est rapide devant le temps de déphasage (cet élargissement peut trouver son origine dans une variation rapide de la force d'oscillateur ou de l'orientation du ligand), et que, lorsque le temps de déphasage est long devant la dynamique étudiée, un élargissement spectral ne peut pas être interprété de façon univoque comme une diminution du temps de déphasage.

La force d'oscillateur dont nous avons observé la variation progressive, corrélée à la distance hème-CO, est potentiellement une sonde du transfert de ligands. Puisque cette technique peut se transposer facilement, il serait très intéressant de l'appliquer à des hémoprotéines autres que la carboxymyoglobine que nous avons utilisée.

De même, la technique de détection du champ émis peut être utilisée pour étudier le transfert de ligands dans diverses hémoprotéines, celles en particulier dans lesquelles le transfert de ligands implique des mouvements cohérents. La conservation des propriétés de cohérence du ligand permet alors de tirer pleinement profit de cette technique interférométrique. Dans la cytochrome c oxydase, l'amplitude du changement de la fréquence du CO est inférieure à la largeur de notre sonde infrarouge ; d'autre part, des expériences dans le visible indiquent la présence de mouvements concertés intervenant dans le transfert du ligand : cette protéine est donc une excellente candidate pour une telle expérience.

En conclusion, au cours de cette thèse, nous avons introduit et implémenté deux approches expérimentales complémentaires. Les expériences réalisées dans la myoglobine ont démontré l'intérêt de ces deux approches pour l'investigation du transfert de ligands dans les hémoprotéines, processus essentiel à la réalisation de nombreuses fonctions biologiques.

Annexe A

Notations et conventions utilisées

A.1 Transformée de Fourier, Quantités complexes

Les champs électriques des impulsions considérées et les polarisations induites par ces champs seront notés $\vec{E}(t)$ et $\vec{P}(t)$.

La transformée de Fourier d'une fonction dépendant du temps $f(t)$ est notée $f(\omega)$, elle est définie par

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dt f(t) e^{i\omega t} \tag{A.1}$$

$$f(t) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi} f(\omega) e^{-i\omega t} \tag{A.2}$$

soit, pour le champ électrique

$$\vec{E}(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dt \vec{E}(t) e^{i\omega t} \tag{A.3}$$

Le champ complexe $\vec{\mathcal{E}}(t)$ associé au champ réel $\vec{E}(t)$ est défini par

$$\vec{\mathcal{E}}(t) = \int_{0}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi} \vec{E}(\omega) e^{-i\omega t} \tag{A.4}$$

$$\vec{E}(t) = \vec{\mathcal{E}}(t) + \vec{\mathcal{E}}^{\star}(t) = 2\ \mathrm{Re}(\vec{\mathcal{E}}(t)) \tag{A.5}$$

De la même façon, on définit la polarisation complexe $\vec{\mathcal{P}}(t)$ associée à la polarisation réelle $\vec{P}(t)$.

$\vec{\mathcal{E}}(\omega)$ désigne donc la transformée de Fourier de $\vec{\mathcal{E}}(t)$. $\vec{\mathcal{E}}(\omega)$ est nul pour des fréquences négatives et coïncide avec $\vec{E}(\omega)$ pour des fréquences positives.

A.2 Champ électrique des impulsions brèves

L'intensité temporelle du champ est définie comme $I(t) = \vec{\mathcal{E}}(t).\vec{\mathcal{E}}^{\star}(t)$, et son intensité spectrale est $I(\omega) = \vec{\mathcal{E}}(\omega).\vec{\mathcal{E}}^{\star}(\omega)$, son énergie $J = \int_{-\infty}^{\infty} dt I(t) = \frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{\infty} d\omega I(\omega)$.[1]

Pour un champ $\vec{E}(t)$ donné, on notera τ son instant d'arrivée et ω sa fréquence centrale définis par

$$\int_{-\infty}^{\infty} dt\ t\ \frac{I(t)}{I} = \tau \quad \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega'}{2\pi}\ \omega'\ \frac{I(\omega')}{I} = \omega \tag{A.6}$$

L'impulsion femtoseconde typique s'écrira sous forme d'un champ polarisé linéairement porté par un vecteur unitaire $\vec{u}$, et pouvant s'écrire sous la forme du produit d'une enveloppe $\mathcal{A}(t)$ et d'une porteuse à la fréquence ω :

$$\vec{E}(t) = E(t)\vec{u} = (\mathcal{E}(t) + \mathcal{E}^{\star}(t))\,\vec{u} \tag{A.7}$$

$$\mathcal{E}(t) = \mathcal{A}(t)\exp(-i\omega t) \tag{A.8}$$

Toutes ces quantités (I, E, $\mathcal{E}$,$\mathcal{A}$,ω,$\vec{u}$,τ), munies d'un indice p, s ou r, se réfèreront aux impulsions pompe, sonde, ou référence.

A.3 Temps et délais

Par convention, l'impulsion pompe fixe l'origine des temps : $\tau_p = 0$. Le temps coïncide alors avec le délai par rapport à la pompe.

Pour un champ $\mathcal{E}(t)$ donné, nous désignerons par $\mathcal{E}_\tau(t) = \mathcal{E}(t-\tau)$ le même champ temporel décalé de τ. $\mathcal{P}_\tau(t)$ désigne la polarisation crée par le champ $\mathcal{E}_\tau(t)$, la dépendance en l'impulsion sonde et la fonction de réponse étant implicite.

A.4 Réponse linéaire, stationnaire, non-stationnaire, et non linéaire-stationnaire

Nous appelons réponse linéaire une réponse du milieu au champ électrique incident telle que s'applique un principe de superposition. C'est-à-dire que la polarisation $\mathcal{P}$ induite par la somme de 2 champs $\mathcal{E}_1 + \mathcal{E}_2$ est la somme des polarisations $\mathcal{P}_1$ et $\mathcal{P}_2$ induites par chacun de ces champs. En ce sens, l'équation 2.1 page 16 est linéaire, c'est d'ailleurs la réponse linéaire la plus générale envisageable.

Nous appelons réponse linéaire-stationnaire une réponse linéaire décrivant un milieu dont les propriétés sont invariantes par translation dans le temps. Une telle réponse est donnée par l'équation 2.3 page 16.

Avec une telle terminologie, il est possible, avec une réponse linéaire, de décrire une polarisation rayonnant à des fréquences absentes du spectre du champ incident.

1. En toute rigueur, il faut multiplier toutes ces quantités par un facteur $\frac{1}{2}\sqrt{\frac{\epsilon_0}{\mu_0}}$ pour obtenir l'expression des densités temporelles et spectrales d'énergie. $I(\omega)$ n'est pas la transformée de Fourier de $I(t)$.

Cependant, le langage courant à tendance a appeler réponse linéaire ce qui est ici défini comme réponse linéaire-stationnaire, nous prendrons donc la précaution de ne pas employer le terme *ambigu* de réponse linéaire. L'emploi du terme susceptibilité linéaire n'est pas considéré comme ambigu et se rapporte à une réponse linéaire stationnaire décrite par une susceptibilité $\chi^{(1)}$.

Nous appelons finalement réponse non linéaire-stationnaire une réponse qui ne possède pas la qualité linéaire-stationnaire,[2] ce qui correspond à une réponse (éventuellement non-linéaire) qui autorise la polarisation à émettre à de nouvelles fréquences.

A.5 Formulaire

Les impulsions gaussiennes saturent les relations d'incertitude

$$\Delta^{\text{stddev}}\omega\Delta^{\text{stddev}}t \geq \frac{1}{2} \quad \text{ou encore} \quad \Delta^{\text{FHWM}}\nu\Delta^{\text{FHWM}}t \geq \frac{2\ln(2)}{\pi} \approx 0.4413 \tag{A.9}$$

$$\Delta^{\text{FHWM}}\omega = 2\sqrt{2\ln(2)}\ \Delta^{\text{stddev}}\omega \approx 2.3548\ \Delta^{\text{stddev}}\omega \tag{A.10}$$

Si

$$\phi(\omega) = \phi_0 + \omega\phi' + \frac{(\omega-\omega_0)^2}{2}\phi'' \tag{A.11}$$

alors

$$\begin{aligned}&\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\ e^{-i\omega t}e^{-\frac{(\omega-\omega_0)^2}{2\Delta\omega^2}}e^{i\phi(\omega)} = \\ &e^{i\phi_0}\sqrt{\frac{1}{2\pi|\phi''|}}\frac{e^{-i(\frac{\pi}{4}sign(\phi'')-\frac{1}{2}\arctan(\frac{1}{\phi''\Delta\omega^2}))}}{\sqrt[4]{1+\frac{1}{\phi''^2\Delta\omega^4}}}e^{-\frac{(t-\phi')^2}{2\Delta\omega^2\phi''^2(1+\frac{1}{\phi''^2\Delta\omega^4})}}e^{-i\frac{(t-\phi')^2}{2\phi''(1+\frac{1}{\phi''^2\Delta\omega^4})}}e^{-i\omega_0(t-\phi')}\end{aligned} \tag{A.12}$$

Cette formule établit le profil temporel d'une impulsion ayant un spectre gaussien et une phase spectrale quadratique et donne

$$\Delta^{\text{FHWM}}t = \sqrt{(\Delta^{\text{FHWM}}\omega)^2(\phi'')^2\left(1+\frac{16(\ln(2))^2}{\phi''^2(\Delta^{\text{FHWM}}\omega)^4}\right)} \tag{A.13}$$

2. à ne pas confondre avec une éventuelle réponse non-linéaire stationnaire.

Annexe B

Convolution par une pompe de durée finie

Dans le but d'examiner la prise en compte de l'effet de la durée finie de l'impulsion pompe dans les différentes types d'expériences envisagées, nous nous intéressons à l'expression[1] suivante :

$$S(\tau_2,\tau_1) = \mathrm{Im}\left\{\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}^{\star}_{\tau 2}(t) \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \Delta\mathcal{R}(t,t')\mathcal{E}_{\tau_1}(t')\right\} \tag{B.1}$$

qui intervient dans l'expression des différents signaux (cf. équations 2.49 page 29 et 2.62 page 31). Cette quantité fait intervenir deux champs $\mathcal{E}_2(t) = \mathcal{E}_{\tau_2}(t)$ et $\mathcal{E}_1(t) = \mathcal{E}_{\tau_2}(t)$ éventuellement confondus dans le cas pompe-sonde.

Le signal pompe-sonde intégré spectralement s'écrit $S(\tau) = S(\tau,\tau)$.

Notons $\Delta\tau = \tau_2 - \tau_1$, et posons

$$S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_1) = S(\tau 1 + \Delta\tau,\tau_1). \tag{B.2}$$

il s'agit, selon le délai τ_1, d'un terme croisé dans une expérience pompe-sonde dans laquelle la sonde est constituée de deux impulsions identiques décalées temporellement d'un délai $\Delta\tau$.

Si maintenant τ_1 est fixé, on obtient en fonction du délai $\Delta\tau$, un signal de détection homodyne référencée :

$$S^{\mathrm{dhr}}_{\tau_1}(\Delta\tau) = S(\tau_1 + \Delta\tau,\tau_1) \tag{B.3}$$

D'après 2.7 page 18, nous avons

$$S(\tau_2,\tau_1) = \mathrm{Im}\left\{\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}^{\star}_{\tau 2}(t) \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \int_{-\infty}^{\infty} dt_p\ I_p(t_p)\Delta r(t-t_p,t'-t_p)\mathcal{E}_{\tau_1}(t')\right\}. \tag{B.4}$$

Posons

$$s(\tau_2,\tau_1) = \mathrm{Im}\left\{\int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}^{\star}_{\tau 2}(t) \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \Delta r(t,t')\mathcal{E}_{\tau_1}(t')\right\} \tag{B.5}$$

1. Nous ne faisons pas intervenir l'aspect tensoriel de la fonction de réponse.

ainsi que

$$s^{\mathrm{dhr}}_{\tau_1}(\Delta\tau) = s(\tau_1+\Delta\tau,\tau_1), \quad s^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_1) = s(\tau_1+\Delta\tau,\tau_1) \quad \text{et} \quad s(\tau) = s(\tau,\tau). \tag{B.6}$$

En effectuant dans B.4 le changement de variable

$$(t,t') \mapsto (t+t_p,t'+t_p), \tag{B.7}$$

nous obtenons

$$S(\tau_2,\tau_1) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p \; I_p(t_p) s(\tau_2-t_p,\tau_1-t_p), \tag{B.8}$$

soit, pour le signal de détection homodyne autoréférencée :

$$S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_1) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p \; I_p(t_p) s^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau_1-t_p), \tag{B.9}$$

et pour le signal pompe-sonde ($\Delta\tau = 0$):

$$S(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p \; I_p(t_p) s(\tau-t_p). \tag{B.10}$$

L'effet de la durée finie pompe, dans notre modèle, et pour ces deux signaux est donc une convolution par l'intensité pompe du signal qui serait obtenu dans le cas d'une pompe infiniment brève. Cette convolution rend les simulations moins coûteuses en temps, puisque l'on utilise alors une convolution par la durée pompe sur une seule dimension, contrairement à ce qu'implique le calcul direct de $\mathcal{R}(t,t')$ à partir de l'équation 2.7 page 18.

Dans le cas des expériences de détection homodyne référencée, les expériences effectuées avec une pompe de durée finie ne sont pas une convolution par la durée de la pompe de la même expérience réalisée avec une pompe impulsionnelle :

$$S^{\mathrm{dhr}}_{\tau_1}(\Delta\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_p \; I_p(t_p) s^{\mathrm{dhr}}_{\tau_1-t_p}(\Delta\tau) \tag{B.11}$$

Annexe C

Approximation adiabatique

Lorsque la matrice densité est exprimée dans une base qui dépend du temps, l'équation de Bloch se trouve modifiée.

Plaçons nous dans le cadre où l'on possède un hamiltonien dépendant du temps $H_0(t)$ et une base «adiabatique» d'états propres dépendants du temps de cet hamiltonien $\{|a(t)\rangle,|b(t)\rangle,\ldots\}$ telle que $H_0(t)|x(t)\rangle = \hbar\omega_x(t)|x(t)\rangle$

$|x(t)\rangle$ a une norme constante : $\langle x|\frac{d|x\rangle}{dt}$ est imaginaire pur : $\langle x(t)|\frac{d|x(t)\rangle}{dt} + \frac{d\langle x(t)|}{dt}|x(t)\rangle = 0$.

L'équation d'évolution de la matrice densité pour le système décrit par $H_0(t)$ et soumis à une perturbation $W(t)$ est alors

$$\frac{d\rho}{dt} = \frac{1}{i\hbar}[H_0(t) + W(t),\rho] \tag{C.1}$$

Les termes supplémentaires par rapport à la même équation exprimée dans une base fixe vont apparaître dans le premier terme de l'équation C.1 :

$$\rho = \sum_{ab} \rho_{ab}|a\rangle\langle b| \qquad \frac{d\rho}{dt} = \sum_{ab} \frac{d\rho_{ab}}{dt}|a\rangle\langle b| + \sum_{ab} \rho_{ab}(\frac{d|a\rangle}{dt}\langle b| + |a\rangle\frac{d\langle b|}{dt}) \tag{C.2}$$

La projection sur $|a\rangle\langle b|$, donnée par l'opération $Tr(|b\rangle\langle a|\cdot)$, du premier terme de l'équation C.1 donne

$$\frac{d\rho_{ab}}{dt} + \sum_{a'b'} \rho_{a'b'}\mathrm{Tr}(\frac{d|a'\rangle}{dt}\langle b'|b\rangle\langle a| + |b\rangle\langle a|a'\rangle\frac{d\langle b'|}{dt}) = \tag{C.3}$$

$$\frac{d\rho_{ab}}{dt} + \sum_{a'} \rho_{a'b}\langle a|\frac{d|a'\rangle}{dt} + \sum_{b'} \rho_{ab'}\frac{d\langle b'|}{dt}|b\rangle = \tag{C.4}$$

$$\frac{d\rho_{ab}}{dt} + \rho_{ab}(\langle a|\frac{d|a\rangle}{dt} + \frac{d\langle b|}{dt}|b\rangle) + (\rho_{aa} - \rho_{bb})\frac{d\langle a|}{dt}|b\rangle \tag{C.5}$$

$$+ \sum_{c\neq a,b} (\rho_{cb}\langle a|\frac{d|c\rangle}{dt} + \rho_{ac}\frac{d\langle c|}{dt}|b\rangle) \tag{C.6}$$

Notre objectif est de nous restreindre à un système à deux niveaux, négligeons donc le terme C.6. Pour un véritable système à deux niveaux, l'égalité entre les termes C.3 et C.5 est alors exacte.

Dans une telle approximation, l'équation d'évolution des populations n'est pas modifiée (faire $a = b$ dans C.5 page précédente).

En revanche, il faut ajouter à l'équation d'évolution de la cohérence :

- une modification de la fréquence $\delta\omega(t) = -i(\langle a|\frac{d|a\rangle}{dt} + \frac{d\langle b|}{dt}|b\rangle)$ qui ne modifie pas la structure de l'équation 2.8 page 18;
- un terme source $(\rho_{bb} - \rho_{aa})\frac{d\langle a|}{dt}|b\rangle = -\frac{d\langle a|}{dt}|b\rangle$ dans le cas où nous nous plaçons ($\rho_{aa} \approx 1$ et $\rho_{bb} << 1$).

Nous supposerons donc la variation des états propres assez lente pour que ce terme source supplémentaire soit négligeable par rapport à $\frac{\vec{E}(t).\vec{\mu}_{ba}(t)}{\hbar}$ dans l'équation 2.8 page 18.

Annexe D

Calcul pour la représentation temps-fréquence

Ce calcul exprime

$$S_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1} = \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \mathcal{E}_2^\star(t) \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{R}(t,t')\mathcal{E}_1(t'), \tag{D.1}$$

à l'aide d'une fonction de Wigner. Dans l'intégrale D.1, effectuons le changement de variable

$$(t,t') \longmapsto (t + \frac{t'}{2}, t - \frac{t'}{2}), \tag{D.2}$$

nous obtenons

$$S_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1} = \int_{-\infty}^{\infty} dt\ \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ \mathcal{R}(t + \frac{t'}{2}, t - \frac{t'}{2})\mathcal{E}_2^\star(t + \frac{t'}{2})\mathcal{E}_1(t - \frac{t'}{2}). \tag{D.3}$$

Écrivons

$$\mathcal{E}_2^\star(t + \frac{t'}{2})\mathcal{E}_1(t - \frac{t'}{2}) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi}\ e^{i\omega t'} W_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1}(t,\omega) \tag{D.4}$$

avec

$$W_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1}(t,\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dt''\ \mathcal{E}_2^\star(t + \frac{t''}{2})\mathcal{E}_1(t - \frac{t''}{2}) e^{-i\omega t''} \tag{D.5}$$

et substituons l'équation D.4 dans l'équation D.3. En intégrant sur t', nous obtenons finalement

$$S_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1} = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{dt\ d\omega}{2\pi} W_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1}(t,\omega) \mathcal{R}^W(t,\omega) \tag{D.6}$$

avec

$$\mathcal{R}^W(t,\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dt'\ e^{i\omega t'} \mathcal{R}(t + \frac{t'}{2}, t - \frac{t'}{2}). \tag{D.7}$$

Ce calcul est utilisé dans le cas où les champs $\mathcal{E}_1$ et $\mathcal{E}_2$ sont égaux, auquel cas $W_{\mathcal{E}_2^\star \mathcal{E}_1}(t,\omega)$ est la fonction de Wigner de cet unique champ telle qu'elle est définie à l'équation 3.38 page 55. Elle est alors réelle.

Le cas où les champs $\mathcal{E}_1$ et $\mathcal{E}_2$ ne coïncident pas correspond à une expérience utilisant un champ excitateur $\mathcal{E}_1$ et un champ de référence $\mathcal{E}_2$. Dans ce cas, la fonction de Wigner *croisée* D.5 page précédente est une quantité complexe. [1]

De manière analogue, $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ s'exprime à partir de la fonction de réponse dans le domaine spectral

$$\mathcal{R}^W(t,\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega'}{2\pi}\ \mathcal{R}(\omega + \frac{\omega'}{2},\omega - \frac{\omega'}{2})e^{-i\omega' t}. \tag{D.8}$$

La période des oscillations temporelles et spectrales de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ est reliée à la fonction de réponse dans le domaine spectral et temporel. Ainsi, la transformée de Fourier de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ selon t,

$$\widetilde{\mathcal{R}^W_t}(\Omega,\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dt\ e^{i\Omega t}\mathcal{R}^W(t,\omega), \tag{D.9}$$

et s'exprime (d'après D.8) à partir de la fonction de réponse dans le domaine spectral :

$$\widetilde{\mathcal{R}^W_t}(\omega - \omega',\frac{\omega + \omega'}{2}) = \mathcal{R}(\omega,\omega'). \tag{D.10}$$

De même, la transformée de Fourier inverse de $\mathcal{R}^W(t,\omega)$ selon ω,

$$\widetilde{\mathcal{R}^W_\omega}(t,T) = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{d\omega}{2\pi}\ e^{-i\omega T}\mathcal{R}^W(t,\omega), \tag{D.11}$$

est reliée (d'après D.7 page précédente) à la fonction de réponse dans le domaine temporel :

$$\widetilde{\mathcal{R}^W_\omega}(t,T) = \mathcal{R}(t + \frac{T}{2},t - \frac{T}{2}). \tag{D.12}$$

1. Il faut distinguer cette quantité des termes croisés qui apparaissent lorsque l'on calcule la fonction de Wigner d'une somme de deux champs 3.4.3.1 page 56 qui sont eux réels.

Annexe E

Calcul pour l'expérience de détection homodyne autoréférencée

En prenant comme champ incident la séquence de deux impulsions

$$\mathcal{E}_\tau(t) + e^{i\Delta\phi}\mathcal{E}_\tau(t-\Delta\tau), \tag{E.1}$$

le signal pompe-sonde intégré spectralement s'écrit, d'après 3.20 page 45 :

$$S_{\Delta\tau}(\tau) = \mathrm{Im}\left(\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega}{2\pi}\int_{-\infty}^{\infty}\frac{d\omega'}{2\pi}\,\mathcal{E}_\tau^\star(\omega)(1+e^{-i\omega\Delta\tau}e^{-i\Delta\phi})\Delta\mathcal{R}(\omega,\omega')\mathcal{E}_\tau(\omega')(1+e^{i\omega\Delta\tau}e^{i\Delta\phi})\right). \tag{E.2}$$

Nous obtenons, en fonction de τ, deux fois le même signal pompe-sonde décalé d'une quantité $\Delta\tau$ et un terme croisé qui est le terme interférométrique recherché dans les expériences de détection homodyne autoréférencée :

$$S_{\Delta\tau}(\tau) = S(\tau) + S(\tau+\Delta\tau) + S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau). \tag{E.3}$$

Le terme croisé est calculé dans le cas d'une sonde infiniment large avec la réponse 3.24 page 46. Il y a quatre contributions dans le terme croisé (les termes énumérés ci-dessous proviennent de $\mathcal{R}(t,t')$ et non de la réponse différentielle $\Delta\mathcal{R}(t,t')$) :

$$(\theta(-\tau)\theta(\Delta\tau)+\theta(-\tau-\Delta\tau)\theta(-\Delta\tau))|\mu_i|^2\mathrm{Re}\left(e^{-i\Delta\phi}e^{-i\omega_i\Delta\tau}e^{-\Gamma|\Delta\tau|}\right)+ \tag{E.4}$$

$$((\theta(\tau)\theta(\Delta\tau)+\theta(\tau+\Delta\tau)\theta(-\Delta\tau))|\mu_f|^2\mathrm{Re}\left(e^{-i\Delta\phi}e^{-i\omega_f\Delta\tau}e^{-\Gamma|\Delta\tau|}\right)+ \tag{E.5}$$

$$(\theta(-\tau)\theta(\tau+\Delta\tau)+\theta(\tau)\theta(-\tau-\Delta\tau))\mathrm{Re}\left(-|\mu_i|^2e^{-i\Delta\phi}e^{-i\omega_i\Delta\tau}e^{-\Gamma|\Delta\tau|}\right)+ \tag{E.6}$$

$$(\theta(-\tau)\theta(\tau+\Delta\tau)+\theta(\tau)\theta(-\tau-\Delta\tau))\mathrm{Re}\left(\mu_i^\star e^{-i\Delta\phi}\mu_f e^{-i(\omega_f-\omega_i)\tau}e^{-i\omega_f\Delta\tau}e^{-\Gamma|\Delta\tau|}\right). \tag{E.7}$$

Les deux derniers termes proviennent des termes correspondants 3.30 page 46 et 3.31 page 46.

Les préfacteurs sont symétriques dans l'échange des délais des deux impulsions $(\tau,\Delta\tau) \to (\tau',\Delta\tau') = (\tau+\Delta\tau, -\Delta\tau)$, ils ne dépendent que des positions relatives des impulsions par

rapport à l'instant d'arrivée de la pompe $\tau_p = 0$. Ces quatre termes rendent compte de la polarisation induite :

- E.4 page précédente rend compte du *déclin de la polarisation* à la fréquence initiale selon $\Delta\tau$ lorsque la première des deux impulsions arrive avant le délai zéro;
- E.5 page précédente rend compte du *déclin de la polarisation* à la fréquence finale lorsque la première des deux impulsions arrive après le délai zéro;
- et E.6 page précédente et E.7 page précédente rendent tous les deux compte de la polarisation perturbée par la pompe qui contribue au signal croisé lorsque les deux impulsions arrivent de part et d'autre du délai zéro mais seul le terme E.7 page précédente dépend du délai τ global de la séquence d'impulsions.

Plaçons nous maintenant dans le cas d'une expérience différentielle, il faut retrancher le terme E.4 de *déclin de la polarisation* non perturbé. Si de plus, nous nous plaçons dans une configuration où les deux impulsions se trouvent de part et d'autre de l'impulsion pompe, ($\tau < 0$ et $\tau + \Delta\tau > 0$), le terme E.5 est nul et le signal provenant du terme croisé différentiel est alors la somme des deux termes E.6 et E.7, il s'écrit donc :

$$S^{\mathrm{dha}}_{\Delta\tau}(\tau) = \mathrm{Re}\left(\mu_i^\star e^{-i\Delta\phi} e^{-\Gamma\Delta\tau}(\mu_f e^{-i(\omega_f-\omega_i)\tau} e^{-i\omega_f\Delta\tau} - \mu_i e^{-i\omega_i\Delta\tau})\right) \tag{E.8}$$

Références

[1] T. Burmester, B. Ebner, B. Weich, et T.Hankeln, Cytoglobin : A Novel Globin Type Ubiquitously Expressed in Vertebrate Tissues, **19**, 416 (2002).

[2] J. M. Kriegl, A. J. Bhattacharyya, K. Nienhaus, P. Deng, O. Minkow, et G. U. Nienhaus, Ligand Binding and Protein Dynamics in Neuroglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 79 (2002).

[3] X. D. Tang, R. Xu, M. F. Reynolds, M. L. Garcia, S. H. Heinemann, et T. Hoshi, Haem Can Bind to and Inhibit Mammalian Calcium-Dependent Slo1 BK Channels, *Nature* **425**, 531 (2003).

[4] M. Négrerie, L. Bouzhir-Sima, J.-L. Martin, et U. Liebl, Control of Nitric Oxide Dynamics by Guanylate Cyclase in its Activated State, *J. Biol. Chem.* **276**, 46815 (2001).

[5] U. Liebl, L. Bouzhir-Sima, M. Négrerie, J.-L. Martin, et M. H. Vos, Ultrafast Ligand Rebinding in the Heme Domain of the Oxygen Sensors FixL and Dos: General Regulatory Implications for Heme-Based Sensors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 12771 (2002).

[6] M. Négrerie, V. Berka, M. H. Vos, U. Liebl, J.-C. Lambry, A.-L. Tsai, et J.-L. Martin, Geminate Recombination of Nitric Oxide to Endothelial NO-Synthase and Mechanistic Implications, *J. Biol. Chem.* **274**, 24694 (1999).

[7] U. Liebl, G. Lipowski, M. Négrerie, J.-C. Lambry, J.-L. Martin, et M. H. Vos, Coherent Reaction Dynamics in a Bacterial Cytochrome C Oxydase, *Nature* **401**, 181 (1999).

[8] J.-C. Lambry, M. H. Vos, et J.-L. Martin, Molecular Dynamics Simulations of Carbon Monoxide Dissociation from Heme A3 in Cytochrome C Oxydase from Paracoccus Denitrificans, *J. Phys. Chem. A* **103**, 10132 (1999).

[9] Y. Gaudin et J.-L. Martin, *Physiologie Moléculaire et Physiologie de la Cellule*, Ecole Polytechnique, 2003.

[10] J. Kendrew, R. Dickerson, B. Strandberg, R. Hart, D. Davis, D. Phillips, et V. Shore, Structure of Myoglobin. A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 2 $\mathring{A}$ Resolution, *Nature* **185**, 422 (1960).

[11] M. Perutz, M. Rossman, A. Cullis, H. Muirhead, G. Will, et A. North, Structure of Haemoglobin. A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 5.5 $\mathring{A}$ Resolution, *Nature* **185**, 416 (1960).

[12] L. Stryer, *Biochemistry/Lubert Stryer.—4th Ed.*, W. H. Freeman and Company, 1995.

[13] J. Monod, J. Wyman, et J. Changeux, On the Nature of Allosteric Transitions : A Plausible Model, *J. Mol. Biol.* **12**, 88 (1965).

[14] M. Perutz, Stereochemistry of Cooperative Effects in Hemoglobin, *Nature* **228**, 726 (1970).

[15] U. Flogel, M. Merx, A. Godecke, U. Decking, et J. Schrader, Myoglobin: A Scavenger of Bioactive NO, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 735 (2001).

[16] J. K. S. Møller et L. H. Skibsted, Nitric Oxide and Myoglobins, *Chem. Rev.* **102**, 1167 (2002).

[17] H. Wajcman et L. Kiger, L'hémoglobine, Des Micro-Organismes À L'homme : Un Motif Structural Unique, Des Fonctions Multiples, *C. R. Biologies* **325**, 1159 (2002).

[18] R. Dickerson et I. Geis, *Hemoglobin*, Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA., 1983.

[19] E. Antonini et M. Brunori, *Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands*, North-Holland, Amsterdam, 1971.

[20] E. E. D. Iorio, W. Yu, C. Calonder, K. H. Winterhalter, G. D. Sanctis, G. Falcioni, F. Ascoli, B. Giardina, et M. Brunori, Protein Dynamics in Mn-myoglobin : Is the Central Core Of Myoglobin the Conformational Domain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 2025 (1993).

[21] K. A. Merchant, W. G. Noid, D. E. Thompson, R. Akiyama, R. F. Loring, et M. D. Fayer, Structural Assignments and Dynamics of the A Substates of MbCO: Spectrally Resolved Vibrational Echo Experiments and Molecular Dynamics Simulations, *J. Phys. Chem. B* **107**, 4 (2003).

[22] S. Franzen, An Electrostatic Model for the Frequency Shifts in The Carbonmonoxy Stretching Band of Myoglobin: Correlation Of Hydrogen Bonding and the Stark Tuning Rate, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 13271 (2002).

[23] G. S. Kachalova, A. N. Popov, et H. D. Bartunik, A Steric Mechanism for Inhibition of CO Binding to Heme Proteins, *Science* **284**, 473 (1999).

[24] E. Sigfridsson et U. Ryde, Theoretical Study of the Discrimination Between O2 and CO by Myoglobin, *J. Inorg. Biochem.* **91**, 116 (2002).

[25] A. Ansari, J. Berendzen, S. F. Bowne, H. Frauenfelder, I. E. T. Iben, T. B. Sauke, E. Shyamsunder, et R. D. Young, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 5000 (1985).

[26] M. Lim, T. A. Jackson, et P. A. Anfinrud, Mid-Infrared Vibrational Spectrum of CO After Photodissociation from Heme : Evidence for a Ligand Docking Site in the Heme Pocket of Hemoglobin and Myoglobin, *J. Chem. Phys.* **102**, 4355 (1995).

[27] D. Viktup, G. Petsko, et M. Karplus, A Comparison Between Molecular Dynamics and X-Ray Results for Dissociated CO in Myoglobin, *Nat. Struct. Biol.* **4**, 202 (1997).

[28] F. Schott, M. Lim, T. A. Jackson, A. V. Smirnov, J. Soman, J. S. Olson, G. P. Jr., M. Wulff, et P. A. Anfinrud, Watching a Protein as It Functions with 150-Ps Time-Resolved X-Ray Crystallography, *Science* **300**, 1944 (2003).

[29] R. F. Tilton, I. D. Kuntz, et G. A. Petsko, Cavities in Proteins : Structure of a Metmyoglobin-Xenon Complex Solved to 1.9, *Biochemistry* **23**, 2849 (1984).

[30] M. Brunori, Structural Dynamics of Myoglobin, *Biophys. Chem.* **86**, 221 (2000).

[31] M. Brunori, B. Vallone, F. Cutruzzola, C. Travaglini-Allocatelli, J. Berendzen, K. Chu, R. M. Sweeti, et I. Schlichting, The Role of Cavities in Protein Dynamics : Crystal Structure of a Photolytic Intermediate of a Mutant Myoglobin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 2058 (2000).

[32] J. L. Martin, A. Migus, C. Poyart, Y. Lecarpentier, R. Astier, et A. Antonetti, Femtosecond Photolysis of CO-Ligated Protoheme and Hemoproteins – Appearance of a Deoxy Species with a 350-Fs Time Constant., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**, 173 (1983).

[33] J. W. Petrich, C. Poyart, et J.-L. Martin, Photophysics and Reactivity of Heme Proteins : A Femtosecond Absorption Study of Hemoglobin, Myoglobin and Protoheme, *Biochemistry* **27**, 4049 (1988).

[34] S. Franzen, L. Kiger, C. Poyart, et J.-L. Martin, Heme Photolysis Occurs by Ultrafast Excited State Metal-to-Ring Charge Transfer, *Biophys. J.* **80**, 2372 (2001).

[35] D. Ye et Champion, Measurements of the Photodissociation Quantum Yield of MbNO, MbO2 and the Vibrational Relaxation of the 6 Coordinate Heme Species, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 5914 (2002).

[36] C. Ramos, E. Ramírez, C. Ruiz, R. Pietri, J. L. Garriga, J. Helbing, et M. Chergui, *Investigation of the Carbonmoxide and Oxy Hemoglobin I Complexes From Lucina Pectinata by Femtosecond Transient Absorption*, p. 720, A. Douhal and J. Santamaria (World Scientific), 2002.

[37] R. B. Dyer, K. A. Peterson, P. O. Stoutland, et W. H. Woodruff, Picosecond Infrared Study of the Photodynamics of Carbonmonoxy-Cytochrome C Oxydase, *Biochemistry* **33**, 500 (1994).

[38] J. Meller et R. Elber, Computer Simulations of Carbon Monoxyde Photodissociation in Myoglobin : Structural Interpretation of the B States, *Biophys. J.* **74**, 789 (1998).

[39] E. E. Rovira, Schulze et Parrinello, Influence of the Heme Pocket Conformation on the Structure and Vibrations of He Fe-CO Bond in Myoglobin : A QM/MM Density Functional Study, *Biophys. J.* **81**, 435 (2001).

[40] M. Karplus, Molecular Properties from Combined QM/MM Methods. I. Analytical Second Derivative and Vibrational Calculations, *J. Chem. Phys.* **112**, 1133 (2000).

[41] T. Li, M. L. Quillin, G. N. P. Jr., et J. S. Olson, Structural Determinants of the Stretching Frequency of CO Bound to Myoglobin, *Biochemistry* **33**, 1433 (1994).

[42] D. Boehning et S. H. Snyder, Carbon Monoxide and Clocks, *Science* **298**, 2339 (2002).

[43] E. M. Dioum, J. Rutter, J. R. Tuckerman, G. Gonzalez, M.-A. Gilles-Gonzalez, et S. L. McKnight, NPAS2: A Gas-Responsive Transcription Factor, *Science* **298**, 2385 (2002).

[44] S. Aano, N. H., K. Saito, et M. Okada, A Novel Heme Protein That Acts as a Carbon Monoxyde-Dependant Transcriptional Activator in *Rhodospirillum rubrum*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **228**, 752 (1996).

[45] D. Shelver, R. L. Kerby, Y. He, et G. P. Roberts, CooA, a CO-Sensing Transcription Factor from *Rhodospirillum rubrum*, is a CO-Binding Heme Protein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 11216 (1997).

[46] D. E. Baranano, C. D. Ferris, et S. H. Snyder, Atypical Neural Messengers, *Trends Neurosci.* **24**, 99 (2001).

[47] B.-S. Vojtechovsky, Chu et Schlichting, Crystals Structure of Myoglobin-Ligand Complexes at Near-Atomic Resolution, *Biophys. J.* **77**, 2153 (1999).

[48] A. Dong et W. S. Caughey, Infrared Methods for Study of Hemoglobin Reactions and Structures, *Methods Enzymol.* **232**, 139 (1994).

[49] J. O. Alben, D. Beece, S. F. Bowne, W. Doster, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, D. Good, J. D. McDonald, M. C. Marden, P. P. Moh, L. Reinisch, A. H. Reynolds, E. Shyamsunder, et K. T. Yue., Infrared Spectroscopy of Photodissociated Carboxymyoglobin at Low Temperatures., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 3744 (1982).

[50] M. Lim, T. Jackson, et P. A. Anfinrud, Binding of CO to Myoglobin from a Heme Pocket Docking Site to Form Nearly Linear Fe-C-O, *Science* **269**, 962 (1995).

[51] D. E. Sagnella, J. E. Straub, T. A. Jackson, M. Lim, et P. A. Anfinrud, Vibrational Population Relaxation of Carbon Monoxyde in the Heme Pocket of Photolysed Carbonmonoxy Myglobin: Comparison of Time-Resolved Mid-IR Absorbance Experiments and Molecular Dynamics Simulations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 14324 (1999).

[52] M. Lim, T. A. Jackson, et P. A. Anfinrud, Ultrafast Rotation and Trapping of Carbon Monoxyde Dissociated from Myoglobin, *Nat. Struct. Biol.* **4**, 209 (1997).

[53] F. Mathey et A. Sevin, *Chimie Moléculaire Des Éléments de Transition – Un Dialogue Entre Théorie et Expérience*, Ecole Polytechnique, 2000.

[54] R. B. Dyer, K. A. Peterson, P. O. Stoutland, et W. H. Woodruff, Ultrafast Photoinduced Ligand Transfert in Carbonmonoxy Cytochrome C Oxydase. Observation by Picosecond Infrared Spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 6276 (1991).

[55] M. R. Armstrong, J. P. Ogilvie, M. L. Cowan, A. M. Nagy, et R. J. D. Miller, Observation of the Cascaded Atomic-to-Global Length Scales Driving Protein Motion, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 4990 (2003).

[56] Rosca, Kumar, Ionascu, Sjodin, Demidov, et Champion, Wavelength Selective Modulation in Femtosecond Pump-Probe Spectroscopy and its Application to Heme Proteins, *J. Chem. Phys.* **114**, 10884 (2001).

[57] M.-L. Groot, M. H. Vos, I. Schlichting, F. V. Mourik, M. Joffre, J.-C. Lambry, et J.-L. Martin, Coherent Infrared Emission from Myoglobin Crystals : An Electric Field Measurement, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 1323 (2002).

[58] A. Bonvalet, J. Nagle, V. Berger, A. Migus, J.-L. Martin, et M. Joffre, Femtosecond Infrared Emission Resulting from Coherent Charge Oscillations in Quantum Wells, *Phys. Rev. Lett.* **76**, 4392 (1996).

[59] M. Joffre, D. Hulin, J.-P. Foing, J.-P. Chambaret, A. Migus, et A. Antonetti, Dynamics and Fourier Transform Studies of the Excitonic Optical Stark Effect, *IEEE J. Quant. Elec.* **25**, 2505 (1989).

[60] F. Fournier, W. Zheng, S. Carrez, H. Dubost, et B. Bourguignon, A Restructuring of the CO/Pt(111) Surface Induced by Femtosecond Laser Pulses?, *Surf. Sci.* **528**, 177 (2003).

[61] F. Fournier, Spectroscopie Non-Linéaire Femtoseconde de Molécules Adsorbées et Dynamique de L'interaction Adsorbat-Substrat: Application À CO, À la Glace et Aux Molécules Auto-Assemblées sur Pt(111), Pd(111), Au(111)., *Thèse de Doctorat*, Université Paris XI Orsay, 2003.

[62] A. T. Kumar, F. Rosca, A. Widom, et P. M. Champion, Investigations of Amplitude and Phase Excitation Profiles in Femtosecond Coherence Spectroscopy, *J. Chem. Phys.* **114**, 701 (2001).

[63] M. Joffre, L'effet Stark Optique Dans Les Semiconducteurs, *Thèse de Doctorat*, Ecole Polytechnique, 1989.

[64] C. Cohen-Tannoudji, J. Dupont-Roc, et G. Grynberg, *Processus D'interaction Entre Photons et Atomes*, InterEditions/Editions du CNRS, 1996.

[65] S. Mukamel, *Principles of Nonlinear Optical Spectroscopy*, Oxford University Press, 1995.

[66] M. Joffre, *Optique Non-Linéaire (Cours Du DEA de Mécanique Quantique)*, Ecole Polytechnique, 2003.

[67] W. P. de Boeij, M. S. Pshenichnikov, et D. A. Wiersma, Short-Time Solvatation Dynamics Probed by Phased-Locked Heterodyned-Detected Pump-Probe, *Chem. Phys. Lett.* **247**, 264 (1995).

[68] M. F. Emde, W. P. de Boeij, M. S. Pshenichnikov, et D. A. Wiersma, Spectral Interferometry as an Alternative to Time-Domain Heterodyning, *Opt. Lett.* **22**, 1338 (1997).

[69] H.-S. Tan et W. S. Warren, Mid Infrared Pulse Shaping by Optical Parametric Amplification and its Application to Optical Free Induction Decay Measurement, *Optics Express* **11**, 1021 (2003).

[70] M. Joffre, D. Hulin, A. Migus, A. Antonetti, C. B. Guillaume, N. Peyghambarian, M. Lindberg, et S. W. Koch, Coherent Effects in Pump-Probe Spectroscopy of Excitons, *Opt. Lett.* **13**, 276 (1988).

[71] S. L. McCall et E. L. Hahn, *Phys. Rev. Lett.* **18**, 908 (1967).

[72] H. M. Gibbs et R. Slusher, *Phys. Rev. Lett.* **24**, 638 (1970).

[73] J. P. Sokoloff, M. Joffre, B. Fluegel, D. Hulin, M. Lindberg, S. Koch, A. Migus, et A. Antonetti, Transient Oscillations in the Vicinity of Excitons and in the Band of Semiconductors, *Phys. Rev. B* **38** (1988).

[74] P. Hamm, Coherent Effects in Femtosecond Infrared Spectroscopy, *Chem. Phys.* **200**, 415 (1995).

[75] C. L. Tobias Guenther, V. M. A. Thomas Elsaesser, Markus Glanemann, S. E. Tilmann Kuhn, et A. D. Wieck, Coherent Nonlinear Optical Response of Single Quantum Dots Studied by Ultrafast Near-Field Spectroscopy, *Phys. Rev. Lett.* **89**, 057401 (2002).

[76] N. Belabas, Spectroscopie Femtoseconde Cohérente Bidimensionnelle Dans L'infrarouge, *Thèse de Doctorat*, Ecole Polytechnique, 2002.

[77] N. Belabas et M. Joffre, Visible-Infrared Two-Dimensional Fourier-Transform Spectroscopy, *Opt. Lett.* **27**, 2043 (2002).

[78] L. Lepetit et M. Joffre, Two-Dimensional Nonlinear Optics Using Fourier-Transform Spectral Interferometry, *Opt. Lett.* **21**, 564 (1996).

[79] I. Rubtsov, J. Wang, et R. Hochstrasser, Dual Frequency 2D-IR of Peptide Amide-A and Amide-I Modes, *J. Chem. Phys.* **118**, 7733 (2003).

[80] M. Joffre, Comment on "Coherent Nonlinear Optical Response of Single Quantum Dots Studied by Ultrafast Near-Field Spectroscopy", *Phys. Rev. Lett.* **90**, 139701 (2002).

[81] C. J. Bardeen, Q. Wang, et C. V. Shank, Femtosecond Chirped Pulse Excitation of Vibrational Wave Packets in LD690 and Bacteriorhodopsin, *J. Phys. Chem. A* **102**, 2759 (1998).

[82] J. D. Hybl, A. W. Albrecht, S. G. Faeder, et D. M. Jonas, Two-Dimensional Electronic Spectroscopy, *Chem. Phys. Lett.* **297**, 307 (1998).

[83] D. M. Jonas, Two-Dimensional Femtosecond Spectroscopy, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **54**, 425 (2003).

[84] J. Paye, Applications of the Chronocyclic Representation of Ultrashort Light Pulses, in *Ultrafast Phenomena IX*, 1994.

[85] J. Paye, Fabry-Perot Non-Linéaire et Effet Stark Optique, *Thèse de Doctorat*, Ecole Polytechnique, 1992.

[86] E. Péronne, Dynamique Électronique dans les Fils et les Boîtes Quantiques InAs/AlInAs Sondée par Spectroscopie Femtoseconde Infrarouge, *Thèse de Doctorat*, Ecole Polytechnique, 2002.

[87] M. K. Reed et M. K. S. Shepard, Tunable Infrared Generation Using a Femtosecond 250 KHz Ti:Sapphire Regenerative Amplifier, *IEEE J. Quant. Elec.* **32**, 1273 (1996).

[88] A. Bonvalet, Spectroscopie Infrarouge Femtoseconde, *Thèse de Doctorat*, Ecole Polytechnique, 1997.

[89] M. Joffre, A. Bonvalet, A. Migus, et J.-L. Martin, Femtosecond Diffracting Fourier-Transform Infrared Interferometer, *Opt. Lett.* **21**, 964 (1996).

[90] V. A. Gregory D. Goodno et R. J. D. Miller, Diffractive Optics-Based Heterodyne-Detected Grating Spectroscopy: Application to Ultrafast Protein Dynamics, *J. Phys. Chem. B* **103**, 603 (1999).

[91] Y. K. Tianquan Lian, Bruce Locke et R. M. Hochstrasser, Energy Flow from Solute to Solvent Probed by Femtosecond IR Spectroscopy: Malachite Green and Heme Protein Solutions, *J. Phys. Chem.* **98**, 11648 (1994).

Ligand transfer in heme proteins
studied by impulsive infrared spectroscopy

Ligand transfer (of diatomics such as O_2, CO, NO, CN...)in heme proteins is an integral part of many biological functions such as storage and ligand transport, enzymatic catalysis and ligand detection. A thorough knowledge of these mechanisms underlying the ligand transfer from the heme binding site to the protein exterior is essential to understand how these heme proteins accomplish their function : discriminate between ligands, shuttle them from the solvent to the heme pocket and vice versa, and react to external signals.

The ligand transfer from the heme binding site to the exterior of the protein involves different stages with timescales spanning several orders of magnitude. Our study deals with the very first events of the ligand transfer which occur on the femtosecond timescale. In the case of myoglobin case, this event is the transfer of the ligand from the heme to a nearby site called docking-site, which is the first site the ligand reaches on its way to the solvent. We monitor this transfer using infrared (5 μm) femtosecond pulses which directly probe the CO ligand vibrational changes during the transfer.

The vibrational dephasing time of the CO ligand (1 picosecond) is longer than the dynamics of the transfer. Therefore, coherent effects arise and forbid a direct interpretation of spectrally resolved transmission experiments at short pump-probe time delays. We avoid these effects by using two complementary methods. In a first experimental configuration, the transmission of the sample is spectrally integrated, we are thus insensitive to coherent effects. In such a scheme, a very sensitive detection is required in order to access the weak differential signal (10^{-5}). In a second experimental configuration, we monitor the ligand vibration during the transfer by recording the emitted field of the CO. The homodyne detection of this field requires phased-locked mid-IR pulses.

We developed a non-stationary response function which describes the sample response and allows the simulation of these two kinds of experiments. We also introduce a novel time-frequency representation of the non-stationary response function.

We performed experiments on myoglobin, a reference system for the ligand transfer study. In this protein, spectrally integrated differential transmission experiments showed a progressive decay of the oscillator strength of the ligand during the transfer. Simulations based on a phenomenological model support this interpretation. Surprisingly, the oscillator strength change does not follow the quasi-instantaneous vibrational frequency change. To our knowledge, this is the first report on a progressive decay of the vibrational oscillator strength following the breaking of a chemical bond. This oscillator strength correlated to heme-ligand distance is a potential probe of the ligand transfer.

Key words

Infrared femtosecond spectroscopy	Ligand transfer
Heme proteins (Myoglobin)	Vibrational transition
Pump probe-experiments	Coherent effects
Homodyne detection	Non-stationary response function

Spectroscopie infrarouge impulsionnelle appliquée au transfert de ligands dans les hémoprotéines

Le transfert de ligands – de petites molécules telles que O_2, NO, CO, CN... – dans les hémoprotéines est un processus situé au cœur de nombreuses fonctions biologiques : stockage et transport de ligands, catalyse enzymatique, ou encore détection de ligands. L'aptitude de ces protéines à accomplir leur fonction s'appuie en particulier sur leur capacité à discriminer les différents ligands et à les transférer de façon réversible de l'hème vers le solvant.

Les différentes étapes du transfert de ligand du site de liaison, l'hème, à l'extérieur de la protéine, ont lieu sur des échelles de temps couvrant plusieurs ordres de grandeur. Notre étude concerne les premières étapes du transfert de ligand qui se déroulent à l'échelle femtoseconde. Il s'agit dans le cas de la myoglobine du passage du ligand de l'hème à un site voisin à l'intérieur de la poche de l'hème (dit docking-site). Nous accédons au transfert grâce à une sonde située dans le domaine infrarouge moyen (5 μm). Ainsi, nous sommes directement sensibles aux changements de la vibration du ligand CO au cours du transfert.

Le temps de déphasage vibrationnel du ligand CO (1 picoseconde) est long devant la dynamique du transfert. Ceci est à l'origine d'effets de cohérence et interdit, aux temps courts, une interprétation simple des expériences de transmission résolues spectralement. Afin de s'affranchir de ces effets, nous avons mis en place et utilisé deux méthodes complémentaires. Dans une première configuration expérimentale, la transmission de l'échantillon est intégrée spectralement, l'obtention du signal faible (10^{-5}) a nécessité une détection d'une grande sensibilité. Dans une deuxième configuration, nous accédons à la vibration du ligand au cours du transfert par la détection homodyne du champ émis par le ligand au cours du transfert. Cette approche originale de détection du champ émis a nécessité la stabilisation en phase d'une séquence d'impulsions infrarouge.

Nous avons développé une fonction de réponse non-stationnaire qui décrit la réponse de l'échantillon et permet la simulation de ces deux types d'expériences. Nous présentons également une représentation spectro-temporelle originale de la réponse non-stationnaire.

Nous avons mené des expériences sur la myoglobine, une hémoprotéine qui est un système de référence pour l'étude du transfert de ligand. Dans cette protéine, nos expériences de transmission différentielle intégrée spectralement ont permis d'observer une diminution progressive de la force d'oscillateur du ligand au cours du transfert. Cette interprétation est confirmée par des simulations basées sur un modèle phénoménologique. De façon surprenante, cette variation de force d'oscillateur ne suit pas le changement quasi-instantanée de la fréquence vibrationnelle. A notre connaissance, il s'agit de la première observation d'une diminution progressive de la force d'oscillateur vibrationnelle suite à la rupture d'une liaison chimique. Corrélée à la distance hème-ligand, cette force d'oscillateur est potentiellement une sonde du transfert de ligand.

Mots-clefs

Spectroscopie infrarouge femtoseconde	Transfert de ligand
Hémoprotéines (Myoglobine)	Transition vibrationnelle
Expériences pompe-sonde	Effets de cohérence
Détection homodyne	Fonction de réponse non-stationnaire