

## VII. Zusammenfassung

Für die Durchführung von annihilationsfreien transienten Absorptionsmessungen mit unabhängig durchstimmbarer Pump- und Testwellenlänge im ps Zeitbereich an Systemen mit vielen gekoppelten Chromophoren wurde eine hochrepetitive und hochempfindliche Meßapparatur aufgebaut. Zur Umsetzung der sehr hohen Anforderungen an diese Apparatur wurden zwei modengekoppelte Farbstofflaser und deren Cavity Dumper synchronisiert, die Pulszüge beider Laser moduliert und frequenzselektiv die doppelte Modulation der Signale detektiert.

Somit konnte ein sehr niedriges Rauschniveau von typischerweise  $2\text{-}5 \cdot 10^{-5}$  OD, eine Kreuzkorrelationsbreite von 10-12 ps und ein kontinuierlich einstellbarer Zeitbereich von 4 ns erreicht werden. Durch die elektronische Synchronisation der Cavity Dumper sind weiterhin längere Verzögerungszeiten in 12 ns Schritten möglich. Die Anregungs- und Testwellenlänge sind zwischen 550 nm und 800 nm wählbar.

Durch den Einsatz der kombinierten Fluoreszenz- und Absorptionsdifferenzmessungen konnten die Vorteile beider Verfahren genutzt werden. Die Methode des *time-correlated single photon counting* ergibt ein hohes Signal/Rausch Verhältnis und erlaubt die Identifizierung strahlender Zustände. Absorptionsdifferenzmessungen hingegen sind auch sensitiv gegenüber nichtstrahlenden transienten Zuständen, wie z. B. dem primären Radikalpaar in PS II,  $\text{P}^+\text{Pheo}^-$ . Das hohe Signal/Rausch Verhältnis der Fluoreszenzkinetik konnte zur Unterstützung der Auswertung der transienten Absorptionsdaten mit genutzt werden.

Zeitaufgelöste Absorptions- und Fluoreszenzmessungen an PS II Kernkomplexen aus *Spirulina* und dem Cyanobakterium *Synechococcus el.* können erstmals eine Äquilibrierungskomponente der Anregungsenergie innerhalb der Antenne und dem primären Donator auflösen. Fluoreszenzmessungen bei unterschiedlichen Anregungswellenlängen zwischen 670 und 700 nm an offenem (sekundärer Akzeptor  $\text{Q}_A$  oxidiert) und geschlossenem PS II ( $\text{Q}_A$  reduziert) beider Präparationen zeigen – abgesehen von der Amplitude der Äquilibrierungskomponente – keine Wellenlängenabhängigkeit in der Fluoreszenzkinetik. Das, in Verbindung mit dem großen Fluoreszenzanstieg bei Schließen der RZ, unterstützt den *trap*-limitierten Charakter der Ladungstrennung in PS II.

Sowohl in der Fluoreszenz- als auch in der Absorptionskinetik von PS II mit geschlossenem RZ konnte eine schnelle,  $\sim 50$  ps Komponente detektiert und durch die Targetanalyse der Absorptionkinetiken anhand der SADS eindeutig der primären Ladungstrennung zugeordnet werden. Damit ist die Einstellzeit des Gleichgewichts zwischen angeregtem und primärem

ladungsgetrenten Zustand in PS II Kernkomplexen mit geschlossenen RZ vergleichbar mit der in offenen RZ.

Modellierungen der Kinetik offener PS II mit dem *excited state- radical pair equilibrium* Modell und der Kinetik geschlossener PS II mit diesem Modell erweitert um zwei relaxierte Radikalpaare, um dem multiexponentiellen Zerfall Rechnung zu tragen, ergeben eine gute Beschreibung der Fluoreszenz- und Absorptionsdifferenzkinetiken bis 4 ns. Die Ratenkonstante der Ladungstrennung verringert sich für beide Präparationen um den Faktor 2.5 bei Schließen der RZ, die der Ladungsrekombination erhöht sich um den Faktor 7-8 bei Spinat und um den Faktor 5 bei *Synechococcus el.* Somit sind sowohl die Hin- als auch die Rückrate der primären Ladungstrennung vom Redoxzustand des RZ stark abhängig. Damit ist der Anstieg der Fluoreszenzintensität bei Schließen der Zentren keinem der beiden in der Literatur diskutierten Grenzfälle, der prompten oder der verzögerten Fluoreszenz, zuzuordnen, die nur die Änderung jeweils einer der beiden Ratenkonstanten implizieren.

Die Relaxation des primären Radikalpaares in PS II mit geschlossenen RZ findet schon im sub-ns Bereich, im gleichen Zeitbereich wie die Ladungsstabilisierung in offenen PS II statt. Dies ist vergleichbar zu dem Verhalten isolierter PS II Reaktionszentren und PS II Präparationen mit dem ladungsneutralen doppelt reduzierten  $Q_AH_2$ . Auch wenn die Verhältnisse nicht direkt auf offene PS II übertragbar sind, so ist jedoch denkbar, daß in offenen PS II eine Überlagerung der Ladungsstabilisierungskinetik durch Radikalpaarrelaxation stattfindet. Ein Hinweis darauf sind die 180-230 ps, die hier der Ladungsstabilisierung zugeordnet wurden, aber etwas kürzer als bisher mit unabhängigen Methoden gemessene Zeiten sind.

Die Fluoreszenzkinetiken der beiden Kernkomplexpräparationen sind für offene RZ sehr ähnlich. Für die Radikalpaarbildung und den ersten Relaxationsschritt in geschlossenen RZ sind auch große Übereinstimmung in der Kinetik festzustellen. Abweichungen in der Kinetik geschlossener RZ treten nur bei den Zeiten und Amplituden der beiden ns Komponenten, bei den langsameren Relaxationsschritten des Radikalpaares  $P^+Pheo^-$ , auf. Damit zeigen die Präparationen aus höheren Pflanzen und Cyanobakterien auch in der Energie- und Ladungstransferkinetik große Gemeinsamkeiten.