

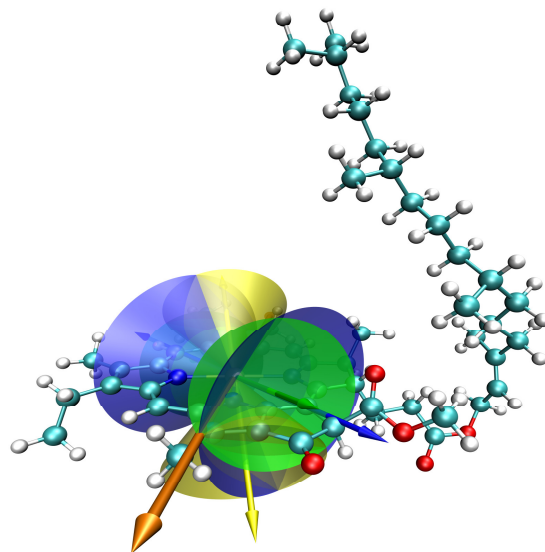
Freie Universität



Berlin

# Analyse von Photorezeptoren und Antennenpigmenten mit Ultraschneller Polarisationsaufgelöster Infrarotspektroskopie

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des  
**Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)**  
eingereicht im Fachbereich Physik der Freien Universität Berlin



vorgelegt von  
**Martin Linke**  
aus Frankfurt (Oder)  
– Juli 2012 –

„Si un hombre nunca se contradice, sera porque nunca dice nada.“  
Miguel de Unamuno.

(„Wenn ein Mensch sich nie widerspricht, so liegt das wohl daran,  
daß er nie etwas zu sagen hat.“)

Erstgutachter (Betreuer):  
Zweitgutachter:

Prof. Dr. Karsten Heyne  
Prof. Dr. Robert Bittl

Disputation:

22.10.2012

## Abstract

This work is embedded in the framework of the Sonderforschungsbereich 498 ‘Protein-Cofactor Interactions in Biological Processes’ as part of the project B11 ‘Analysis of light-induced vibrational structures of photoreceptors and antenna pigments’. It is focused on a better understanding of the geometrical structures, their changes and the fundamental interactions of the first reaction steps and the signal transduction of cyclic and linear tetrapyrroles.

For this purpose, a modified ultrafast polarization-resolved infrared spectroscopy has been implemented. This experimental method allows the analysis of the ground state, electronically excited states and initial product states of the photoreceptors and pigments in terms of structural and dynamic aspects. Thus, it can for example determine relative angles between excited electronic transition dipole moments and probed transition dipole moments of the molecular vibrations. The transition dipole moments are directly associated with the conformation of the chromophores. Hence, a combination of the relative angles with density functional theory calculations provides access to geometric and dynamic knowledge that would not be accessible to conventional infrared spectroscopy. The presented experimental approach found its application in the analysis of different tetrapyrroles and the laser dye coumarin 314, which enabled a detailed characterization.

As the most important representative of the cyclic tetrapyrroles chlorophyll *a* (Chl *a*) was analyzed, a pigment that plays an essential role in the primary energy and electron transfer in photosynthesis. A prerequisite for the understanding of chlorophyll-chlorophyll interactions is the knowledge of the exact orientation of the electronic transition dipole moment  $\vec{\mu}_{el}$  of the Q<sub>y</sub>-band within the structure of the Chl *a*. For the first time,  $\vec{\mu}_{el}$  was determined in three dimensions of the pigments in soluted form:  $\vec{\mu}_{el} = (0.19/0.98/0.07)$ .  $\vec{\mu}_{el}$  differs by  $(12 \pm 3)^\circ$  from the Y-axis and rises by  $(4 \pm 2)^\circ$  out of the chlorin plane. The rotation of the Chl *a* molecules in the solvent toluene-d<sub>8</sub> was observed with a time constant of  $\tau = (90 \pm 10)$  ps.

The research in the field of bacterial phytochromes is a relatively new field. Their chromophores, linear tetrapyrroles, are characterized by a reversible photoisomerization, by which the phytochromes control many biological processes as photoreceptors. The phytochrome Agp1 of *Agrobacterium tumefaciens* (wild type and locked) was analyzed in this work. The spectral heterogeneity of the absorption spectrum of Agp1 was proven unambiguously and the absorption band at 644 nm was assigned to the electronic S<sub>0</sub> → S<sub>2</sub> transition for the first time. Furthermore, it was demonstrated that the most probable conformation of the chromophore in the ground state is the *ZZZssa* conformation and that the *ZZZasa* conformation can be excluded. An electronic excitation of the chromophore also results in a bi-exponential dynamic. The excitation energy is partly redistributed by localized vibrational relaxation via the ring D in the electronically excited state with a time constant of  $\tau = 5, 5$  ps (with error range of 4 to 8 ps).

## Kurzfassung

Diese Arbeit entstand im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 498 „Protein-Kofaktor-Wechselwirkungen in biologischen Prozessen“ als Teil des Projektes B11 „Analyse der lichtinduzierten Schwingungsstrukturen der Photorezeptoren und Antennenpigmente“. Sie dient dem besseren Verständnis der geometrischen Strukturen, ihrer Veränderungen sowie der grundlegenden Wechselwirkungen der ersten Reaktionsschritte und der Signalweiterleitung von zyklischen und linearen Tetrapyrrolen.

Zu diesem Zweck wird eine modifizierte Methode der ultraschnellen polarisationsaufgelösten Infrarotspektroskopie vorgestellt, deren Verwendung die Analyse des Grundzustandes, des elektronisch angeregten Zustandes sowie der ersten Produktzustände der Photorezeptoren und Pigmente in struktureller sowie dynamischer Hinsicht erlaubt. So können z. B. relative Winkel zwischen den angeregten elektronischen Übergangsdipolmomenten und den abgetasteten Übergangsdipolmomenten der molekularen Schwingungen bestimmt werden. Da diese direkt mit der Konformation der Chromophore assoziiert sind, erhält man durch Kombinationen der bestimmten relativen Winkel mit Dichtefunktionaltheorie-Berechnungen Zugriff auf weitergehendes geometrisches und dynamisches Wissen, welches mit der herkömmlichen Infrarotspektroskopie nicht zugänglich ist. Der hier realisierte experimentelle Ansatz fand seine Anwendung in der Analyse verschiedener Tetrapyrrole sowie dem Laserfarbstoff Coumarin 314, der eine detaillierte Charakterisierung ermöglichte.

Als bedeutendster Vertreter der zyklischen Tetrapyrrole wurde das Chlorophyll *a* (Chl *a*) untersucht, ein Pigment, dem eine wesentliche Rolle beim primären Energie- und Elektronentransfer der Photosynthese zukommt. Eine Voraussetzung für das Verständnis der Chlorophyll-Chlorophyll-Wechselwirkungen ist das Wissen der exakten Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmoments  $\vec{\mu}_{el}$  der  $Q_y$ -Bande innerhalb der Struktur des Chl *a*. Sie wurde erstmalig dreidimensional in gelöster Form der Pigmente bestimmt zu:  $\vec{\mu}_{el} = (0, 19/0, 98/0, 07)$ .  $\vec{\mu}_{el}$  weicht um  $(12 \pm 3)^\circ$  von der Y-Achse ab und ragt um  $(4 \pm 2)^\circ$  aus der Ebene des Chlorinringes heraus. Die Eigenrotation der Chl *a*-Moleküle innerhalb des Lösungsmittels Toluol- $d_8$  konnte mit einer Zeitkonstanten von  $\tau = (90 \pm 10)$  ps beobachtet werden.

Die Forschungen auf dem Gebiet der bakteriellen Phytochrome sind ein relativ neues Feld. Deren Chromophore, die linearen Tetrapyrrole, zeichnen sich durch eine reversible Photoisomerisation aus, wodurch die Phytochrome als Photorezeptoren viele biologische Prozesse steuern können. Das Phytochrom Agp1 des *Agrobacterium tumefaciens* (Wildtyp sowie sterisch gelockt) wurde in dieser Arbeit analysiert. Es konnte eine spektrale Heterogenität des Absorptionsspektrums von Agp1 zweifelsfrei belegt und erstmalig der elektronische Übergang  $S_0 \rightarrow S_2$  der Absorptionsbande bei 644 nm zugeordnet werden. Es wurde demonstriert, dass die wahrscheinliche Konformation des Chromophors im Grundzustand der Konformation *ZZZssa* entspricht und die Konformation *ZZZasa* ausgeschlossen werden kann. Eine elektronische Anregung des Chromophors führt ferner zu einer bi-exponentiellen Dynamik. Ein Teil der Anregungsenergie wird mit einer Zeitkonstanten von  $\tau = 5,5$  ps (mit Fehlerbereich von 4 bis 8 ps) durch lokal begrenzte Schwingungsrelaxation am Ring D im elektronisch angeregten Zustand abgeleitet.

---

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>vii</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>xiii</b>
<b>Abkürzungen, Fremdwörter und Erklärungen</b>	<b>xv</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Experimentelle Methoden</b>	<b>5</b>
2.1. Femtosekunden polarisationsaufgelöste UV/Vis <i>Pump</i> – IR <i>Probe</i> Spektroskopie . . . . .	5
2.2. UV/Vis - IR - Aufbau . . . . .	10
2.3. Erzeugung der Anregungspulse . . . . .	13
2.4. Erzeugung der Abtastpulse . . . . .	14
2.5. Überlagerung zur Signalerzeugung . . . . .	15
2.6. Proben- und Messkammer . . . . .	17
2.7. Signaldetektion und -verarbeitung . . . . .	18
2.8. Berechnung von Struktur und Übergangsdipolmomenten im Grundzustand	20
<b>3. Analytische Methoden</b>	<b>23</b>
3.1. Korrektur der heterogenen Überlagerung der Anrege- und Abtaststrahlen	23
3.2. Perturbed Free Induction Decay . . . . .	25
3.3. Fehlerbehandlung durch Exhaustive Search Analyse . . . . .	27
3.4. Dichroitisches Verhältnis und Winkelberechnung . . . . .	28
3.5. 3D-Lageberechnung durch Winkelkombination . . . . .	30
<b>4. Chlorophyll <i>a</i> – Dreidimensionale Orientierung des <math>Q_y</math> Übergangsdipolmoments</b>	<b>37</b>
4.1. Intention . . . . .	37
4.2. Proben und Durchführung . . . . .	38
4.3. Vis- und IR-Absorptionsspektren . . . . .	40
4.4. Dynamik im elektronischen Grundzustand und angeregten Zustand . . .	45
4.5. Zerfallsassoziierte Spektren . . . . .	48
4.6. Dichroitische Verhältnisse und relative Winkel . . . . .	49
4.7. 3D-Lage des $Q_y$ -Übergangsdipolmoments von Chl <i>a</i> . . . . .	51

4.8. Zusammenfassung und Ausblick . . . . .	56
<b>5. Coumarin 314 – Einfluss einer isomeren Mischung</b>	<b>59</b>
5.1. Intention . . . . .	59
5.2. Proben und Durchführung . . . . .	60
5.3. Theoretische Berechnungen . . . . .	60
5.4. 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments – 4-Vektoren-Analyse	65
5.5. Mischungsverhältnis der Isomere . . . . .	67
5.6. Einfluss einer isomeren Minorität . . . . .	69
5.7. Zusammenfassung und Ausblick . . . . .	72
<b>6. Agrobacterium Phytochrom Agp1 – Heterogenität der Absorptionsbanden</b>	<b>75</b>
6.1. Intention . . . . .	75
6.2. Proben und Durchführung . . . . .	76
6.3. Absorptionsspektrum von Agp1-15Za . . . . .	78
6.4. Anregung bei 713 nm: Transiente Signale . . . . .	79
6.5. Anregung bei 644 nm: Transiente Signale . . . . .	82
6.6. Anregung bei 400 nm: Transiente Signale . . . . .	84
6.7. Zerfallsassoziierte Spektren und relative Winkel . . . . .	86
6.8. Heterogenität der Q-Bande . . . . .	91
6.9. Konformation im Grundzustand . . . . .	95
6.10. Messungen an natürlichem Agp1 . . . . .	97
6.11. Zusammenfassung und Ausblick . . . . .	101
<b>7. Zusammenfassung</b>	<b>105</b>
<b>A. Anhang A</b>	<b>107</b>
<b>B. Anhang B</b>	<b>125</b>
<b>C. Anhang C</b>	<b>141</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>147</b>

---

# Abbildungsverzeichnis

---

2.1.	a) Verteilung isotrop orientierter „Moleküle“ im Grundzustand mit Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmomentes (graue Pfeile). b) Photoselektion: Durch Anregung mit linear polarisiertem Licht (vertikal polarisiert) entsteht eine Kosinus-Quadrat-Verteilung angeregter Moleküle. Parallel orientierte ÜDM ( $0^\circ$ ), bzgl. der Polarisation der <i>Pump</i> -Pulse, werden bevorzugt angeregt (blau). Bei $45^\circ$ beträgt die Wahrscheinlichkeit 50% (blau transparent). Die Moleküle im Grundzustand werden wieder durch graue Pfeile dargestellt. . . . .	7
2.2.	E-Isomer von Coumarin 314 in vier verschiedenen Orientierungen, mit elektronischem Übergangsdipolmoment $\vec{\mu}_{el}$ (schwarzer Pfeil), dem Übergangsdipolmoment $\vec{\mu}_{vib}$ der Carbonylschwingung am Ring (orangefarbener Pfeil) und den Translationsvektoren der einzelnen schwingenden Atome der Carbonylstreckmode (blaue Pfeile). . . . .	8
2.3.	Messprinzip: Die Probe wird mit einem vertikal polarisierten <i>Pump</i> -Puls (hellblauer Pfeil) beleuchtet. Moleküle deren $\mu_{el}$ (dunkelblauer Pfeil) parallel zur <i>Pump</i> -Polarisation sind werden bevorzugt angeregt (Photoselektion). Die Lage eine ausgewählten Schwingungsmode der angeregten Moleküle $\mu_{vib}$ (dunkelroter Pfeil) ist nicht genau bekannt, sie kann sich überall auf einer Kegelfläche um $\mu_{el}$ mit dem Öffnungswinkel $\theta$ befinden. Die Probe wird zeitversetzt mit vertikal und horizontal polarisierten <i>Probe</i> -Pulsen abgefragt und der relative Winkel $\theta$ bestimmt. . . . .	9
2.4.	Vereinfachte Darstellung des Messaufbaus. Komponenten: Shutter bzw. automatisierter Strahlblocker (Sh.), Polarisatoren (Pol.), Chopper betrieben bei 544 Hz (Ch.), $\lambda/2$ -Plättchen zur Drehung der <i>Pump</i> -Polarisation um $90^\circ$ , Photodiode für den sichtbaren Spektralbereich (PD), Spektrometer (Spec), MCT-Detektoren, Computer (PC), Verschiebestrecken (DL) und einem Periskop (PK). Die Strahlteiler werden durch weiße Rechtecke dargestellt und die ebenen sowie gekrümmten Spiegel sind grau. . . . .	11
2.5.	Schematische Darstellung der <i>Pump</i> -Erzeugung im Bereich 644 - 713 nm durch optisch parametrische Verstärkung (OPA) bzw. Frequenzverdopplung (SHG) in Beta-Bariumboratkristallen (BBO). Die Zahlenangaben entsprechen den Wellenlängen in nm der Laserpulse. . . . .	13

2.6.	Schematische Darstellung der <i>Pump</i> -Erzeugung bei 455 nm durch optisch parametrische Verstärkung (OPA) bzw. Summenfrequenzerzeugung (SFG) in Beta-Bariumborat- (BBO) bzw. Kaliumtitanylarsenatkristallen (KTA). Die Zahlenangaben entsprechen den Wellenlängen in nm der Laserpulse. . . . .	14
2.7.	Schematische Darstellung der <i>Probe</i> -Erzeugung im Bereich 1150 - 1800 $\text{cm}^{-1}$ (5556 - 8696 nm) durch optisch parametrische Verstärkung (OPA) bzw. Differenzfrequenzerzeugung (DFG) in Beta-Bariumborat- (BBO) bzw. Silberthiogallatkristallen (AGS). Die Zahlenangaben entsprechen den Wellenlängen in nm der Laserpulse. . . . .	15
2.8.	a) Die Polarisationsrichtungen zweier in der Ebene polarisierter Strahlen weichen um den Winkel $\alpha$ ab, der sich aus dem Strahlverlauf ergibt. b) Die Polarisationsrichtungen der Strahlen sind immer senkrecht zueinander, wenn eine der Polarisationsrichtungen senkrecht zur Ebene polarisiert ist. c) Die Polarisationsrichtungen der Strahlen sind immer parallel zueinander, wenn beide Polarisationsrichtungen senkrecht zur Ebene polarisiert sind. d) Verwendete Strahlanordnung bei der räumlichen Überlagerung. Der <i>Pump</i> -Strahl (blau) verläuft zu jeder Zeit mit dem <i>Probe</i> -Strahl (rot) in einer horizontalen Ebene und mit dem <i>Probe</i> -Strahl (grün) in einer vertikalen. Die Strahlen werden im Probenvolumen (gelb) zur Überlagerung gebracht. Die Doppelpfeile geben die Polarisationsrichtungen der Strahlen an. . . . .	16
2.9.	Aufsicht und Querschnitt der verwendeten Probenkammern mit Aluminiumgehäuse (grau), Teflonringen (blau) als Abstandshalter, $\text{BaF}_2$ -Fenstern (gelb) und dem eingeschlossenen Probenvolumen (rot). . . . .	17
2.10.	Messkammer mit zwei elektronisch angesteuerten Schrittmotoren für beliebige Bewegung der Probe (wird zentral eingesetzt) in horizontaler und vertikaler Richtung. . . . .	18
2.11.	Beispiel für eine Relativbewegung zwischen der Probe und den Laserstrahlen nach 2 s (links), 18 s (mitte) und 5 min. (rechts). . . . .	19
3.1.	Exemplarischer räumlicher Überlapp des <i>Pump</i> -Strahls (blau) und der beiden <i>Probe</i> -Strahlen (grün und rot) betrachtet in Ausbreitungsrichtung der Strahlen. . . . .	24
3.2.	a) Elektrisches Feld eines eingehenden <i>Probe</i> -Pulses, das eine kohärente Polarisation anregt, die Licht emittiert (FID). b) Ein zeitlich nach dem <i>Probe</i> -Puls eingehender <i>Pump</i> -Puls verändert das FID-Signal (PFID). Dies äußert sich durch eine Absorptionsänderung der Probe im negativen Zeitbereich. . . . .	26
3.3.	Exemplarisches Ergebnis einer Fehlerkartographie durch ExSeAn. Die einzelnen Farbwerte des asymmetrischen Fehlerbereiches korrespondieren zu verschiedenen Vertrauensbereichen bzw. Wahrscheinlichkeiten der Lösung. Der Farbwert 100 wurde dem Bestwert des <i>Fit</i> zugeordnet. . . . .	28



3.4. Relative Winkel $\theta$ in Abhängigkeit vom dichroitischen Verhältnis D (Gl. 3.10). . . . .	31
3.5. Bestimmung der 3D-Lage des elek. Übergangsdipolmomentes $\vec{\mu}_{el}$ : a) Mit DFT ermittelte geometrieoptimierte Struktur sowie Übergangsdipolmomente der Schwingungsübergänge $\vec{\mu}_{vib1}$ (grün), $\vec{\mu}_{vib2}$ (ocker) und $\vec{\mu}_{vib3}$ (blau). b) $\vec{\mu}_{el}$ muss sich auf dem Kegel um $\vec{\mu}_{vib1}$ befinden, Öffnungswinkel $\theta_1$ exp. bestimmt. c) Bestimmung eines weiteren Winkels $\theta_2$ ( $\rightarrow$ ocker Kegel) reduziert Lösungsmenge des $\vec{\mu}_{el}$ auf 2 Schnittgeraden beider Kegel. d) Exp. Bestimmung eines dritten Winkels fixiert Lage des $\vec{\mu}_{el}$ (grauer Vektor). . . . .	32
3.6. Beispiel für die wahrscheinlichste Lösung der 3D-Lage eines untersuchten $\vec{\mu}_{el}$ (Pfeil). Alle Vektoren vom Mittelpunkt der Einheitskugel zur Lösungsfläche sind Lösungen, deren Wahrscheinlichkeiten farbcodiert sind. Das Koordinatensystem wird von den theoretischen Berechnungen der Struktur sowie der $\vec{\mu}_{vib}$ übernommen. . . . .	35
4.1. Struktur von Chl <i>a</i> , Graphik entnommen vom Datenblatt des Vertreibers.	39
4.2. Vis-Absorptionsspektrum von Chl <i>a</i> gelöst in Toluol- $d_8$ (schwarz) sowie <i>Pump</i> -Profil des Anregungslichts (rot). . . . .	40
4.3. a) IR-Absorptionsspektrum von Chl <i>a</i> gelöst in Toluol- $d_8$ (schwarz). b) IR-Absorptionsspektrum von Toluol- $d_8$ (grau). c) Differenzspektrum (grün), abgetastete Schwingungsbanden markiert. . . . .	41
4.4. Vergrößerter Ausschnitt der IR-Absorptionsspektren der Abb. 4.3. Chl <i>a</i> gelöst in Toluol- $d_8$ (schwarz), Toluol- $d_8$ (grau). a) Mit Faktor 10 skaliertes Differenzspektrum (grüne Dreiecke) im Bereich der abgetasteten Schwingungsbande $\nu_{cc}$ sowie dessen Lorentz Anpassung (blau). b) Mit Faktor 5 skaliertes Differenzspektrum (grüne Dreiecke) im Bereich der abgetasteten Schwingungsbanden $\nu_{co}^a$ und $\nu_{co}^b$ sowie dessen Lorentz Anpassungen (blau bzw. hellgrün). . . . .	42
4.5. Theoretische DFT-Berechnung des Chl <i>a</i> -Moleküls mit der Schwingungs-mode $\nu_{cc} = 1288 \text{ cm}^{-1}$ . Relative Atombewegung (blaue Pfeile), Übergangsdipolmoment der Schwingung (orangefarbener Pfeil). . . . .	43
4.6. Theoretische DFT-Berechnung des Chl <i>a</i> -Moleküls mit der Schwingungs-mode $\nu_{co}^a = 1698 \text{ cm}^{-1}$ . Relative Atombewegung (blaue Pfeile), Übergangsdipolmoment der Schwingung (orangefarbener Pfeil). . . . .	43
4.7. Theoretische DFT-Berechnung des Chl <i>a</i> -Moleküls mit der Schwingungs-mode $\nu_{co}^b = 1739 \text{ cm}^{-1}$ . Relative Atombewegung (blaue Pfeile), Übergangsdipolmoment der Schwingung (orangefarbener Pfeil). . . . .	44
4.8. Dynamik der polarisationsaufgelösten Signale. <i>Probe</i> -Polarisation parallel bzgl. <i>Pump</i> -Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Dreiecke). Daten bi-exponentiell simuliert (Linien) mit $\tau_1 = 90 \text{ ps}$ und $\tau_2 = 5 \text{ ns}$ . . .	46

4.9.	Vergrößerte Dynamik der polarisationsaufgelösten Signale bei $1288\text{ cm}^{-1}$ (Abb. 4.8 c)). <i>Probe</i> -Polarisation parallel bzgl. <i>Pump</i> -Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Punkte). Daten bi-exponentiell simuliert (Linien) mit $\tau_1 = 90\text{ ps}$ und $\tau_2 = 5\text{ ns}$ für positive Verzögerungszeiten und mono-exponentiell mit $\tau_{pfid} = 1080\text{ fs}$ für negative Verzögerungszeiten (PFID). . . . .	47
4.10.	Zerfallsassoziierte Spektren (DAS) im Bereich der Carbonylschwingungen $\nu_{co}^a$ und $\nu_{co}^b$ . <i>Probe</i> -Polarisation parallel bzgl. <i>Pump</i> -Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Punkte). Daten mit vier Lorentzprofilen angepasst (Linien). . . . .	49
4.11.	Zerfallsassoziierte Spektren (DAS) im Bereich der Schwingung $\nu_{cc}$ . <i>Probe</i> -Polarisation parallel bzgl. <i>Pump</i> -Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Punkte). Daten mit zwei Lorentzprofilen angepasst (Linien). . . . .	50
4.12.	Chl <i>a</i> mit den Übergangsdipolmomenten der Schwingungen $\nu_{cc}$ , $\nu_{co}^a$ und $\nu_{co}^b$ (blaue, gelbe und grüne Doppelvektoren). Das elektronische Übergangsdipolmoment muss auf den Kegeln mit den Öffnungswinkeln $\theta_{cc}$ , $\theta_{co}^a$ und $\theta_{co}^b$ (blaue, gelbe und grüne Doppelkegel) liegen und wird durch die Kegelschnittpunkte definiert (orangefarbener Doppelvektor). . . . .	52
4.13.	Chl <i>a</i> mit dem bestimmten Vektor des elektronischen $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes. Einführung des üblichen Koordinatensystems definiert durch die Stickstoffatome des Chlorinringes. . . . .	53
4.14.	Projektionen der Lösungsfläche des elektronischen $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes auf die drei Koordinatenebenen ( $3\text{-}\sigma$ -Fehlerbereich). . . . .	55
5.1.	Die beiden isomeren Strukturen des C314 (a) Z-C314 und (b) E-C314. . . . .	61
5.2.	Abhängigkeit der Energie (blau) sowie der Bindungslänge (lila) vom Torsionswinkel der Bindung zwischen C3 und C19. Die Bindungslängen für Z-C314 und E-C314 sind durch den roten bzw. grünen Punkt bei $180^\circ$ bzw. $0^\circ$ gegeben. Die Barrierehöhe der Rotation vom E-C314 zum Z-C314 beträgt ca. $0,24\text{ eV}$ , der Grundzustand des E-C314 liegt energetisch $0,07\text{ eV}$ tiefer als der des Z-C314. . . . .	62
5.3.	Berechnete IR Schwingungsmoden mit atomarem Versatz (blaue Pfeile) sowie den zugehörigen Übergangsdipolmomenten (orangefarbene Pfeile). (a)-(f) Schwingungsmoden des E-C314: $\nu_1^{cc}$ , $\nu_2^{cc}$ , $\nu_3^{cc}$ , $\nu_4^{cc}$ , $\nu_5^{co}$ und $\nu_6^{co}$ . (g) Schwingungsmoden $\nu_5^{co}$ des Z-C314. . . . .	63
5.4.	Mögliche Orientierungen des elektronischen Übergangsdipolmomentes des E-C314 ausgehend vom Koordinatenursprung. Die 3D-Lösungsflächen wurden jeweils projiziert auf die drei Koordinatenebenen mit farbcodierten Wahrscheinlichkeiten, skaliert auf den jeweiligen Bestwert (dunkelrot). (a) Lösung für $\vec{\mu}_{el,3}$ basierend auf den Schwingungsübergangsdipolmomenten ${}^E\vec{\nu}_1^{cc}$ , ${}^E\vec{\nu}_4^{cc}$ , ${}^E\vec{\nu}_6^{co}$ und (b) $\vec{\mu}_{el,4}$ basierend auf ${}^E\vec{\nu}_1^{cc}$ , ${}^E\vec{\nu}_4^{cc}$ , ${}^E\vec{\nu}_5^{co}$ und ${}^E\vec{\nu}_6^{co}$ . . . . .	66

5.5.	Abhängigkeit des relativen Winkels zwischen dem elektronischen Übergangsdipolmoment und der Schwingungsbande $\vec{\nu}_5^{co}$ in Abhängigkeit vom steigenden Signalanteil $Z_p$ des Z-C314-Isomers. (b) gibt den experimentell ermittelten Wert an mit den Fehlergrenzen (a) bis (c). . . . .	69
5.6.	Projektionen der Lösungsflächen des elektronischen Übergangsdipolmoments von C-314. Verwendete Schwingungsübergangsdipolmomente: ${}^E\vec{\nu}_1^{cc}$ , ${}^E\vec{\nu}_5^{co}$ und ${}^E\vec{\nu}_6^{co}$ . Der relative Winkel für $\nu_5^{co}$ wurde für die äußeren Spalten auf 49° bzw. 72° verschoben. Die mittlere Spalte mit 61° entspricht dem experimentellen Ergebnis für $\nu_5^{co}$ . . . . .	70
6.1.	Konformation des Chromophors 18-Et-BV (schwarz). Die Modifizierung der Struktur mit der zusätzlichen Kohlenstoffkette (rot) zwischen Ring C und D blockiert die Z→E Photoisomerisation. . . . .	77
6.2.	Absorptionsspektrum von Agp1-M15 ZZZ-anti 18-Et-BV (Agp1-15Za, schwarz), <i>Pump</i> -Profile mit Maxima bei 713 nm (rot), 644 nm (grün) und 400 nm (blau). . . . .	79
6.3.	Polarisationsaufgelöste transiente Signale von Agp1-15Za, parallel (schwarzes stehendes Dreieck), senkrecht (rotes hängendes Dreieck). Daten bi-exponentiell simuliert: $\tau_1 = 5,5$ und $\tau_2 = 540$ ps (durchgezogene Linie). Anregungswellenlänge: 713nm. . . . .	80
6.4.	1- $\sigma$ -Fehlerbereich für die bi-exponentielle Simulation der polarisationsaufgelösten transienten Signale mit dem besten Signal- zu Rauschverhältnis, ermittelt mit ExSeAn. Optimaler Wert durch Punkt innerhalb der Fläche angegeben. . . . .	82
6.5.	Polarisationsaufgelöste transiente Signale von Agp1-15Za, parallel (schwarzes stehendes Dreieck), senkrecht (rotes hängendes Dreieck). Daten bi-exponentiell simuliert: $\tau_1 = 5,5$ und $\tau_2 = 540$ ps (durchgezogene Linie). Anregungswellenlänge: 644 nm. . . . .	83
6.6.	Polarisationsaufgelöste transiente Signale von Agp1-15Za, parallel (schwarzes stehendes Dreieck), senkrecht (rotes hängendes Dreieck). Daten bi-exponentiell simuliert: $\tau_1 = 5,5$ und $\tau_2 = 540$ ps (durchgezogene Linie). Anregungswellenlänge: 400 nm. . . . .	85
6.7.	a) Differenziertes Absorptionsspektrum von H <sub>2</sub> O. b)-d) Zerfallsassoziierte Spektren (t=0) jeweils für $\tau_1 = 5,5$ ps (leeres Symbol) und $\tau_2 = 540$ ps (volles Symbol), parallel (Kreis, schwarz), senkrecht (Dreieck, rot). $\tau_1$ -Spektren mit einem und $\tau_2$ -Spektren mit vier Lorentzprofilen simuliert (durchgezogene Linien). . . . .	87
6.8.	a)-c) parallele Spektren von Agp1-15Za, angeregt bei 713, 644 und 400 nm, für verschiedene Verzögerungszeiten zwischen <i>Pump</i> - und <i>Probe</i> -Puls. Minimum der 400 fs Spektren jeweils auf -1 gesetzt, andere Spektren entsprechend skaliert. . . . .	89

6.9. Vergleich polarisationsaufgelöster transienter Signale für die Anregung bei 713 nm (Quadrate) bzw. 644 nm (Kreise), parallel (leeres Symbol), senkrecht (volles Symbol). Signale bi-exponentiell simuliert: $\tau_1 = 5,5$ ps, $\tau_2 = 540$ ps (durchgezogene Linie) und auf die simulierten parallelen Maxima normiert. . . . .	92
6.10. Vergleich polarisationsaufgelöster transienter Signale für die Anregung bei 713 nm (Quadrate) bzw. 644 nm (Kreise), parallel (leeres Symbol), senkrecht (volles Symbol). Signale bi-exponentiell simuliert: $\tau_1 = 5,5$ ps, $\tau_2 = 540$ ps (durchgezogene Linie) und auf die simulierten parallelen Minima „normiert“. . . . .	93
6.11. Agp1-15Za in <i>ZZZssa</i> Konformation. Rote Flächen markieren die Pyrrolringe A-D, die grüne Fläche den zusätzlichen Ring, hervorgerufen durch die „blockierende“ Kohlenstoffkette. Orientierungen der Schwingungsübergangsdipolmomente der $C_1=O$ bzw. $C_{19}=O$ Mode durch rote bzw. blaue Pfeile angegeben. b) Rote, rosa bzw. blaue, cyan Kegel repräsentieren die $1-\sigma$ -Bereichsgrenzen der Orientierung des angeregten elektronischen Übergangsdipolmoments bzgl. der $C_1=O$ bzw. $C_{19}=O$ Schwingung. Möglicher Schnittbereich und Lage des elektronischen ÜDM orange markiert. . . . .	96
6.12. Agp1-15Za in <i>ZZZasa</i> Konformation. Rote Flächen markieren die Pyrrolringe A-D, die grüne Fläche den zusätzlichen Ring, hervorgerufen durch die „blockierende“ Kohlenstoffkette. Orientierungen der Schwingungsübergangsdipolmomente der $C_1=O$ bzw. $C_{19}=O$ Mode durch rote bzw. blaue Pfeile angegeben. b) Rote, rosa bzw. blaue, cyan Kegel repräsentieren die $1-\sigma$ -Bereichsgrenzen der Orientierung des angeregten elektronischen Übergangsdipolmoments bzgl. der $C_1=O$ bzw. $C_{19}=O$ Schwingung. Kein Schnittbereich existent. . . . .	98
6.13. Isotrope Absorptionsänderungsspektren des natürlichen Agp1 für verschiedene Verzögerungszeiten. Anregung erfolgte bei 680 nm. . . . .	99
6.14. Polarisationaufgelöste Transienten des natürlichen Agp1 mit parallelen (schwarze volle Dreiecke) und senkrechten Signalanteilen (rote leere Dreiecke). Daten bi-exponentiell simuliert (durchgezogene Linien) mit $\tau_1 = 1,0$ ps und $\tau_2 = 20$ ps. Agp1-Anregung bei 680 nm. Abtastung bei a) $1680\text{ cm}^{-1}$ und b) $1702\text{ cm}^{-1}$ . . . . .	100
6.15. a) Zerfallsassoziierte Spektren (DAS) des natürlichen Agp1, parallel (schwarze volle Dreiecke) und senkrecht (rote leere Dreiecke). Anregung bei 680 nm. b) Relative Winkel direkt berechnet aus den DAS mit drei ausgewiesenen Plateaus. . . . .	101

---

# Tabellenverzeichnis

---

4.1. Normierte Vektoren der DFT Berechnungen der abgetasteten Übergangsdipolmomente $\vec{\mu}_{cc}$ , $\vec{\mu}_{co}^a$ und $\vec{\mu}_{co}^b$ . Richtung von $\vec{\mu}_{cc}$ gegenüber der Berechnung (Abb. 4.5) invertiert (siehe Text). . . . .	44
5.1. Berechnete Übergangsdipolmomente und deren Orientierungen für ausgewählte Schwingungsmoden. Direkter Vergleich für E-C314 und Z-C314. .	64
5.2. Berechnete permanente Dipolmomente $^E\vec{\mu}_0$ und $^Z\vec{\mu}_0$ sowie elektronische Übergangsdipolmomente $^E\vec{\mu}_{el}$ und $^Z\vec{\mu}_{el}$ jeweils für E-C314 und Z-C314. .	64
5.3. Wahrscheinlichste 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments bestimmt mit drei respektive vier betrachteten Schwingungsbanden sowie die Größe des jeweiligen 1- $\sigma$ -Bereiches bezogen auf den Flächeninhalt einer Halbkugel mit Radius 1. . . . .	67
5.4. Bestimmte wahrscheinlichste 3D-Lagen des elektronischen Übergangsdipolmoments von C-314 für verschiedene Isomeranteile ((a)-(c): 25%, 9% und 0%) von Z-C314, sowie deren Winkelabweichung bzgl. des exp. Ergebnisses (b). . . . .	71
6.1. Überblick der Strahldurchmesser (H/V) im Fokus für den <i>Pump</i> -Strahl sowie den vertikal und horizontal polarisierten <i>Probe</i> -Strahlen jeweils für Experimente mit der Anregungswellenlänge 713 nm, 644 nm und 400 nm. .	78
6.2. Position und Breite der abgetasteten Schwingungsbanden, ermittelt durch Simulation der zerfallsassoziierten Spektren mit vier Lorentzprofilen sowie ExSeAn. Angegeben ist jeweils der Bestwert mit minimalem $\chi^2$ sowie die 1- bis 3- $\sigma$ -Fehlerbereiche. Alle Angaben in $\text{cm}^{-1}$ . . . . .	88
6.3. Vergleich der relativen Winkel zwischen den angeregten elektronischen Übergangsdipolmomenten und den Übergangsdipolmomenten der $\text{C}_{19}=\text{O}$ Streckschwingung bei $1697 \text{ cm}^{-1}$ bzw. der $\text{C}_1=\text{O}$ Streckschwingung bei $1724 \text{ cm}^{-1}$ (im Zustand $\text{S}_1$ sowie $\text{S}_0$ ). Angegeben ist jeweils der Bestwert mit minimalem $\chi^2$ sowie die 1- bis 3- $\sigma$ -Fehlerbereiche. Alle Winkelangaben in $^\circ$ . . . . .	90



---

# Abkürzungen, Fremdwörter und Erklärungen

---

Abkürzung	Bedeutung
18-Et-BV	18-Ethyl-Biliverdin
3D	Dreidimensional
A/D-Wandler	Analog-Digital-Wandler
Agp1	Agrobacterium Phytochrom
Agp1-15Za	Agp1-M15 ZZZ-anti 18-Et-BV
AGS	Silberthiogallat ( $\text{AgGaS}_2$ )
B3LYP	Becke-3-Parameter-Lee-Yang-Parr
BBO	Beta-Bariumborat ( $\beta\text{-BaB}_2\text{O}_4$ )
BV	Biliverdin
C314	Coumarin 314
Chl <i>a</i>	Chlorophyll <i>a</i>
Cph1	Cyanobacterium Phytochrom
DAS	Zerfallsassoziiertes Spektrum ( <i>decay-associated spectrum</i> )
DFG	Differenzfrequenzerzeugung ( <i>difference frequency generation</i> )
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DoF	Freiheitsgrade ( <i>degrees of freedom</i> )
ExSeAn	<i>Exhaustive Search Analyse</i>
FID	<i>Free Induction Decay</i>
Fit	Optimale Anpassung ( <i>fit</i> )
FS-Pol-PPS	Femtosekunden polarisationsaufgelöste UV/Vis <i>Pump</i> - IR <i>Probe</i> Spektroskopie
FTIR	Fourier-Transform-Infrarotspektrometer
FWHM	Halbwertsbreite ( <i>full width half maximum</i> )
GVM	<i>Group Velocity Mismatch</i>
<i>Idler</i>	Langwelliger Teilstrahl nach optisch parametrischer Verstärkung
IR	Infrarot
KTA	Kaliumtitanylarsenat ( $\text{KTiOAsO}_4$ )
MCT	Quecksilber-Cadmium-Tellurid ( <i>mercury cadmium telluride</i> )
NMR	Kernspinresonanz ( <i>nuclear magnetic resonance</i> )
OPA	Optisch Parametrischer Verstärker ( <i>optical parametric amplifier</i> )

PΦB	Phytochromobilin
PCB	Phycocyanobilin
PEB	Phycoerythrobilin
PFID	<i>Perturbed Free Induction Decay</i>
P <sub>fr</sub>	Fernrot-absorbierende Form von Phytochrom
<i>Phase Matching</i>	Phasenabstimmung
PPS	Anrege-Abfrage-Experiment ( <i>pump probe spectroscopy</i> )
P <sub>r</sub>	Rot-absorbierende Form von Phytochrom
<i>Probe</i>	Abtasten, Abtastpuls
<i>Pump</i>	Anregen, Anregepuls
Scan	Einzelner Messdurchlauf
<i>Seed</i>	Injizierender Teilstrahl bei optisch parametrischer Verstärkung
SFG	Summenfrequenzerzeugung ( <i>sum frequency generation</i> )
SHG	Frequenzverdopplung ( <i>second harmonic generation</i> )
<i>Signal</i>	Kurzweiliger Teilstrahl nach optisch parametrischer Verstärkung
Spot	Querschnittsfläche bzw. Durchstoßebene eines Strahls ( <i>spot</i> )
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
ÜDM	Übergangsdipolmoment; elektronisches ÜDM $\vec{\mu}_{el}$ , Vibrations-ÜDM $\vec{\mu}_{vib}$
UV	Ultraviolett ( <i>ultraviolet</i> )
VB	Vertrauensbereich
Vis	Sichtbar ( <i>visible</i> )
WL	Weißlichtkontinuum



---

# 1. Einleitung

---

Das Licht stellt die Grundlage des Lebens auf der Erde dar. Es liefert die notwendige Energie, steuert maßgeblich das Wachstum und die Entwicklung und beeinflusst den Stoffwechsel und das Verhalten der Lebewesen angefangen von photosynthetischen Organismen über Pilze und Bakterien bis hin zu Säugetieren und den Menschen. Das Spektrum der Sonnenstrahlung reicht vom Ultravioletten bis hin zu Mikrowellenstrahlung, das Maximum selbst liegt im für uns sichtbaren Spektralbereich bei ca. 500 nm. Das Licht im sichtbaren Spektralbereich kann von den sogenannten Pigmenten aufgefangen werden, wodurch ihre charakteristische Farbgebung entsteht. Die Pigmente besitzen in der Natur mannigfaltige Bedeutung. Neben ihrer offensichtlichen farbgebenden Eigenschaft, die zum Zwecke der Tarnung fungieren kann, schützen sie ebenso vor ultravioletter Strahlung, ermöglichen das Sehen mit den Augen, dienen dem Sauerstofftransport im Blut und ermöglichen die Energiegewinnung mittels Photosynthese. In der lebenden Natur sind die Tetrapyrrole als universelle Pigmente weit verbreitet. Das am häufigsten vorkommende Pigment auf der Erde ist das Chlorophyll *a*, ein zyklisches Tetrapyrrol, das eine wesentliche Rolle bei der Photosynthese von Pflanzen, Algen und Cyanobakterien spielt [39], der primäre Energie- und Elektronentransfer wird bei photosynthetischen Komplexen von Chlorophyllmolekülen bestimmt. Lineare Tetrapyrrole hingegen sind Bestandteil von Photorezeptorproteinen, der Klasse der sogenannten Phytochrome. Sie detektieren das Licht, verändern reversibel ihre Struktur und dienen so als biologische, lichtempfindliche Schalter [110][116].

Eine große Herausforderung ist das Erkennen und Verstehen der Zusammenhänge der molekularen Struktur dieser Photorezeptorproteine, ihrer temporären strukturellen Änderungen oder der Reaktionszwischenprodukte mit den Funktionen und Reaktionsmechanismen der biologischen Systeme [109][132][138]. Von großer Bedeutung bei Reaktionsmechanismen sind dabei beispielsweise Veränderungen der Wechselwirkungen zwischen Wassermolekülen und lokaler Strukturen der Proteine im thermodynamischen Grundzustand, optimiert durch die natürliche Evolution [17][128][130]. Zur Ermittlung strukturbezogener Informationen von Molekülen gibt es eine Vielzahl unterschiedlicher spektroskopischer Methoden, zu nennen wären z. B.: die Röntgenbeugung [122], die Neutronenstreuung [134], Elektronenmikroskopie [66], Elektronenspinresonanz- [10] und Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) [24], Starkspektroskopie [13][93][133] und Molekularstrahl-Laserspektroskopie [60][102][126]. Aufgrund der unterschiedlichen Stärken der Methoden und deren Anforderungen und Begrenzungen hat jede dieser Methoden seine individuellen Anwendungsgebiete, wodurch sie komplementäre Informationen liefern. Für ein vollständiges Verständnis der Reaktionskaskade der Photorezeptoren ist

beispielsweise eine Erfassung der Reaktionen auf einer Zeitskala von Femtosekunden bis hin zu Sekunden notwendig. Das ist nur durch eine Kombination mehrerer Methoden möglich, NMR operiert z. B. nur im Bereich von Mikrosekunden bis Sekunden.

Es gab in den vergangenen Jahren Bemühungen in der Entwicklung der Femtosekunden-Röntgenbeugung mit der Zielsetzung, ultraschnelle Strukturbestimmungen in Echtzeit durchführen zu können. Problematisch ist jedoch der radioaktive Schaden, vor allem für biologische Moleküle, der während der Messungen verübt wird [99]. Dadurch könnten die Ergebnisse der Untersuchungen durch die abfragenden Röntgenpulse selbst beeinflusst werden. Ferner müssen die Strukturen der Moleküle in kristalliner Phase oder Gasphase nicht identisch sein zum Vorkommen in lebender Materie. Deswegen ist es von vorrangiger Bedeutung Methoden zu entwickeln, die es ermöglichen strukturelle Informationen der Pigmente in gelöster Phase zu erhalten [45][46][69][80][145].

In dieser Arbeit wird demonstriert, dass genau dies mit der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie (FS-Pol-PPS) realisierbar ist. Viele Schwingungen einzelner Atome, Gruppen oder Seitenketten der biologischen Moleküle sind lokal mit der Struktur assoziiert. Tastet man diese mit infraroten (IR) Laserpulsen polarisationsaufgelöst ab, erhält man Zugriff auf die Lage der Schwingungsübergangsdipolmomente und somit auf strukturelle Informationen. Geht man dann einen Schritt weiter und kombiniert diese Messungen mit theoretischen Berechnungen der Moleküle und deren Schwingungen im Grundzustand, so lassen sich sogar Aussagen über die vorliegenden Konformationen treffen, isomere Mischverhältnisse bestimmen und die dreidimensionale (3D) Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments (ÜDM) ermitteln. Die Methode operiert dabei in flüssiger Phase der Moleküle und ist nicht auf spezielle Präparationstechniken angewiesen, welche die Proben bzw. Moleküle mittels externer Kräfte ausrichten.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein experimenteller Aufbau realisiert, der die Durchführung der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie ermöglicht. Bestehend aus mehrstufigen Optisch Parametrischen Verstärkern (OPA) zur Erzeugung der Anregungs- (*Pump*) und Abtastpulse (*Probe*) in den benötigten Wellenlängen und Pulsbreiten wurden zusätzlich einige entscheidende experimentelle Verbesserungen der Anlage eingeführt. Das Prinzip dieser Methode sowie die praktische Umsetzung werden im Detail im Kapitel 2 beschrieben. Zur Ermittlung der experimentellen Befunde war die Analyse enormer Datenmengen notwendig und eine Reihe analytischer Methoden sowie selbstgeschriebene unterstützende Programme fanden dabei ihre Anwendung. Die grundlegenden Schritte dieser Auswertung werden im Kapitel 3 erläutert.

Eingesetzt wurde die Versuchsanordnung zum einen bei der Untersuchung der Pigmente Chl *a*, Coumarin 314 (C314) sowie verschiedener Corrole und zum anderen bei Messungen an bakteriellen Photorezeptoren: den Phytochromen des *Agrobacterium tumefaciens* (Agp1, sowohl mit sterisch gelockten Chromophor als auch dem Wildtyp) und einem Phytochrom des *Cyanobacterium Synechocystis* sp. PCC 6803 (Cph1), jeweils in P<sub>r</sub>- und P<sub>fr</sub>-Form\*. Alle Proben wurden in gelöster Form untersucht.

---

\*Das sterisch gelockte Agp1 lag nicht in P<sub>fr</sub>-Form vor.

Kapitel 4 beschäftigt sich mit den polarisations- und zeitaufgelösten Experimenten an Chl *a* und stellt insbesondere die Bestimmung der 3D Lage des elektronischen ÜDM dieses Moleküls vor. Im Kapitel 5 wird die Leistungsfähigkeit der optischen Spektroskopie im Hinblick auf die Erlangung struktureller Informationen demonstriert. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Reproduzierbarkeit bzw. Zuverlässigkeit der berechneten 3D Lagen der ÜDM sowie der Untersuchung des Einflusses einer isomeren Mischprobe. Abschließend werden in Kapitel 6 die Resultate der Messungen am Agp1 vorgestellt und das Vorhandensein verschiedener elektronischer Übergänge im sichtbaren Spektralbereich aufgezeigt, sowie die Konformation des Chromophors in P<sub>r</sub>-Form bestimmt.



---

## 2. Experimentelle Methoden

---

Das folgende Kapitel behandelt die praktische Umsetzung des experimentellen Aufbaus und erläutert die wesentlichen Elemente. Das eigentliche Messprinzip, auf dem die vorgestellte Methode beruht, wird im nächsten Abschnitt 2.1 dargelegt. Anschließend gehe ich in Abschnitt 2.2 auf den Strahlengang der optischen Versuchsanordnung ein, mit Angabe der Parameter sowie notwendigen Komponenten. Die Abschnitte 2.3 und 2.4 beinhalten Informationen über die mehrstufigen optisch parametrischen Verstärker, die der Erzeugung der Anregungs- und Abtastpulse dienen. Ein wichtiger Aspekt beim Bestreben winkelaufgelöste Messungen durchzuführen, kommt der Gestaltung des Überlapps aller beteiligten Laserstrahlen zu. Er wird deswegen separat im Abschnitt 2.5 besprochen. Die eigens für diese Versuche gebauten Proben- und Messkammern werden im Abschnitt 2.6 thematisiert, gefolgt von der Darstellung der Signaldetektion, -verarbeitung sowie Angaben zur Interpretation der Signale in Abschnitt 2.7. Zum Abschluss werden in Abschnitt 2.8 Anmerkungen zu den Berechnungen mittels Dichtefunktionaltheorie (DFT) gemacht, die zwar theoretischer Natur sind, jedoch zum Gesamtkonzept der Methodik gehören.

### 2.1. Femtosekunden polarisationsaufgelöste UV/Vis *Pump – IR Probe* Spektroskopie

An dieser Stelle wird ausführlich ein modifizierter Ansatz der *Pump-Probe*-Spektroskopie (PPS) [5][97] vorgestellt, um lokale strukturbezogene Informationen von Molekülen in gelöster Form auf einer Zeitskala von Femto- bis Nanosekunden zu erhalten. Die Methode basiert auf einer Kombination aus Berechnungen mit Dichtefunktionaltheorie [31][72][107] im Grundzustand und Femtosekunden polarisationsaufgelöster UV/sichtbar *Pump – IR Probe* Spektroskopie (FS-Pol-PPS) [51][62][80][81][88][95]. Sie ermöglicht es z. B. die dreidimensionale (3D) Orientierung von ausgewählten elektronischen Übergangsdipolmomenten (ÜDM) des untersuchten Moleküls zu bestimmen [82][83][136], vorliegende Konformationen zu ermitteln [83][136], die Zuordnung von Banden zu überprüfen [84][149][150] oder Rotationen des gesamten Moleküls bzw. einzelner atomarer Gruppen des Moleküls\* zu beobachten [151].

DFT Berechnungen werden durchgeführt, um die 3D-Orientierungen der Vibrations-ÜDM im Grundzustand zu berechnen (siehe Abschnitt 2.8), parallel dazu wird die FS-Pol-PPS verwendet, um die relativen Winkel zwischen dem elektronischen ÜDM des

---

\*z. B. des Rings D während der Photoisomerisation linearer Tetrapyrrole

Übergangs  $S_0 \rightarrow S_1$  ( $\vec{\mu}_{el}$ ) und den ausgewählten bzw. abgetasteten Vibrations-ÜDM ( $\vec{\mu}_{vib}$ ) der untersuchten Moleküle zu bestimmen. Die Informationen lassen Rückschlüsse auf verschiedene Strukturinformationen zu.

## Messprinzip

Das Prinzip der PPS beruht darauf, dass die zu untersuchenden Moleküle mit einem Anregungspuls (*Pump*) vom Grundzustand in einen elektronisch angeregten Zustand versetzt werden ( $S_0 \rightarrow S_n$  bzw.  $S_0 \rightarrow S_1$ ) und anschließend mit einem zeitlich verzögerten Abfragepuls (*Probe*) die Besetzungsdichte des angeregten Zustandes  $S_n$  respektive  $S_1$  überprüft wird [5][23]. Durch eine variable Zeitverzögerung, die experimentell unter Zuhilfenahme von Verzögerungsstrecken erreicht wird, kann der zeitliche Verlauf der Besetzungsdichte ermittelt werden. Ein Vorteil dieser Methode ist, dass die Zeitauflösung nicht durch Detektor und Elektronik begrenzt wird, sondern nur durch die Dauer der *Pump*- und *Probe*-Pulse, wodurch Dynamiken im Femtosekundenbereich messbar werden [5][23]. Die Messgrößen der PPS sind anregungsinduzierte Veränderungen der Absorbanz der untersuchten Moleküle [5][23] (siehe auch Abschnitt 2.7).

Bei der Femtosekunden polarisationsaufgelösten *Pump-Probe*-Spektroskopie verwendete ich linear polarisierte *Pump*-Pulse (horizontal *oder* vertikal) und *Probe*-Pulse (horizontal *und* vertikal) und erhielt neben den Absorptionsänderungen bzw. den Dynamiken des angeregten Zustandes nützliche zusätzliche Informationen über die Ausrichtung der abgetasteten ÜDM. Das Prinzip der FS-Pol-PPS wird mit den Abbildungen 2.1-2.3 erläutert:

Es erfolgt eine Selektion bei der Anregung der Moleküle, Abb. 2.1 skizziert dies. Während der Messungen liegen die Proben in gelöster Form in einer Probenkammer (siehe Abschnitt 2.6) vor - Die Moleküle sind in diesem Volumen isotrop verteilt und isotrop orientiert und werden in a) durch die Pfeile symbolisiert, wobei ein Pfeil jeweils die Richtung des elektronischen Übergangsdipolmoments angibt. Die Anregung der Moleküle erfolgt nun durch einen linear polarisierten *Pump*-Puls<sup>†</sup> z. B. vertikal polarisiert. Es werden dabei bevorzugt die Moleküle angeregt, deren elektronische ÜDM  $\vec{\mu}_{el}$  parallel zur Polarisationsrichtung des *Pump*-Pulses  $\vec{e}_{pump}$  sind, also diejenigen, die in diesem Beispiel ebenfalls eine vertikale Ausrichtung des  $\vec{\mu}_{el}$  besitzen, dargestellt durch die blauen Pfeile in b). Aus dem Ensemble isotrop orientierter Moleküle im Grundzustand entsteht folglich ein Ensemble anisotrop orientierter, angeregter Moleküle, dessen elektronische ÜDM im Mittel parallel zu  $\vec{e}_{pump}$  bzw. zur Z-Achse ausgerichtet sind (blaue Pfeile). Die Wahrscheinlichkeit  $P$  der Anregung bzw. des Übergangs ist dabei proportional zu  $P \propto (\vec{\mu}_{el} \cdot \vec{e}_{pump})^2 \propto \cos^2 \alpha$ , wobei  $\alpha$  der Winkel zwischen  $\vec{\mu}_{el}$  und  $\vec{e}_{pump}$  ist. Dieses Prinzip der selektiven Anregung und Auswahl von Molekülen ist als PhotoSelektion bekannt [2][6][75][87]. Durch die Verwendung von linear polarisierten *Pump*-Pulsen erreicht man folglich mittels der PhotoSelektion eine definierte Ausrichtung der angeregten Moleküle in wässriger Lösung (z. B. mit Chlorophyll *a* [82][83]) gänzlich ohne präparative Techniken, die die Moleküle der Probe aktiv ausrichten (z. B. [33][142]).

<sup>†</sup>Polarisationsrichtung des *Pump*-Pulses definiert in den Abbildungen 2.1-2.3 zugleich die Z-Achse.

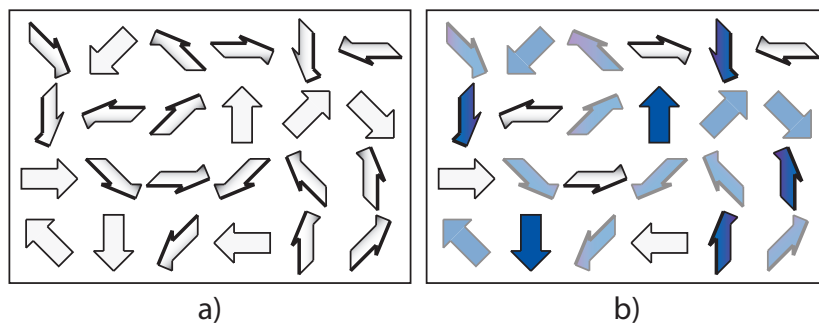


Abbildung 2.1.: a) Verteilung isotrop orientierter „Moleküle“ im Grundzustand mit Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmomentes (graue Pfeile). b) PhotoSelektion: Durch Anregung mit linear polarisiertem Licht (vertikal polarisiert) entsteht eine Kosinus-Quadrat-Verteilung angeregter Moleküle. Parallel orientierte ÜDM ( $0^\circ$ ), bzgl. der Polarisation der *Pump*-Pulse, werden bevorzugt angeregt (blau). Bei  $45^\circ$  beträgt die Wahrscheinlichkeit 50% (blau transparent). Die Moleküle im Grundzustand werden wieder durch graue Pfeile dargestellt.

Wie bereits in Abb. 2.1 durch die Verkippung der Pfeile angedeutet, besitzen die angeregten Moleküle dessen  $\vec{\mu}_{el}$ -Richtung durch die PhotoSelektion „fixiert“ ist, immer noch eine rotationssymmetrische Verteilung der Lage der Moleküle an sich, wobei  $\vec{\mu}_{el}$  bzw. die Polarisationsrichtung des Laserpulses die Rotationsachse darstellen. Denn die linear polarisierten *Pump*-Pulse regen auch rotierte Moleküle an, deren  $\vec{\mu}_{el}$  ebenfalls parallel zu  $\vec{e}_{pump}$  sind. Beispielsweise würden alle vier, der in Abb. 2.2 dargestellten Moleküle (E-Isomer von Coumarin 314), gleichermaßen angeregt werden. Die elektronischen Übergangsdipolmomente sind in den vier Molekülen parallel zur Z-Achse, die Lage des Moleküls aber jedes Mal eine andere. Das Übergangsdipolmoment der eingezeichneten Carbonylstreckschwingung zeigt, abhängig von der Lage des Moleküls, in verschiedene Richtungen. Die blauen Vektoren stellen in der Darstellung 2.2 die Translationsvektoren der an der Schwingung beteiligten Atome dar und der orangefarbene Vektor ist das resultierende Übergangsdipolmoment der Carbonylstreckschwingung. Die durch PhotoSelektion anisotrop ausgerichteten und angeregten Moleküle beinhalten selbst folglich alle möglichen Moleküllagen, die sich lediglich durch eine Rotation um die Z-Achse oder/und der Spiegelung an der X-Y-Ebene unterscheiden. Betrachtet man die in Abb. 2.2 gekennzeichnete Carbonylstreckmode mit dem angegebenen  $\vec{\mu}_{vib}$  so gibt es infolgedessen eine isotrope Verteilung der – mit der Struktur verknüpften –  $\vec{\mu}_{vib}$  auf einer Kegelfläche um die Z-Achse ( $\vec{\mu}_{el}$ ). Der Öffnungswinkel  $\theta$  des Kegels (der Winkel zwischen der Z-Achse und  $\vec{\mu}_{vib}$ ) wird im Folgenden als relativer Winkel  $\theta$  bezeichnet. Ihn kann man mittels der FS-Pol-PPS bestimmen.

Abb. 2.3 stellt zusammenfassend das Messprinzip dar. Die Vibrationszustände im Grundzustand  $S_0$  und ersten angeregten Zustand  $S_1$  werden, zeitlich verschoben zur

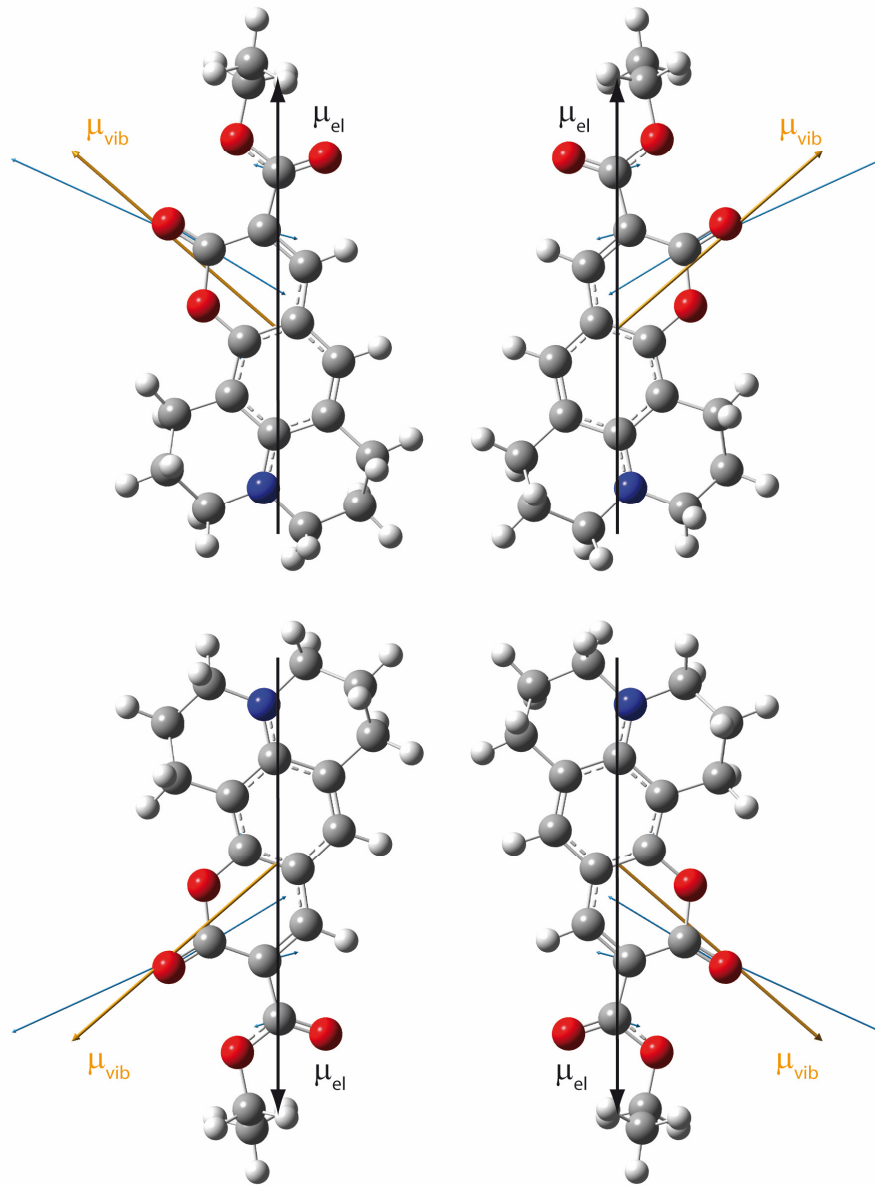


Abbildung 2.2.: E-Isomer von Coumarin 314 in vier verschiedenen Orientierungen, mit elektronischem Übergangsdipolmoment  $\vec{\mu}_{el}$  (schwarzer Pfeil), dem Übergangsdipolmoment  $\vec{\mu}_{vib}$  der Carbonylschwingung am Ring (orangefarbener Pfeil) und den Translationsvektoren der einzelnen schwingenden Atome der Carbonylstreckmode (blaue Pfeile).



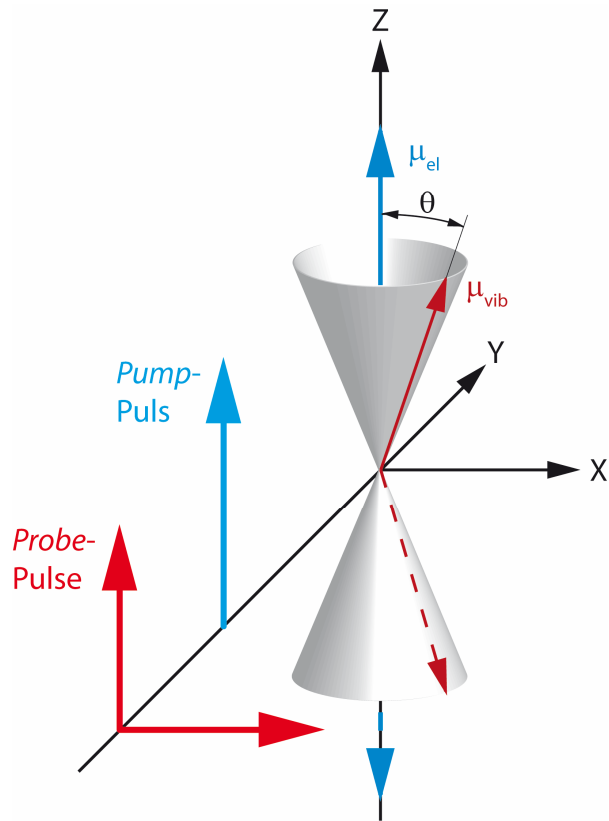


Abbildung 2.3.: Messprinzip: Die Probe wird mit einem vertikal polarisierten *Pump*-Puls (hellblauer Pfeil) beleuchtet. Moleküle deren  $\mu_{el}$  (dunkelblauer Pfeil) parallel zur *Pump*-Polarisation sind werden bevorzugt angeregt (Photo Selektion). Die Lage eine ausgewählten Schwingungsmode der angeregten Moleküle  $\mu_{vib}$  (dunkelroter Pfeil) ist nicht genau bekannt, sie kann sich überall auf einer Kegelfläche um  $\mu_{el}$  mit dem Öffnungswinkel  $\theta$  befinden. Die Probe wird zeitversetzt mit vertikal und horizontal polarisierten *Probe*-Pulsen abgefragt und der relative Winkel  $\theta$  bestimmt.

Anregung mittels eines *Pump*-Puls, gleichzeitig mit horizontal und vertikal polarisierten *Probe*-Pulsen abgetastet. Das elektronische ÜDM  $\vec{\mu}_{el}$  ist durch die Photoselektion entlang der Z-Achse „fixiert“ (dunkelblauer Pfeil) und das ÜDM der abgetasteten Schwingungen  $\vec{\mu}_{vib}$  (dunkelroter Pfeil) kann sich wie beschrieben überall auf der Mantelfläche eines Doppelkegels um die Z-Achse mit dem Öffnungswinkel  $\theta$  befinden. Anhand der Signalanteile der beiden *Probe*-Pulsrichtungen (horizontal und vertikal) bei der Abtastung der abgefragten ÜDM  $\vec{\mu}_{vib}$  lässt sich der relative Winkel  $\theta$  des  $\vec{\mu}_{vib}$  bezüglich der Z-Achse berechnen (siehe Abschnitt 3.4). Da die Richtungen der Übergangsdipolmomentvektoren durch die Struktur der Moleküle bestimmt sind, lassen sich eben durch die Analyse dieser Übergangsdipolmomentvektoren mit der FS-Pol-PPS zeitlich aufgelöste Informationen der Molekülstruktur ermitteln und zwar in gelöster Form der Moleküle.

Es gibt eine Reihe alternativer Methoden, die ebenfalls die Bestimmung von Richtungen einzelner ÜDM ermöglichen. Eine Gemeinsamkeit liegt in der notwendigen Verwendung von Proben bekannter Orientierung, ein wesentlicher Unterschied darin, auf welche Weise dies erreicht wird. Man kann entweder einzelne Moleküle mit der gewünschten Orientierung auswählen (z. B. Photoselektion) oder alle Moleküle einer Probe *aktiv* ausrichten. Das geschieht z. B. durch das Dehnen dünner Filme [38][52] oder Ausdehnen eines Volumens in definierter Richtung [11], durch Verwenden von flüssigkristallinen Systemen lamellaren Phasen [63], durch das Trocknen oder/und Zentrifugieren [21][25] oder über das Anlegen eines externen Feldes (z. B. Magnetfeld) [11][105][124]. Jede dieser Präparationstechniken erzeugt eine uniaxiale Ausrichtung der Moleküle parallel zu einer bekannten Achse. Analog zur Photoselektion gibt es jedoch eine isotrope rotationsymmetrische Verteilung der Moleküle um diese Achse. Mit anderen Worten ermöglicht keine der Methoden die Bestimmung einer absoluten Richtung eines abgetasteten Übergangsdipolmoments – Es wird in jedem Fall der relative Winkel des Übergangsdipolmoments bzgl. einer Achse bestimmt. Die Verwendung der *passiven* Photoselektion hat jedoch den Vorteil, Proben in ihrer natürlichen Umgebung untersuchen zu können, wohingegen bei Verwendung *aktiver* Präparationstechniken immer die Frage bleibt, ob und in wie weit sich das untersuchte System von dem „natürlichen“ unterscheidet und wie gut die Orientierung tatsächlich ist.

Die in dieser Arbeit vorgestellte spektroskopische Methode stellt eine schnelle und alternative Untersuchungsmethode dar, um strukturelle Informationen zu erhalten. Die Methode ist nicht angewiesen auf Präparationstechniken, die die Proben makroskopisch ausrichten. Sie ermöglicht die zeitaufgelöste Beobachtung der Orientierung abgetasteter Übergangsdipolmomente. Die Untersuchung von Proben mit geringer Stabilität bzw. Lebensdauer in ihrer natürlichen Umgebung ist möglich.

## 2.2. UV/Vis - IR - Aufbau

Der bei allen durchgeführten Messungen verwendete experimentelle Aufbau ist in Abbildung 2.4 vereinfacht dargestellt. Er kam auch bei anderen Untersuchungen zum Einsatz [78][135][149][151] und wurde entsprechend der jeweiligen Anforderungen modifiziert. Als Lichtquelle diente das käuflich erworbene Ti:Saphir Lasersystem Legend USP von

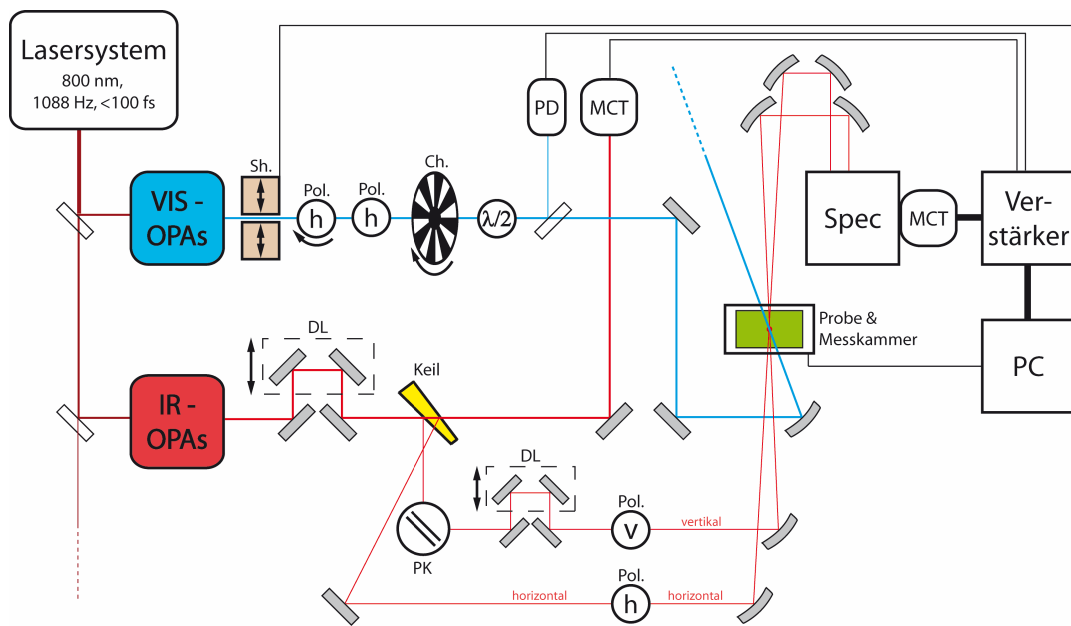


Abbildung 2.4.: Vereinfachte Darstellung des Messaufbaus. Komponenten: Shutter bzw. automatisierter Strahlblocker (Sh.), Polarisatoren (Pol.), Chopper betrieben bei 544 Hz (Ch.),  $\lambda/2$ -Plättchen zur Drehung der *Pump*-Polarisation um  $90^\circ$ , Photodiode für den sichtbaren Spektralbereich (PD), Spektrometer (Spec), MCT-Detektoren, Computer (PC), Verschiebestrecken (DL) und einem Periskop (PK). Die Strahlteiler werden durch weiße Rechtecke dargestellt und die ebenen sowie gekrümmten Spiegel sind grau.

*Coherent* mit regenerativem Verstärker (oben links in Abb. 2.4). Die emittierte Wellenlänge von 800 nm (im Folgenden Fundamentale genannt) und Bandbreite von ca. 30 nm wurde teilweise nach Bedarf auf 808 nm mit einer Bandbreite von ca. 35 nm verschoben. Wenn im Folgenden von Breite geschrieben wird, so ist damit immer die Halbwertsbreite (FWHM) gemeint. Die Pulsrate betrug 1088 Hz, die Pulslänge lag bei allen durchgeführten Experimenten zwischen 55 fs und 100 fs und die Pulsenergie der Fundamentale bei ca. 2,33 mJ. Die Fundamentale wurde nach Emission aus dem Lasersystem und Reduktion des Querschnitts mit einem Teleskop (nicht dargestellt) durch eine Reihe von Strahlteilern aufgespalten: 1,6 mJ wurden für Erzeugung der Anregungspulse genutzt und 0,2 mJ für die Generierung der Abtastpulse (Die restliche Energie wurde für andere Experimente verwendet.). Bevor darauf im Speziellen eingegangen wird, erfolgt zunächst eine reduzierte Beschreibung des Strahlengangs mit den wesentlichen Komponenten:

## **Pump-Strahlengang**

Der *Pump*-Strahlengang ist in der oberen Hälfte der Abb. 2.4 blau dargestellt. Ausgangspunkt sind die Vis-OPA, die zur Vereinfachung als blaue Box abgebildet sind. Die *Pump*-Pulserzeugung mit den Vis-OPA wird im folgenden Abschnitt 2.3 beschrieben. Die erzeugten *Pump*-Pulse im sichtbaren Spektralbereich waren horizontal polarisiert. Die lineare Polarisation wurde neben der eigentlichen Bedeutung für die Photosелеktion auch zur stufenlosen Abschwächung der *Pump*-Leistung ausgenutzt. Zwei Polarisatoren (Pol.) wurden dafür verwendet: Während der erste Polarisator abhängig von der gewünschten Abschwächung aus der horizontalen Ebene herausgedreht werden konnte, war der zweite fest eingestellt für Transmission horizontal polarisierter Strahlung. Im Anschluss wurde die *Pump*-Pulsrate mit einem von der Laserelektronik angesteuerten Chopper (Ch.) auf die halbe Repetitionsrate der Fundamentalen reduziert, d.h. es konnten pro Sekunde 544 anregungsinduzierte Absorptionsänderungen des Moleküls detektiert werden. Bei der FS-Pol-PPS mit simultaner Detektion der parallelen und senkrechten Komponenten der Absorptionsänderungen ist es notwendig, das Experiment sowohl mit horizontaler als auch vertikaler *Pump*-Polarisation durchzuführen (Informationen dazu im Abschnitt 3.1), ein  $\lambda/2$ -Plättchen wurde deswegen zur Drehung der *Pump*-Polarisation um  $90^\circ$  eingebaut und verwendet. Zur Überwachung der *Pump*-Stabilität diente ein Rückreflex einer keilförmigen Kombination von Kurzpassfiltern (Grenzwellenlänge: 750 nm), er wurde durch eine Photodiode (PD) aufgezeichnet. Zu erwähnen ist noch der Einsatz eines Shutters (Sh., hellbraun), um lichtempfindliche Proben nicht unnötig zu beleuchten. Der *Pump*-Strahl wurde automatisch immer dann blockiert, wenn das System nicht messbereit war z. B. während des Verwendens der Verzögerungsstrecke im *Probe*-Strahlengang und die untersuchten Proben sowie die optischen Komponenten dadurch geschont.

## **Probe-Strahlengang**

Der *Probe*-Strahlengang ist in der unteren Hälfte der Abb. 2.4 rot dargestellt. Er beginnt mit den IR-OPA (rote Box), die im Abschnitt 2.4 beschrieben werden. Die erzeugten *Probe*-Pulse wurden über eine Verzögerungsstrecke (DL) geführt, die es ermöglichte, die zu untersuchende Probe zeitversetzt zur Anregung abzufragen und Dynamiken zu bestimmen. Die erreichbare Zeitverzögerung war auf wenige Femtosekunden genau einstellbar, als minimale Verzögerungen wurden je nach Experiment 20-50 fs verwendet und die maximale Verzögerung war durch die Länge der Verzögerungsstrecke auf ca. 1,8 ns begrenzt. Unmittelbar nach der Verzögerungsstrecke trafen die *Probe*-Pulse auf einen Keil und wurden in drei Teilstrahlen aufgespalten. Der transmittierte Anteil, detektiert über einen MCT-Einzeldetektor, wurde als Referenz genutzt. Einer der beiden reflektierten Anteile blieb in der Polarisation unverändert (horizontal), die Polarisation des anderen wurde mit einem Periskop (PK) um  $90^\circ$  gedreht (vertikal). Eine kleine Verzögerungsstrecke diente anschließend als Ausgleich für einen eventuellen Längenunterschied der beiden reflektierten Anteile des Keils. Analog zum *Pump*-Strahlengang wurden Polarisationsfilter genutzt, um unerwünschte Polarisationsrichtungen der *Probe*-Strahlen zu eliminieren. Der *Pump*- sowie die beiden *Probe*-Strahlen wurden in der zu

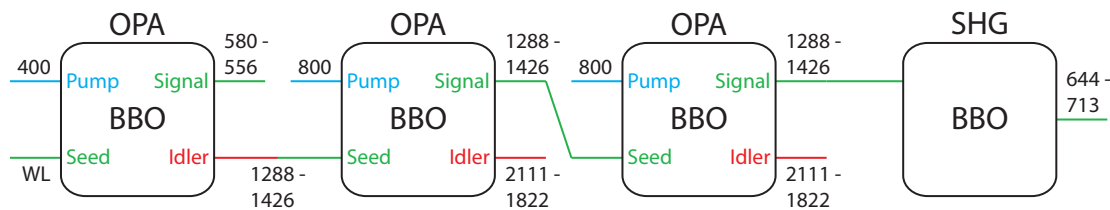


Abbildung 2.5.: Schematische Darstellung der *Pump*-Erzeugung im Bereich 644 - 713 nm durch optisch parametrische Verstärkung (OPA) bzw. Frequenzverdopplung (SHG) in Beta-Bariumboratkristallen (BBO). Die Zahlenangaben entsprechen den Wellenlängen in nm der Laserpulse.

untersuchenden Lösung (grünes Rechteck) auf einen Punkt fokussiert und überlagert. Die Anordnung der drei Strahlen wird in Abschnitt 2.5 beschrieben und die verwendete Messkammer/Probenkammer in Abschnitt 2.6. Die durch die Probe transmittierten *Probe*-Strahlen wurden in das Spektrometer (Spec) fokussiert und spektral aufgelöst auf einen mehrzeiligen MCT-Detektor abgebildet, dessen Ausgang verstärkt und mittels Computer (PC) aufgenommen wurde. Details zur Signaldetektion und -verarbeitung sind im Abschnitt 2.7 enthalten.

### 2.3. Erzeugung der Anregungspulse

Zur Anregung von Agp1, Chl *a* sowie Coumarin 314 wurden *Pump*-Wellenlängen im Bereich von 644 - 713 nm sowie bei 400 nm und 455 nm mit Hilfe von nichtlinearen Prozessen erzeugt.

Anregungspulse im Bereich von 644 - 713 nm wurden durch vier optisch parametrische Verstärker (OPA, *optical parametric amplifier* [19][108]), schematisch dargestellt in Abb. 2.5, durch Frequenzkonversion erzeugt. Dabei wurde Beta-Bariumborat (BBO,  $\beta$ -BaB<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) in verschiedenen Kristalldicken verwendet. Im ersten OPA (Typ I Phasenanpassung, Kristalldicke  $d = 1$  mm) wurden *Idler*-Pulse im nahen Infrarot (1288 nm - 1426 nm je nach Experiment) erzeugt, *Signal*-Pulse mit sichtbarem Spektrum wurde heraus gefiltert. Angeregt wurde der OPA mit 400 nm, erhalten durch Frequenzverdopplung der Fundamentalen, sowie einem Weißlichtkontinuum (WL) [19][32], welches vorher durch Fokussierung der Fundamentalen in einen Saphirkristall erzeugt wurde. In den folgenden beiden OPA-Stufen (Typ II,  $d = 5$  mm) wurde der *Idler* der ersten Stufe durch die Fundamentale bis zu einer Energie von ca. 40  $\mu$ J weiter verstärkt und im letzten Schritt frequenzverdoppelt (SHG, *second harmonic generation* [19][35][108]; Typ I,  $d = 1$  mm), um die gewünschten Anregungspulse zu erhalten. Reste des *Pump*-Lichts sowie der nicht verwendeten *Idler*-Pulse wurden durch geeignete Optiken heraus reflektiert, respektive gefiltert.

Zur Erzeugung der *Pump*-Pulse bei 455 nm wurde der vierstufige Aufbau modifiziert (Abb. 2.6): Die BBO-Kristalle der zweiten und dritten Stufe wurden wegen der ungünstigen Phasenabstimmung (*phase matching* [19][58][89][108]) durch Kaliumtitanyl-

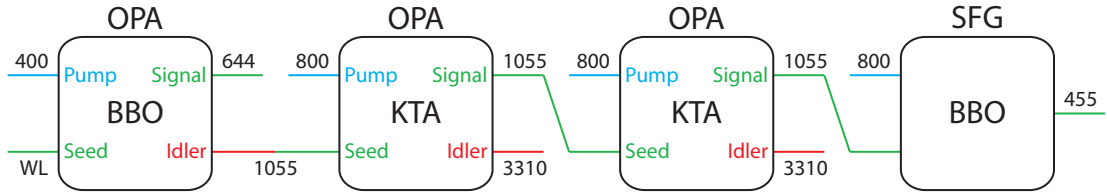


Abbildung 2.6.: Schematische Darstellung der *Pump*-Erzeugung bei 455 nm durch optisch parametrische Verstärkung (OPA) bzw. Summenfrequenzerzeugung (SFG) in Beta-Bariumborat- (BBO) bzw. Kaliumtitanylarsenatkristallen (KTA). Die Zahlenangaben entsprechen den Wellenlängen in nm der Laserpulse.

senat (KTA,  $\text{KTiOAsO}_4$ ) ersetzt, um Pulse bei 1055 nm besser verstärken zu können. Anschließend wurde statt der Frequenzverdopplung in der vierten Stufe die Summenfrequenz aus der Fundamentalen und der 1055 nm gebildet (SFG, *sum frequency generation* [7][19][108]) und auf diese Weise die 455 nm *Pump*-Pulse erzeugt.

Anregungspulse bei 400 nm wurden direkt durch Frequenzverdopplung der Fundamentalen erzeugt. Der vierstufige OPA wurde dabei nicht verwendet.

Die Leistung der Anregungspulse wurde bei allen Messungen soweit reduziert, dass weniger als 6% der zu untersuchenden Moleküle angeregt wurden, meist sogar weniger als 3%. Eine Begrenzung der Anregungsleistung ist notwendig, da es bei hohen *Pump*-Pulsleistungen zu Sättigungseffekten der Photosuktion kommt, die die Verteilung angeregter Moleküle beeinflussen. Solche Sättigungseffekte sind unterhalb einer Molekül-anregung von 10% im beleuchteten Probenvolumen nicht zu erwarten [141][143]. Die jeweiligen *Pump*-Spektren sind den Ergebnis- und Diskussionskapiteln zu entnehmen.

## 2.4. Erzeugung der Abtastpulse

Die infraroten Abtastpulse im Bereich von  $1150 - 1800 \text{ cm}^{-1}$  wurden durch einen dreistufigen Frequenzkonversionsprozess erzeugt. Der Aufbau war analog zu dem von R. Kaindl et al. vorgestellten Aufbau [64] und eine schematische Darstellung ist in Abb. 2.7, dargestellt.

Ausgangspunkt ist ein zweistufiger OPA (BBO, Typ II,  $d = 4 \text{ mm}$ ), angeregt durch die Fundamentale. Der *Seed* der ersten Stufe war ein Weißlichtkontinuum, hervorgegangen durch Fokussierung der Fundamentalen in einen Saphirkristall. Der *Signal* der ersten Stufe wurde als *Seed* der zweiten Stufe verwendet. Die erzeugten *Signal*- und *Idler*-Pulse der zweiten Stufe wurden für eine Differenzfrequenzerzeugung (DFG, *difference frequency generation* [19][108]) in einem Silberthiogallatkristall (AGS,  $\text{AgGaS}_2$ , Typ I,  $d = 1 \text{ mm}$ ) genutzt, zur Erzeugung des gewünschten IR-Lichts.

Das Ergebnis waren durchstimmbare Abtastpulse mit einer typischen Pulsdauer von 160 fs und spektralen Breite von  $100 \text{ cm}^{-1}$  im verwendeten Bereich von  $1150 - 1800 \text{ cm}^{-1}$ . Die Energie der erzeugten *Probe*-Pulse betrug ca.  $0,6 \mu\text{J}$ . Die Energie der mit den

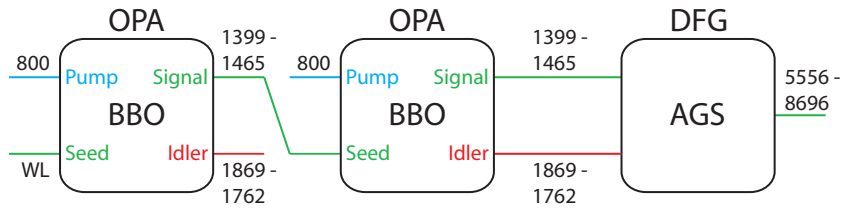


Abbildung 2.7.: Schematische Darstellung der *Probe*-Erzeugung im Bereich  $1150 - 1800 \text{ cm}^{-1}$  ( $5556 - 8696 \text{ nm}$ ) durch optisch parametrische Verstärkung (OPA) bzw. Differenzfrequenzerzeugung (DFG) in Beta-Bariumborat- (BBO) bzw. Silberthiogallatkristallen (AGS). Die Zahlenangaben entsprechen den Wellenlängen in nm der Laserpulse.

*Pump*-Pulsen zur Überlagerung gebrachten *Probe*-Pulse betrug aber weniger als 20 nJ. Die durchaus gewollte Abschwächung ergab sich im Wesentlichen durch die Aufteilung des *Probe*-Strahls mittels eines Keils in drei unterschiedlich intensive Anteile und durch Verluste an den Polarisationsfiltern sowie an den Goldspiegeln und der Probenkammer.

## 2.5. Überlagerung zur Signalerzeugung

Eine experimentelle Herausforderung der FS-Pol-PPS besteht in der Gestaltung des Überlapps der beiden *Probe*-Strahlen mit dem *Pump*-Strahl. Das Messprinzip der FS-Pol-PPS setzt stillschweigend voraus, dass die Polarisationsrichtungen der beiden *Probe*-Strahlen exakt senkrecht zueinander sind und eine klar definierte bzw. bekannte räumliche Lage des elektronischen Übergangsdipolmomentes der angeregten Moleküle vorliegt. Für dieses System lässt sich, wie in Abschnitt 3.4 beschrieben die räumliche Lage einer abgetasteten  $\vec{\mu}_{vib}$  bezüglich der *Z*-Achse bzw. dem angeregten  $\vec{\mu}_{el}$  desselben Moleküls bestimmen. Liegt jedoch eine Abweichung der Polarisationsrichtungen vor, so führt dies direkt zu verfälschten Ergebnissen.

Um dies zu verhindern, wurden zum einen Polarisationsfilter eingesetzt (siehe Abschnitt 2.2) und die Polarisationsrichtungen der Strahlen auf horizontal und vertikal eingestellt und zum anderen wurde der Strahlverlauf zur räumlichen Überlagerung der *Pump*- und *Probe*-Strahlen in bestimmter Weise angeordnet, wie in Abb. 2.8 gezeigt. In Abb. 2.8 a)-c) sind zwei Strahlen dargestellt, die untereinander den Winkel  $\alpha$  aufspannen. Liegt die Polarisationsrichtung beider Strahlen innerhalb der Ebene die sie aufspannen, so unterscheiden sich die Polarisationsrichtungen ebenfalls um den Winkel  $\alpha$  (Abb. 2.8 a)). Um sicherzustellen, dass die Polarisationsrichtungen zweier aufeinander zulaufender Strahlen dennoch immer senkrecht oder parallel zueinander sind, muss ein Strahl (Abb. 2.8 b)) bzw. müssen beide Strahlen (Abb. 2.8 c)) senkrecht zur Ebene polarisiert sein.

Die Messungen werden immer mit  $90^\circ$  verdrehter *Pump*-Polarisation wiederholt. Mehr dazu ist dem Abschnitt 3.1 zu entnehmen. Aus diesem Grund, wurde eine Anordnung der drei Strahlen, wie in Abb. 2.8 d) gezeigt, gewählt. Schaut man in Ausbreitungsrichtung

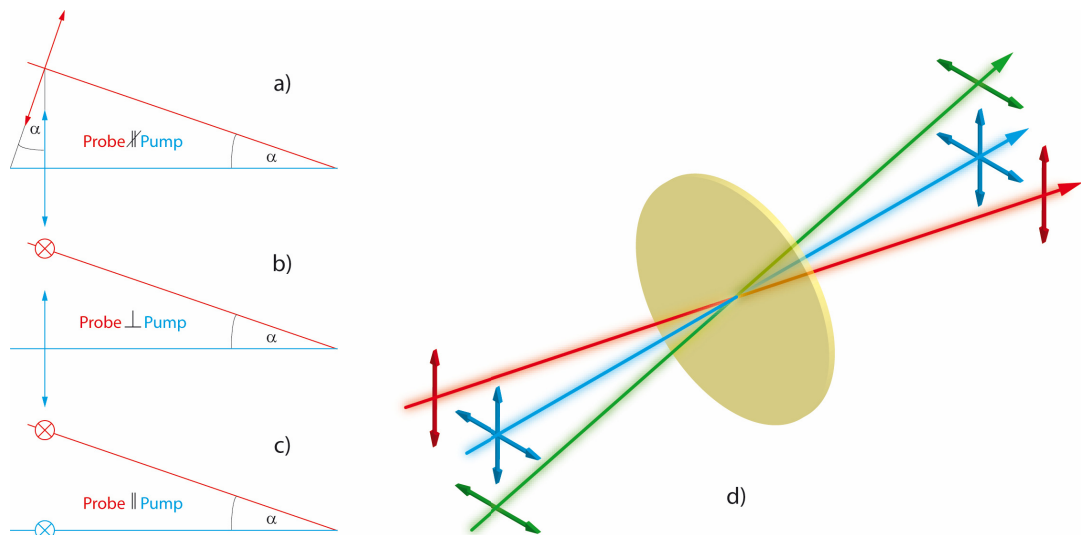


Abbildung 2.8.: a) Die Polarisationsrichtungen zweier in der Ebene polarisierter Strahlen weichen um den Winkel  $\alpha$  ab, der sich aus dem Strahlverlauf ergibt. b) Die Polarisationsrichtungen der Strahlen sind immer senkrecht zueinander, wenn eine der Polarisationsrichtungen senkrecht zur Ebene polarisiert ist. c) Die Polarisationsrichtungen der Strahlen sind immer parallel zueinander, wenn beide Polarisationsrichtungen senkrecht zur Ebene polarisiert sind. d) Verwendete Strahlanordnung bei der räumlichen Überlagerung. Der *Pump*-Strahl (blau) verläuft zu jeder Zeit mit dem *Probe*-Strahl (rot) in einer horizontalen Ebene und mit dem *Probe*-Strahl (grün) in einer vertikalen. Die Strahlen werden im Probenvolumen (gelb) zur Überlagerung gebracht. Die Doppelpfeile geben die Polarisationsrichtungen der Strahlen an.



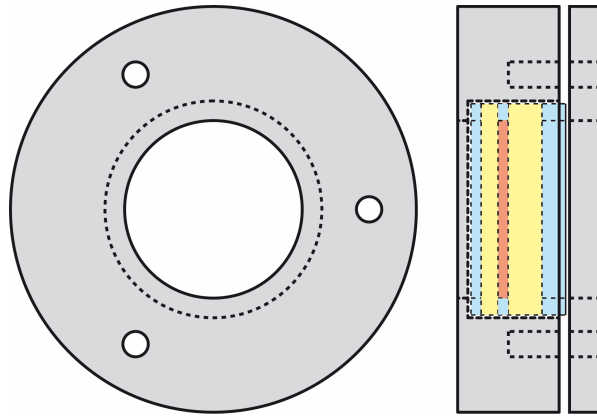


Abbildung 2.9.: Aufsicht und Querschnitt der verwendeten Probenkammern mit Aluminiumgehäuse (grau), Teflonringen (blau) als Abstandshalter, BaF<sub>2</sub>-Fenstern (gelb) und dem eingeschlossenen Probenvolumen (rot).

tung des *Pump*-Strahls, so bilden die drei Strahlen die Eckpunkte eines rechtwinkligen Dreiecks, der rechte Winkel liegt beim *Pump*-Strahl (blau), die *Pump*-Pulse sind vertikal oder horizontal polarisiert. Die beiden *Probe*-Strahlen werden auf das angeregte Probenvolumen justiert. Der vertikal polarisierte *Probe*-Strahl (rot dargestellt) verläuft dabei zu jeder Zeit auf der gleichen Höhe mit dem *Pump*-Strahl, parallel zum optischen Tisch und spannt mit dem *Pump*-Strahl eine horizontale Fläche auf. Wohingegen der horizontal polarisierte *Probe*-Strahl (grün dargestellt) vor der Probenkammer immer exakt unter dem *Pump*-Strahl verlaufen muss.

Auch wenn die Strahlen mit einem Winkel aufeinander zulaufen, so ist bei dieser Anordnung die Polarisationsrichtung des *Pump*-Lichtes immer exakt parallel bzw. senkrecht zu den Polarisationsrichtungen der *Probe*-Strahlen unabhängig davon, ob der *Pump* gerade die vertikale oder horizontale Polarisationsrichtung inne hat. Würde man von der dargestellten Strahlanordnung abweichen und die Polarisation beider *Probe*-Strahlen tauschen bzw. um 90° drehen, so hätte man wieder den systematischen Fehler, den man gerade vermeiden wollte, dargestellt in a). Der horizontal/vertikal polarisierte *Pump*-Strahl wäre nicht mehr exakt parallel zum horizontal/vertikal polarisierten *Probe*-Strahl, sondern hätte vielmehr den Winkel  $\alpha$ , der sich aus dem Strahlverlauf ergibt. Der Winkel würde direkt in das Messergebnis einfließen.

## 2.6. Proben- und Messkammer

Im Rahmen der Experimente wurden Chlorophyll *a*, Phytochrom aus *Agrobacterium tumefaciens* und Coumarin 314 in gelöster Form untersucht. Die verwendete Probenkammer ist in Abbildung 2.9 dargestellt. Die Probe befand sich zwischen zwei BaF<sub>2</sub>-Fenstern (Dicke: 1 mm bzw. 2 mm, Durchmesser: 2,5 cm) mit einem Teflonring als Abstandshalter (Dicke: 50 bzw. 100  $\mu\text{m}$  je nach Experiment). Ein Aluminiumgehäuse und weitere Teflonringe pressten die Fenster zusammen. Das Probenvolumen betrug 25 bzw. 50  $\mu\text{l}$ .

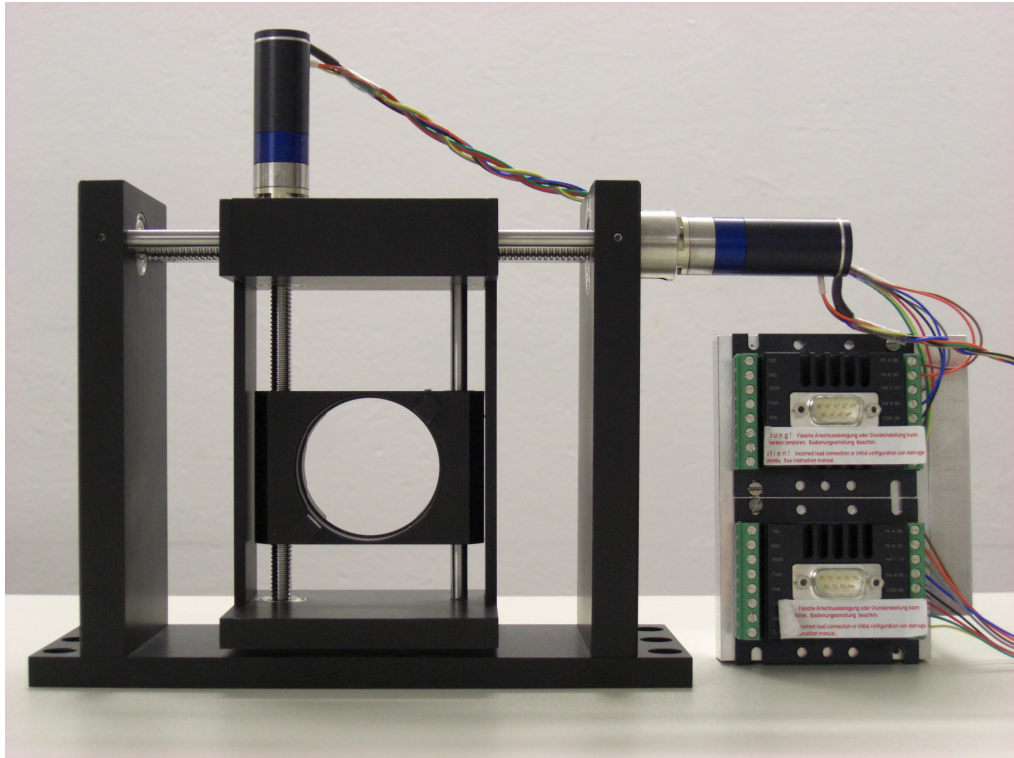


Abbildung 2.10.: Messkammer mit zwei elektronisch angesteuerten Schrittmotoren für beliebige Bewegung der Probe (wird zentral eingesetzt) in horizontaler und vertikaler Richtung.

Um mit jedem *Pump*-Puls ein jeweils anderes Probenvolumen zu beleuchten, wurde die Probenkammer ständig bewegt. Das geschah mit Hilfe einer neu entwickelten Messkammer, dargestellt in Abbildung 2.10, in welche die Probenkammer arretiert wurde. Die Messkammer ermöglicht eine beliebige Bewegung der Probenkammer in horizontaler und vertikaler Richtung über die Ansteuerung zweier Schrittmotoren.

Für die Experimente wurde ein Bewegungsmuster in Form von Lissajousfiguren gewählt, um den zeitlichen Abstand einer Doppelbeleuchtung des gleichen Probenvolumens zu maximieren. Ein zeilenweises Abrastern der Probe zeigte sich durch die scharfen Umkehrpunkte als unvorteilhaft. In Abb. 2.11 ist die Relativbewegung zwischen der Probe und den Laserstrahlen dargestellt bzw. das bereits beleuchtete Probenvolumen nach 2 s (links), 18 s (mitte) und kurz vor Vollendung des kompletten Zyklus nach 5 min. (rechts), wo nur noch wenige Spuren zu beleuchten sind.

## 2.7. Signaldetektion und -verarbeitung

Die beiden Abtaststrahlen, die sowohl parallel als auch senkrecht zum Anregestrahл polarisiert sind, wurden nach dem Beleuchten der Probe mit einem Spektrograph (Triax 320, *Jobin Yvon Horiba*) aufgeweitet (Gitter:  $150 \text{ l mm}^{-1}$ ,  $f=320 \text{ mm}$ ) und separat auf einem

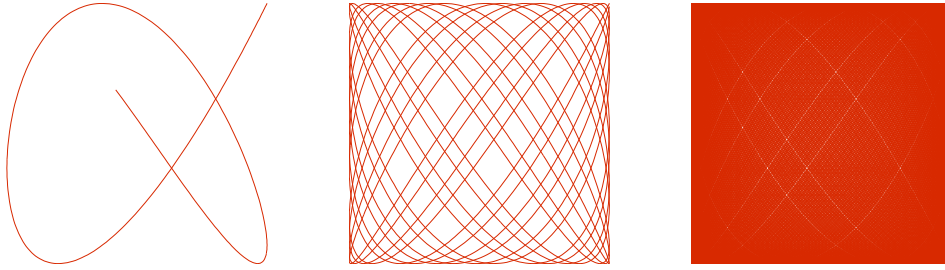


Abbildung 2.11.: Beispiel für eine Relativbewegung zwischen der Probe und den Laserstrahlen nach 2 s (links), 18 s (mitte) und 5 min. (rechts).

zweizeiligen MCT-Detektor mit jeweils 32 Elementen abgebildet. Die Auflösung des mit flüssigem Stickstoff gekühlten Detektorarrays betrug bei den durchgeführten Experimenten  $1,6 \text{ cm}^{-1}$ , mit einer Messung konnte ein Bereich der spektralen Breite von etwa  $50 \text{ cm}^{-1}$  untersucht werden. Die verwendete Verstärkerelektronik bzw. der Analog-Digital-Wandler (A/D-Wandler) begrenzte die minimal bestimmbare Absorptionsänderung auf ca.  $22 \mu\text{OD}$ .

Die rechnergesteuerte Datenerfassung und Verarbeitung der vorverstärkten Signale erfolgte über ein mit LabView 7.1 geschriebenes Programm mit folgenden Messgleichungen:

$$\Delta OD^{hori} = -\lg \frac{I^{hori} - I_{Bgrnd}}{I_0^{hori} - I_{Bgrnd}} * 1000 \quad (2.1)$$

$$\Delta OD^{vert} = -\lg \frac{I^{vert} - I_{Bgrnd}}{I_0^{vert} - I_{Bgrnd}} * 1000, \quad (2.2)$$

wobei  $\Delta OD$  die Absorptionsänderung in mOD (Faktor 1000) ist.  $I$  und  $I_0$  sind die detektierten Signalamplituden mit *Pump*-Licht respektive blockiertem *Pump*-Licht jeweils horizontal und vertikal polarisiert,  $I_{Bgrnd}$  stellt die Amplitude der Hintergrundstrahlung dar, die einmalig vor der Messung bei blockiertem *Pump*- sowie *Probe*-Licht aufgezeichnet wurde.

Aufgenommen wurden  $2 \times 32$  Transienten üblicherweise im Bereich von -20 bis +100 ps, teilweise jedoch bis +1200 ps Verzögerungszeit<sup>‡</sup> mit einer minimalen Schrittweite von 20-50 fs. Für jede Verzögerungszeit innerhalb eines Durchlaufs (*scan*) wurden 750 Absorptionsänderungen aufgenommen. Die *scans* selbst wurden ebenfalls mehrere Male wiederholt und die gesamte Messung wurde wiederum über mehrere Tage mit jeweils frisch angesetzten Proben wiederholt. Die Daten liegen in gemittelter und mit der weiter oben angegebenen Messgleichung verarbeiteten Absorptionsänderungen vor sowie je

<sup>‡</sup>Ist die Verzögerungszeit negativ, wird die Probe zuerst vom Abtaststrahl beleuchtet.

nach Experiment auch als Rohdaten, also den ungemittelten A/D-gewandelten Spannungswerten der vorverstärkten Signale für jeden einzelnen Laserpuls. Dieses speicherintensive Vorgehen ermöglichte eine nachträgliche Untersuchung der Daten auf Störungen wie z. B. Frequenzstörungen mittels Fourieranalyse.

Abschließend einige Bemerkungen zur Messgleichung und der Interpretation der Messgröße Absorptionsänderung für die drei möglichen Fälle:

- $I = I_0; \Delta OD = 0$  – Die bestimmte Absorptionsänderung ist anregungsinduziert d.h. sie ist Null, wenn die gemessene Intensität sich nicht durch die Beleuchtung der Probe mit den *Pump*-Pulsen ändert. *Probe*-induzierte Übergänge zeigen demnach kein Signal. Des Weiteren können Kompensationen positiver und negativer Signale auftreten, die von einem „Nullsignal“ nicht zu unterscheiden sind.
- $I > I_0; \Delta OD < 0$  – Die Absorptionsänderung ist negativ, wenn durch die Anregung der Moleküle mehr Photonen den Detektor erreichen. Entweder geschieht dies durch die Entstehung zusätzlicher Photonen oder durch eine verminderte Absorption der abgetasteten Banden nach der Anregung. Ersteres wäre z. B. ein Zeichen von Fluoreszenz. Letzteres entsteht z. B. durch die Entvölkerung des Grundzustandes durch die elektronische Anregung von  $S_0 \rightarrow S_1$ ; abgetastete Schwingungsübergänge innerhalb des Grundzustandes  $S_0$  gehen deshalb mit negativen Signalen einher, da die Besetzungsdichte durch die *Pump*-Pulse verringert wird. (Häufig verwendet man die Begriffe „Bleichbande“ oder „*bleach*“.)
- $I < I_0; \Delta OD > 0$  – Positive Absorptionsänderung hingegen erhält man bei der Abtastung von Schwingungsübergängen innerhalb des angeregten Zustandes  $S_1$ , da hier eine Bevölkerung von  $S_1$  durch Anregung mit *Pump*-Pulsen stattfindet, wodurch mehr Übergangsmöglichkeiten entstehen und die Absorption steigt. Des Weiteren haben Produktbanden ebenfalls eine positive Absorptionsänderung. Unter Produktbanden versteht man Banden, die erst durch eine lichtinduzierte strukturelle Veränderung der Probe entstehen, wie bei der Bildung von Lumi-R durch die elektronische Anregung von Phytochrom in Pr-Form.

## 2.8. Berechnung von Struktur und Übergangsdipolmomenten im Grundzustand

Die theoretischen Berechnungen dieser Arbeit zu Chl *a*, C314 und Agp1 entstanden in Kooperation mit Angelica Zacarias und Mohamed El-Amine Madjet. Es wurde eine auf Dichtefunktionaltheorie (DFT) [72][107] basierende Methode verwendet. Anwendung fanden dabei die Programme *Gaussian 03* [36], *Gaussian 09* [37] sowie *Jaguar* [1] und *Q-Chem* [74] mit den implementierten Funktionalen B3LYP (Becke-3-Parameter-Lee-Yang-Parr) [8][79][92][131] und den Basissätzen 6-31G\*, 6-31G\*\* [49][131].

Die Ziele der theoretischen Berechnungen im *Grundzustand* waren: Die Bestimmung der jeweiligen Struktur der untersuchten Moleküle, die Untersuchung der energetischen

Stabilität sowie die Ermittlung der Schwingungsmoden, ihrer Frequenz, Stärke und Orientierung der Übergangsdipolmomente.

Grundlage der theoretischen Berechnungen waren die Molekülstrukturen von Chl *a* [91][114], C314 [54][152] und Agp1. An diesen wurden im ersten Schritt eine Geometrieoptimierung durchgeführt, bei der die Kernkoordinaten solange variiert werden, bis ein stationärer Punkt bzw. Minimum auf der Potentialenergieoberfläche gefunden wurde. Die Kernkoordinaten des ermittelten Grundzustandes der jeweiligen Moleküle sind in den Anhang A, Anhang B und Anhang C enthalten. Nach der Geometrieoptimierung darf die Frequenzanalyse durchgeführt werden, die eine Vorhersage der IR- und Raman-spektren sowie der Frequenz, Stärke und Richtung der Schwingungsmoden ermöglicht [31].

Während die experimentell ermittelten relativen Winkel zwischen den abgetasteten Schwingungsübergangsdipolmomenten und dem angeregten elektronischen Übergangsdipolmoment bereits Aussagen über die Zuordnung von Banden ermöglichen (siehe Kapitel 6), so können durch Kombination (siehe Abschnitt 3.5) der theoretisch ermittelten Orientierungen der ÜDM der abgetasteten Schwingungen mit den experimentell bestimmten relativen Winkeln dieser bzgl. des angeregten elektronischen ÜDM, Aussagen über die vorliegende Struktur der Moleküle getroffen werden (siehe Kapitel 5, 6) oder sogar die 3D-Lage des elektronischen ÜDM im Molekül bestimmt werden (siehe Kapitel 4, 5).

Neben den Berechnungen im Grundzustand wurden zum Vergleich der Ergebnisse bei Coumarin 314 zusätzlich Berechnungen im elektronisch angeregten Zustand durchgeführt. Eine nähere Beschreibung dieser erfolgt im Kapitel 5.



---

## 3. Analytische Methoden

---

Das folgende Kapitel behandelt analytische Konzepte, die bei den Auswertungen der Daten und Berechnungen der Ergebnisse verwendet wurden. Beginnend wird im Abschnitt 3.1 ein notwendiger Korrekturschritt des räumlichen heterogenen Überlapps vorgestellt, der systematische Fehler hervorgerufen durch den Überlapp selbst sowie zeitlich verzögerter Messungen behebt. Abschnitt 3.2 erläutert den *Perturbed Free Induction Decay*. Dieser kohärente Effekt ermöglicht den Zugang zu spektralen Informationen der Probe durch Analyse der Signale *vor* der eigentlichen Anregung und wurde deswegen komplementär zur Untersuchung der Dynamiken nach der Anregung der Probe verwendet. Die Fehlerrechnung, genauer gesagt die *Exhaustive Search* Analyse wird in Abschnitt 3.3 dargestellt. Sie verhilft nicht nur zu realistischeren Fehlergrenzen, sondern ist auch im Hinblick auf eine möglichst genaue Berechnungen der Lage eines elektronischen Übergangsdipolmomentes von Vorteil. Die Herangehensweise dieser Berechnung und Vorstellung des verwendeten Algorithmus erfolgt im Abschnitt 3.5 und vorangestellt wird im Abschnitt 3.4 zunächst die Berechnung der relativen Winkel aus den gemessenen Signalen erklärt.

### 3.1. Korrektur der heterogenen Überlagerung der Anrege- und Abtaststrahlen

Wie in Kapitel 2 beschrieben, werden bei der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie ein Anregestrahl sowie zwei Abtaststrahlen überlagert. Dabei lässt es sich experimentell nicht vermeiden, dass weder Größe noch Form aller Strahlen am Ort des Überlapps perfekt aufeinander abgestimmt sind. In der Regel ähnelt die Überlagerung dem in Abbildung 3.1 dargestellten Schema. Alle drei Strahlen haben einen leicht ovalen bis runden Querschnitt (spot). Der *Pump*-Spot ist dabei größer als die beiden *Probe*-Spots, um sicher zu gehen, dass kein nicht angeregtes Probenvolumen abgetastet wird. Die Form der *Probe*-Spots ist, als Folge des Periskops, zueinander um  $90^\circ$  verdreht. In Konsequenz dessen müssen die gemessenen Signale des vertikalen und horizontalen *Probe*-Strahls mit Faktoren korrigiert werden, die sie untereinander vergleichbar machen. Die Durchführung einer weiteren Messung ist notwendig. Entweder handelt es sich dabei um eine Art Eichmessung, mit der man die beiden *Probe*-Strahlen in Abhängigkeit vom Überlapp zueinander korrigieren kann oder um eine Messung unter veränderten Bedingungen, die es ermöglicht, den Einfluss der Überlagerung heraus zurechnen.

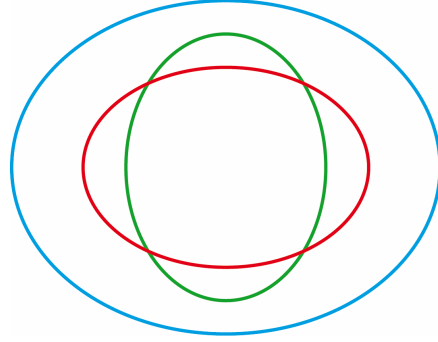


Abbildung 3.1.: Exemplarischer räumlicher Überlapp des *Pump*-Strahls (blau) und der beiden *Probe*-Strahlen (grün und rot) betrachtet in Ausbreitungsrichtung der Strahlen.

Jeder *scan* einer Messreihe wurde deshalb mit veränderter *Pump*-Polarisation wiederholt. Ich nutzte das in Abschnitt 2.2 erwähnte  $\lambda/2$ -Plättchen zur Drehung der *Pump*-Polarisation um  $90^\circ$ .  $P$  sei nun die ermittelte Absorptionsänderung der Probe, bestimmt mit dem in Abbildung 3.1 rot dargestellten *Probe*-Strahl, seine Polarisation ist in diesem Fall parallel zur Polarisation des Pumpstrahls.  $S$  wäre folglich das Signal des „roten“ *Probe*-Strahl, bei senkrechter Polarisation bzgl. des *Pump*-Strahls. Nehmen wir an, die Polarisation des in Abbildung 3.1 rot dargestellten *Probe*-Strahls sei in der ersten Messung parallel zur *Pump*-Polarisation ( $P_1$ ), so würde sie in der zweiten Messung durch die Polarisationsänderung des *Pump*-Strahls senkrecht zur *Pump*-Polarisation ( $S_2$ ) sein. Analog gilt für den grün dargestellten *Probe* die Umkehrung:  $S_1 \rightarrow P_2$ . Aus beiden Messungen lässt sich das isotrope Signal berechnen zu:

$$Iso_{11} = (P_1 + 2S_1) / 3 \quad (3.1)$$

$$Iso_{22} = (P_2 + 2S_2) / 3. \quad (3.2)$$

Der Korrekturfaktor  $a$  wird nun eingeführt, um einem eventuellen Größenunterschied des roten und grünen *Probe*-Querschnitts entgegen zu wirken. Des Weiteren gleicht  $a$  auch mögliche Einflüsse durch anisotrope Energie- und Wellenlängenverteilung innerhalb des *Pump*-Spots aus bzw. Signalunterschiede aufgrund der heterogenen Überlagerung. Ein zweiter Korrekturfaktor  $b$  berichtigt globale Amplitudenänderungen der Signale der zeitversetzten zweiten Messung. Mögliche Ursachen für eine Amplitudenänderung sind: Drift des Lasers und der damit verbundenen Änderung der *Pump*- und *Probe*-Leistungen sowie Veränderungen der Probe z. B. leichte Konzentrationsänderung durch Ausdampfen des Lösungsmittels. Die Gleichungen 3.1 und 3.2 verändern sich zu:

$$Iso_{11} = (aP_1 + 2S_1) / 3 \quad (3.3)$$

$$Iso_{22} = b(P_2 + a2S_2) / 3. \quad (3.4)$$

Bei beiden Messungen wird derselbe physikalische Sachverhalt untersucht, im Idealfall bzw. nach der Korrektur des realen Falls sollten beide Messungen identische isotrope



Signale aufweisen. Aus diesem Grund darf man die Terme der Gleichungen 3.3 und 3.4 mischen und erhält die beiden zusätzlichen Bedingungen:

$$Iso_{12} = (aP_1 + ab2S_2) / 3 \quad (3.5)$$

$$Iso_{21} = (bP_2 + 2S_1) / 3 \quad (3.6)$$

mit deren Hilfe sich  $a$  und  $b$  über die Bedingung der Konstanz des dichroitischen Verhältnisses  $D$  mit  $D = P/S$  herleiten lässt zu:

$$a = \sqrt{\frac{P_2 S_1}{P_1 S_2}} \quad (3.7)$$

$$b = \sqrt{\frac{P_1 S_1}{P_2 S_2}}. \quad (3.8)$$

Ein Algorithmus wurde programmiert und auf die Datenmatrizen angewandt, um  $a$  und  $b$  zu berechnen, sowie die Daten damit zu korrigieren. Alternativ zeigte sich, dass intuitives Schätzen ebenfalls sehr schnell zu den Korrekturfaktoren führte. Im idealen Fall sind  $a$  und  $b$  eins. Je weiter die ermittelten Werte davon abweichen, desto schlechter war der Überlapp der drei Strahlen bzw. desto instabiler ist das System. Man kann  $a$  und  $b$  als Qualitätsparameter der durchgeführten Messung betrachten. In der Regel wichen die ermittelten Parameter nur wenige Prozent vom Idealfall ab.

## 3.2. Perturbed Free Induction Decay

Der *Perturbed Free Induction Decay* (PFID) ist ein kohärenter Effekt der bei der Femtosekunden *Pump-Probe*-Spektroskopie z. B. an Halbleitern [29][59], Farbstoffen [44], Quantenpunkten [41] oder Hämoglobin [104] beobachtet wurde. Er tritt nur im negativen Zeitbereich auf (d. h. der *Probe*-Puls erreicht die Probe vor dem *Pump*-Puls) und er zeichnet sich durch ausgeprägte Oszillationen im Spektrum um die Position der abgetasteten Absorptionsbande aus. Anschauliche Darstellungen dieser Oszillationen sind unter anderem in [44] und [104] enthalten.

Die Ursache dieses „Artefakts“ ist durch die Tatsache begründet, dass die Laserpulse der Femtosekunden *Pump-Probe*-Spektroskopie mit einer Pulsbreite von etwa 160 fs (in meinem Fall) wesentlich kürzer sind als die Dephasierungszeit  $T_2$  eines Schwingungsübergangs, die von der Größenordnung einer Pikosekunde ist. Abb. 3.2 erläutert das Prinzip:

a) Ein *Probe*-Puls kann beim Abtasten eines Schwingungsübergangs eine kohärente Polarisation anregen. Die Polarisation zerfällt mit ihrer intrinsischen Dephasierungszeit  $T_2$  und emittiert Licht. Diese Strahlung ist unter dem Begriff *Free Induction Decay* (FID) geläufig. Sowohl *Probe*-Puls als auch FID werden vom Detektor aufgefangen, führen zunächst aber zu keinem Signal, da nur *Pump*-induzierte Absorptionsänderungen ermittelt werden.

b) Ein *Pump*-Puls erreicht die Probe zeitlich nach dem *Probe*-Puls und beeinflusst den FID, angeregt vom *Probe*-Puls. Die „Störung“ des FID (PFID) durch Veränderung

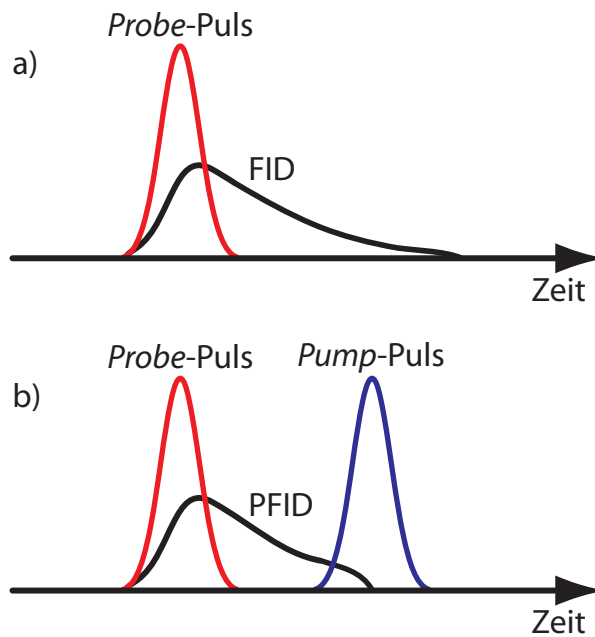


Abbildung 3.2.: a) Elektrisches Feld eines eingehenden *Probe*-Pulses, das eine kohärente Polarisation anregt, die Licht emittiert (FID). b) Ein zeitlich nach dem *Probe*-Puls eingehender *Pump*-Puls verändert das FID-Signal (PFID). Dies äußert sich durch eine Absorptionsänderung der Probe im negativen Zeitbereich.

der Resonanzenergie, Oszillatorstärke und/oder Dephasierungsrate [41] führt zu einem Signal (Absorptionsänderung), das zum zeitlichen Nullpunkt (beide Pulse erreichen die Probe gleichzeitig) hin mit der Zeitkonstante  $T_2$  wächst [44]. Das Signal ist keine reale Dynamik oder kinetische Komponente der Probe wie z. B. Relaxationsprozesse, Drehungen einzelner Moleküle bzw. Molekülgruppen oder photochemische Reaktionen. Der PFID ist vielmehr ein „Artefakt“, hervorgerufen durch die Dephasierung.

Durch die Superposition der PFID-Signale mehrerer Absorptionsbanden entsteht mitunter ein kompliziertes Gesamtsignal. Es ist aber möglich die Oszillationen der PFID-Signale aus dem Datensatz mittels geeigneter Filtermechanismen zu entfernen [104]. Andererseits enthalten sie aber auch Informationen spektraler Eigenschaften der Probe. Durch Untersuchen geeigneter Transienten im negativen Zeitbereich kann man sowohl die Position als auch die Halbwertsbreite von Schwingungsbanden ermitteln. Die Halbwertsbreite  $\Delta\nu$  ergibt sich durch Bestimmung der Zeitkonstante  $T_2$  über  $T_2 = 1/(\pi\Delta\nu)$ . Prinzipiell ist es sogar möglich durch eine Analyse des PFID das Spektrum der Absorptionsänderungen der Probe zum Zeitnullpunkt (bis auf einen vertikalen Versatz) zu konstruieren [44]. Bei der Auswertung der Messwerte hat man somit sowohl bei der Ana-

lyse des negativen Zeitbereichs\* durch den PFID als auch der des positiven Zeitbereichs† durch die Dynamik der Probe Zugang zum ursprünglichen Spektrum (Spektrum zum Zeitnullpunkt, DAS). Die Messpunktdichte wurde entsprechend so gewählt, dass eine Analyse des negativen Zeitbereichs möglich war (ca. 1/3 aller Messpunkte wurden im negativen Zeitbereich aufgenommen).

### 3.3. Fehlerbehandlung durch Exhaustive Search Analyse

Ermittelte Fehlerbereiche können von der verwendeten Analysemethode abhängen und variieren, insbesondere bei Korrelationen einzelner Parameter untereinander [61][117]. So wird z. B. der 1- $\sigma$ -Fehlerbereich der Standardmethode beispielsweise von *Origin* bei mehrdimensionalen Parameterräumen zu optimistische Fehlergrenzen abschätzen. Es wird nicht der komplette multidimensionale Lösungsraum betrachtet, sondern nur der Gradient vom Punkt der optimalen Anpassung (*Fit*). Um sinnvolle Fehlerbereiche zu erhalten führte ich die im Folgenden beschriebene *Exhaustive Search* Analyse (ExSeAn) [117] durch und erhielt größere, realistischere und asymmetrische Fehlergrenzen.

Für jeden funktionalen Zusammenhang unabhängig von Nichtlinearitäten oder Asymmetrien des Varianzraumes kann der Vertrauensbereich der *Fit*-Parameter durch den F-Test bestimmt werden [61][86]. Dabei verwendet man die F-Verteilung oder Fisher-Verteilung (nach Ronald Aylmer Fisher), um festzustellen, ob sich die um die jeweiligen Freiheitsgrade (DoF) reduzierten  $\chi^2_{DoF}$ -Werte mit  $\chi^2_{DoF} = \chi^2 / DoF$  zweier *Fit* innerhalb eines gewissen Vertrauensbereiches signifikant unterscheiden. Man vergleicht hierzu den Quotienten der beiden  $\chi^2_{DoF}$ -Werte  $F_{test} = \chi^2_{DoF,test} / \chi^2_{DoF,best}$  mit dem F-Wert, der sich aus den jeweiligen Freiheitsgraden und der gewünschten Wahrscheinlichkeit bzw. dem geforderten Vertrauensbereich ergibt.

Bei der durchgeführten ExSeAn wurden, abhängig von den vorliegenden freien Parametern der jeweiligen Analyse, für die Vertrauensbereiche (VB) von 52,5%, 55,0%, 57,5%, 60,0%, 62,5%, 65,0%, 67,5%, 70,0%, 72,5%, 75,0%, 80,0%, 85,0%, 90,0%, 95,0%, 99,0% die zugehörigen  $F_{VB}$ -Werte bestimmt. (Der Vertrauensbereich von 67,5% korrespondiert etwa zum 1- $\sigma$ -Bereich, 95% zum 2- $\sigma$ -Bereich und 99% zum 3- $\sigma$ -Bereich.) Anschließend wurde im gesamten Parameterraum der *Fit* nach Varianzen gesucht, deren  $F_{test}$  mit den  $F_{VB}$ -Werten der jeweiligen Vertrauensbereiche übereinstimmt, das bedeutet ich identifizierte für jeden Vertrauensbereich die jeweiligen Grenzen in welchen die untersuchten Parameter ohne signifikante Erhöhung des  $\chi^2_{DoF}$ -Wertes variiert werden können. Auf diese Weise kann man jeden Vertrauensbereich in Abhängigkeit der untersuchten Parameter kartografieren und erhält für jeden Vertrauensbereich mehrdimensionale asymmetrische Grenzflächen.

In Abbildung 3.3 sieht man exemplarisch die graphische Darstellung der durch ExSeAn bestimmten Fehlerbereiche einer Lösung. Jeder Farbwert korrespondiert mit einem Vertrauensbereich bzw. der „Grenzlinie“ innerhalb derer der Wert mit der geforderten

---

\*Probe zeitlich vor dem *Pump*.

†*Pump* zeitlich vor dem *Probe*.

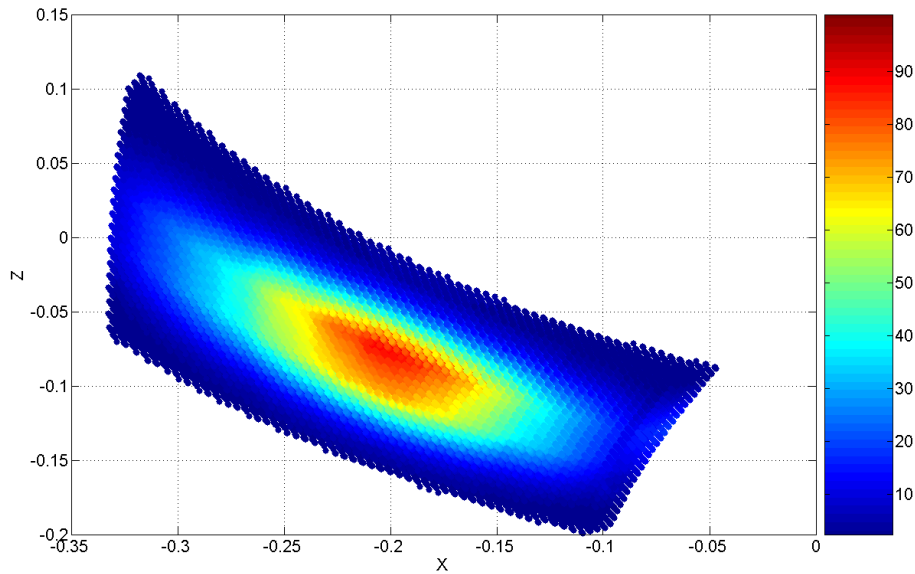


Abbildung 3.3.: Exemplarisches Ergebnis einer Fehlerkartographie durch ExSeAn. Die einzelnen Farbwerte des asymmetrischen Fehlerbereiches korrespondieren zu verschiedenen Vertrauensbereichen bzw. Wahrscheinlichkeiten der Lösung. Der Farbwert 100 wurde dem Bestwert des *Fit* zugeordnet.

Wahrscheinlichkeit Teil der Lösung ist. So repräsentieren beispielsweise alle Punkte innerhalb des grünen „Kreises“ Lösungen innerhalb des  $1\text{-}\sigma$ -Bereiches und alle Punkte innerhalb des dunkelblauen Bereichs Lösungen innerhalb des  $3\text{-}\sigma$ -Bereiches. Zu erwähnen ist noch, dass im Rahmen der ExSeAn bei jeder Datenauswertung die oben aufgezählten 15 Vertrauensbereiche bestimmt wurden und das grobe Raster anschließend durch Interpolation in ein feineres überführt wurde, was im Zuge der 3D-Lageberechnungen der elektronischen ÜDM hilfreich war.

### 3.4. Dichroitisches Verhältnis und Winkelberechnung

In diesem Abschnitt wird beschrieben, welcher funktionale Zusammenhang zwischen den experimentell registrierten Intensitäten eines abgetasteten ÜDM und seiner Ausrichtung im Raum besteht.

Der Abfrageprozess der Messung erfolgte gleichzeitig mit zwei Strahlen, von denen einer horizontal und der andere vertikal polarisiert war (dargestellt in Abb. 2.3). Die registrierte Intensität des ÜDM ist dann jeweils die Projektion auf den vertikal bzw. horizontal polarisierten *Probe*-Strahl. Anhand dieser beiden Signalanteile lässt sich der

Winkel  $\theta$  berechnen, der von der Polarisationsrichtung des abgefragten ÜDM mit der Polarisationsrichtung eines der beiden *Probe*-Strahlen gebildet wird. Zu beachten ist dabei, dass die Projektion keine eindeutige Aussage über die räumliche Lage des  $\vec{\mu}_{vib}$  zulässt, sondern lediglich die relative bezüglich einer *Pump*-Polarisationsrichtung (Z-Achse), weswegen der Winkel  $\theta$  auch als relativer Winkel bezeichnet wird.

Die *Pump*-Polarisation selbst ist immer parallel zur Polarisation einer der beiden *Probe*-Strahlen und sie entspricht zudem aufgrund der PhotoSelektion (siehe Abschnitt 2.1) der Polarisationsrichtung des angeregten elektronischen ÜDM  $\vec{\mu}_{el}$ . Ich definiere deshalb den Winkel  $\theta$  entsprechend der Darstellung als Winkel zwischen  $\vec{\mu}_{el}$  und  $\vec{\mu}_{vib}$ . Somit stellt der Winkel  $\theta$  eine äußerst nützliche Information dar, die sich mit der Struktur des untersuchten Moleküls, unter Zuhilfenahme von DFT-Berechnungen der  $\vec{\mu}_{vib}$  (Abschnitt 2.8), verankern lässt. Wie ich im nächsten Abschnitt zeigen werde, ist es beispielsweise möglich durch Kombination mehrerer Winkel die 3D-Orientierung eines elektronischen ÜDM zu berechnen.

Die Berechnung der relativen Winkel  $\theta$  an sich erfolgt über das dichroitische Verhältnis  $D$  mit

$$D = \frac{A_{\parallel}}{A_{\perp}} \quad (3.9)$$

wobei  $A_{\parallel}$  und  $A_{\perp}$  die Absorptionsänderungen  $\Delta OD$  der Abtastungen sind, die über die Messgleichungen 2.1 und 2.2 in Abschnitt 2.7 aus den gemessenen *Probe*-Intensitäten bestimmt werden. Der Index  $\parallel$  und  $\perp$  gibt dabei an, wie die Polarisation des betreffenden *Probe*-Strahls zum *Pump*-Strahl ist. Der relative Winkel  $\theta$  lässt sich in Abhängigkeit von  $D$  berechnen zu

$$\theta = \arccos \sqrt{\frac{2D - 1}{D + 2}}. \quad (3.10)$$

---

**Herleitungsskizze:** Ausgangspunkt ist die Definition der Anisotropie  $r$ , welche sich mit Gl. 3.9 (und  $I \propto A$ ) umformen lässt zu

$$r = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + 2I_{\perp}} = \frac{D - 1}{D + 2} \quad \Rightarrow \quad D = \frac{1 + 2r}{1 - r}. \quad (3.11)$$

Die Anisotropie  $r$  selbst ist das Produkt der Anfangsanisotropie bzw. Grenzanisotropie  $r_0$  und der Anisotropie der achsialsymmetrischen Ausgangsverteilung  $r(\theta)$ . Für die Grenzanisotropie ergibt sich  $r_0(t = 0) = 0, 4$ , wenn Absorption und Emission zum bzw. vom gleichen Zustand erfolgen [75]. Zur Bestimmung der Anisotropie der achsialsymmetrischen Ausgangsverteilung muss die Verteilungsfunktion der PhotoSelektion beachtet werden für die gilt  $P(\theta) \propto \cos^2 \theta$ . Somit ergeben sich die Intensitäten zu

$$I_{\parallel} = I_0 \cdot \overline{\cos^2 \theta} \quad (3.12)$$

$$I_{\perp} = I_0 \cdot \overline{\sin^2 \theta \cdot \sin^2 \phi}. \quad (3.13)$$

Einsetzen dieser Intensitäten in die Definition der Anisotropie  $r$  ergibt mit der Vereinfachung aufgrund der Achsialsymmetrie ( $\overline{\sin^2 \phi} = 1/2$ )

$$r(\theta) = \frac{I_0 \cdot \overline{\cos^2 \theta} - I_0/2 \cdot \overline{\sin^2 \theta}}{I_0 \cdot \overline{\cos^2 \theta} + 2I_0/2 \cdot \overline{\sin^2 \theta}}. \quad (3.14)$$

Verwendet man den Satz des Pythagoras  $\sin^2 \theta + \cos^2 \theta = 1$ , so vereinfacht sich  $r(\theta)$  zum  $P_2$  Legendre-Polynom.

$$r(\theta) = 1/2 \cdot (3 \cdot \overline{\cos^2 \theta} - 1) = P_2(\cos \theta) \quad (3.15)$$

Somit folgt insgesamt  $r(t=0) = r_0 \cdot r(\theta) = 2/5 \cdot P_2(\cos \theta)$ , eingesetzt in  $D(r)$  Gl. 3.11 ergibt sich nach einigen Umformungen 3.10.

Die Funktion  $\theta(D)$ , dargestellt in Abbildung 3.4, ist eine nichtlineare, monoton fallende Funktion, definiert im Bereich:  $0,5 \leq D \leq 3$ . Ist die Absorptionsänderung  $A_{\parallel}$  dreimal so groß wie  $A_{\perp}$ , so ist  $\vec{\mu}_{vib}$  parallel zu  $\vec{\mu}_{el}$  und  $\theta = 0^\circ$ , ist sie nur halb so groß, so steht  $\vec{\mu}_{vib}$  senkrecht auf  $\vec{\mu}_{el}$  ( $\theta = 90^\circ$ ) und für  $D = 1$ , also gleichstarker paralleler und senkrechter Amplituden, ergibt sich der magische Winkel von  $\theta = 54,7^\circ$ .

Um einen realistischen Fehlerbereich der Winkel zu bestimmen, wurde eine ExSeAn der Amplituden durchgeführt. Entsprechend ihrer Unsicherheit ergeben sich für jeden Vertrauensbereich der Amplituden Winkelbereiche mit den Grenzwinkeln

$$\theta_{min} = \theta(D_{max}) \quad (3.16)$$

$$\theta_{max} = \theta(D_{min}) \quad (3.17)$$

wobei  $D_{max}$  und  $D_{min}$  durch eine obere Abschätzung angenommen wurden zu

$$D_{max} = \frac{A_{\parallel}^{max}}{A_{\perp}^{min}} \quad (3.18)$$

$$D_{min} = \frac{A_{\parallel}^{min}}{A_{\perp}^{max}}. \quad (3.19)$$

### 3.5. 3D-Lageberechnung durch Winkelkombination

Die Kombination mehrerer Winkel ermöglicht es, die 3D-Orientierung des elektronisch angeregten ÜDM im Molekül zu ermitteln. Eine eindeutige Bestimmung der 3D-Orientierung im Molekül erfordert die Messung von mindestens drei Winkeln zwischen linear unabhängigen Orientierungen von Vibrationsübergangsdipolmomenten ( $\vec{\mu}_{vib}$ ) und dem angeregten elektronischen ÜDM ( $\vec{\mu}_{el}$ ) sowie der theoretischen Berechnung der  $\vec{\mu}_{vib}$  mittels DFT (Abschnitt 2.8), um die Winkel mit der molekularen Struktur verknüpfen zu können. Im Folgenden wird beschrieben, wie die Lageberechnung durchgeführt wurde.

Abb. 3.5 veranschaulicht das simple Prinzip am Beispiel des Chlorophyll *a*. Die durch-

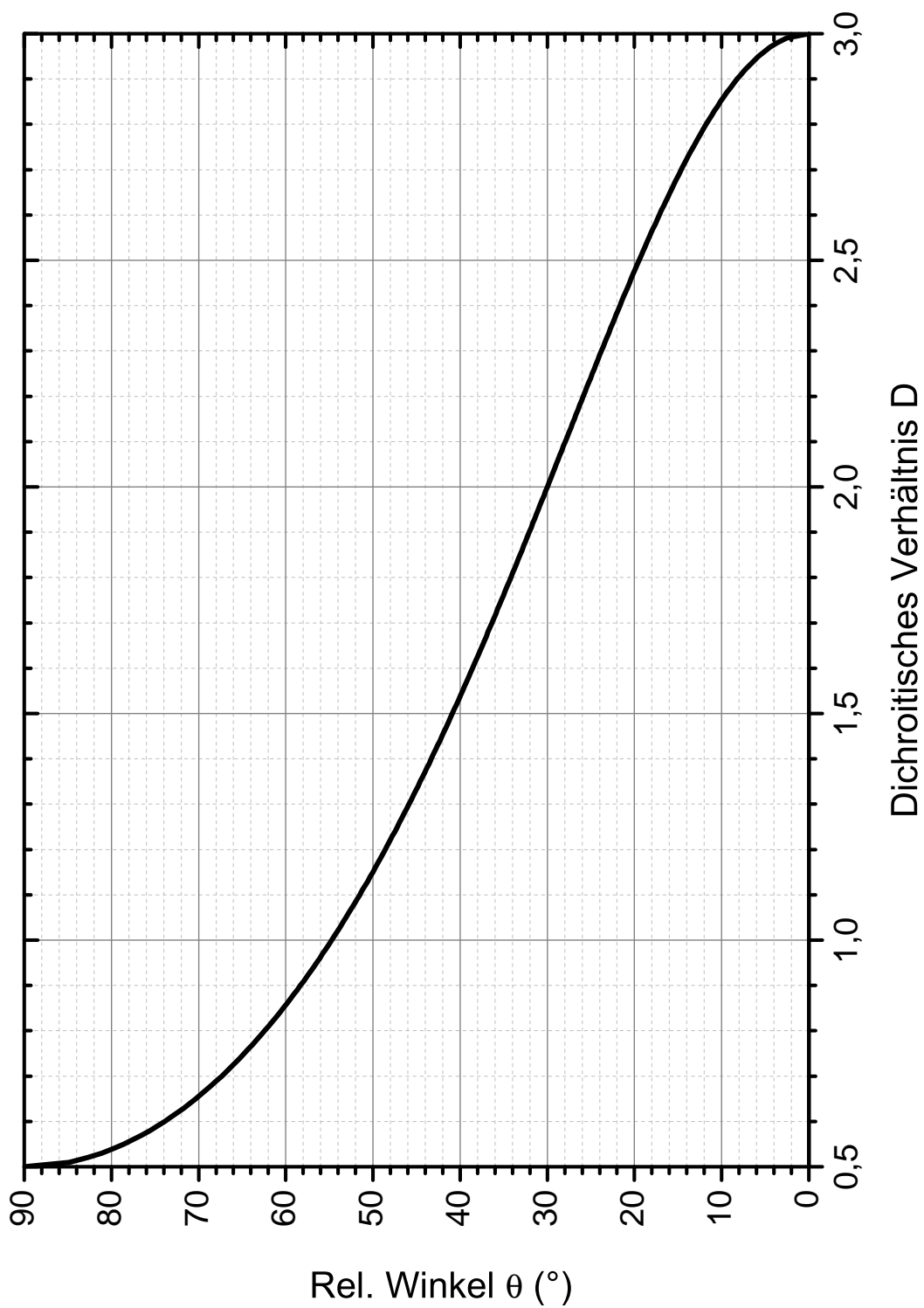


Abbildung 3.4.: Relative Winkel  $\theta$  in Abhängigkeit vom dichroitischen Verhältnis  $D$  (Gl. 3.10).

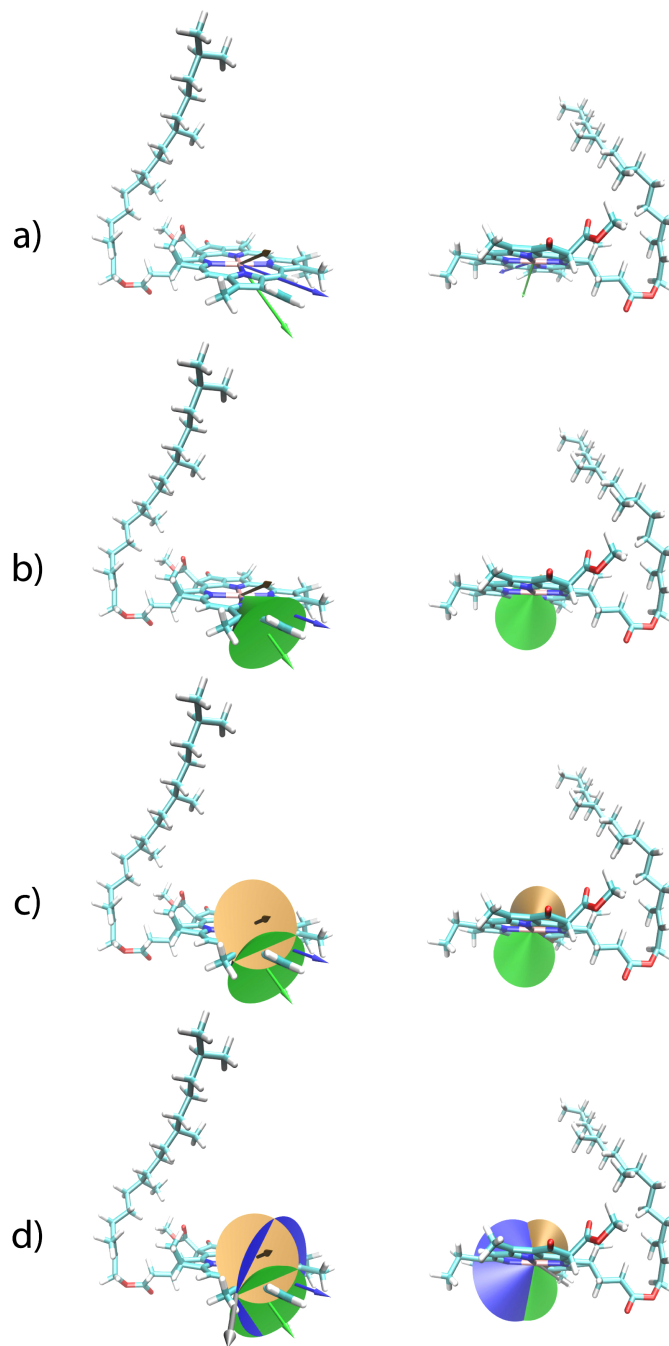


Abbildung 3.5.: Bestimmung der 3D-Lage des elek. Übergangsdipolmomentes  $\vec{\mu}_{el}$ : a) Mit DFT ermittelte geometrieoptimierte Struktur sowie Übergangsdipolmomente der Schwingungsübergänge  $\vec{\mu}_{vib1}$  (grün),  $\vec{\mu}_{vib2}$  (ocker) und  $\vec{\mu}_{vib3}$  (blau). b)  $\vec{\mu}_{el}$  muss sich auf dem Kegel um  $\vec{\mu}_{vib1}$  befinden, Öffnungswinkel  $\theta_1$  exp. bestimmt. c) Bestimmung eines weiteren Winkels  $\theta_2$  ( $\rightarrow$  ocker Kegel) reduziert Lösungsmenge des  $\vec{\mu}_{el}$  auf 2 Schnittgeraden beider Kegel. d) Exp. Bestimmung eines dritten Winkels fixiert Lage des  $\vec{\mu}_{el}$  (grauer Vektor).



geführten theoretischen Berechnungen im Grundzustand an der bekannten Struktur ermöglichen die Bestimmung der Schwingungsmoden und ihrer Übergangsdipolmomente (Abb. 3.5 a)) eine exp. Ermittlung der relativen Winkel zum angeregten elektronischen Übergangsdipolmoment anschließend die Bestimmung der 3D-Lage des  $\vec{\mu}_{el}$  (Abb. 3.5 b)-d)). Durch Verwendung der Photoselektion ist die Richtung des  $\vec{\mu}_{el}$  im Raum gegeben (parallel zur *Pump*-Polarisation) und durch die polarisationsaufgelöste Abtastung einer  $\vec{\mu}_{vib1}$  der relative Winkel  $\theta_1$  zwischen  $\vec{\mu}_{el}$  und  $\vec{\mu}_{vib1}$  bekannt. Demzufolge kann  $\vec{\mu}_{vib1}$  überall auf einem Kegel um  $\vec{\mu}_{el}$  mit dem Öffnungswinkel  $\theta_1$  liegen; Die Kegelfläche gibt alle möglichen Orientierungen an, die  $\vec{\mu}_{vib1}$  haben kann. Umgekehrt gilt natürlich auch, dass  $\vec{\mu}_{el}$  auf einem Kegel (grün) mit dem Öffnungswinkel  $\theta_1$  um  $\vec{\mu}_{vib1}$  (grüner Vektor) liegen muss, dargestellt in Abbildung 3.5 b). Die Abtastung eines zweiten linear unabhängigen Übergangsdipolmomentes  $\vec{\mu}_{vib2}$  (ocker Vektor) definiert einen zweiten Kegel (ocker) mit Öffnungswinkel  $\theta_2$ , auf welchem  $\vec{\mu}_{el}$  ebenfalls liegen muss (Abb. 3.5 c)). Die Lösungsmenge für die 3D-Orientierung des  $\vec{\mu}_{el}$  reduziert sich durch die zweite Messung bestenfalls auf zwei Schnittgeraden der beiden Kegel. Ein dritter Kegel (blau) mit dem Winkel  $\theta_3$  für das dritte  $\vec{\mu}_{vib3}$  (blauer Vektor) kann nicht zu mehr als einer einzigartigen Schnittgeraden (grauer Vektor in Abb. 3.5 d)) aller drei Kegel führen, die die dreidimensionale Lage des  $\vec{\mu}_{el}$  in der molekularen Struktur eindeutig fixiert [82][83][136]. Die Hinzunahme von weiteren Vibrations-ÜDM zur Analyse reduziert potenziell den Fehlerbereich der bestimmten Orientierung des elektronischen ÜDM, wie in Kapitel 5 und [136] gezeigt wird.

Die Berechnung der 3D-Lage des  $\vec{\mu}_{el}$  anhand der Daten nach dem vorgestellten Prinzip erfolgte unter Verwendung eines selbst geschriebenen Programms. Ausgangspunkt für den Algorithmus ist das Skalarprodukt aus  $\vec{\mu}_{el}$  und  $\vec{\mu}_{vib}$

$$\cos \theta = \frac{\vec{\mu}_{el} \cdot \vec{\mu}_{vib}}{|\vec{\mu}_{el}| \cdot |\vec{\mu}_{vib}|}. \quad (3.20)$$

Durch die zweite und dritte Messung ergeben sich zusätzliche Bedingungen, die erfüllt werden müssen und zum Gleichungssystem

$$\begin{pmatrix} \cos \theta_1 \\ \cos \theta_2 \\ \cos \theta_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \hat{\mu}_{vib,x}^{(1)} & \hat{\mu}_{vib,y}^{(1)} & \hat{\mu}_{vib,z}^{(1)} \\ \hat{\mu}_{vib,x}^{(2)} & \hat{\mu}_{vib,y}^{(2)} & \hat{\mu}_{vib,z}^{(2)} \\ \hat{\mu}_{vib,x}^{(3)} & \hat{\mu}_{vib,y}^{(3)} & \hat{\mu}_{vib,z}^{(3)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \hat{\mu}_{el,x} \\ \hat{\mu}_{el,y} \\ \hat{\mu}_{el,z} \end{pmatrix} \quad (3.21)$$

führen, deren analytische Lösung

$$\begin{pmatrix} \hat{\mu}_{el,x} \\ \hat{\mu}_{el,y} \\ \hat{\mu}_{el,z} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \hat{\mu}_{vib,x}^{(1)} & \hat{\mu}_{vib,y}^{(1)} & \hat{\mu}_{vib,z}^{(1)} \\ \hat{\mu}_{vib,x}^{(2)} & \hat{\mu}_{vib,y}^{(2)} & \hat{\mu}_{vib,z}^{(2)} \\ \hat{\mu}_{vib,x}^{(3)} & \hat{\mu}_{vib,y}^{(3)} & \hat{\mu}_{vib,z}^{(3)} \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} \cos \theta_1 \\ \cos \theta_2 \\ \cos \theta_3 \end{pmatrix} \quad (3.22)$$

ist.  $\hat{\mu}$  stellt dabei jeweils den normierten Vektor  $\vec{\mu}/|\vec{\mu}|$  dar.

Nun sind die relativen Winkel  $\theta$  fehlerbehaftete Größen, weswegen die Lösung nicht mehr ein einzelner Vektor sondern vielmehr eine Lösungsmenge ist. Die Lösungsmethode

musste deshalb modifiziert werden. Anhand der in Abschnitt 3.3 beschriebenen ExSe-An wurden für mehrere Vertrauensbereiche VB zwischen 0,525 und 0,990 der jeweils zugehörige Winkelbereich bzw. Winkelfehlerbereich ermittelt und jedem Bereich eine Wahrscheinlichkeit  $p$  nach folgendem Prinzip zugeordnet:

Jedem Vertrauensbereich VB wurde die Wahrscheinlichkeit  $p = 1 - VB$  zugeordnet, beispielsweise hätte der 1- $\sigma$ -Bereich bzw. der Vertrauensbereich VB von 0,675 die zugeordnete Wahrscheinlichkeit  $p = 0,325$ . Jedem ausgewählten Winkel wiederum wird die Wahrscheinlichkeit des kleinsten Vertrauensbereiches zugeordnet, indem der Winkel noch enthalten ist, z. B. wenn der ausgewählte Winkel  $\theta$  im Vertrauensbereich VB von 0,700 aber nicht in dem von 0,725 liegt, dann ist die zugeordnete Wahrscheinlichkeit  $p = 0,3$ .

Für alle drei  $\vec{\mu}_{vib}$  wurde der zum 3- $\sigma$ -Bereich ( $VB = 0,990$ ) gehörende Winkelbereich bezüglich  $\vec{\mu}_{el}$  in bis zu 201 äquidistante Winkelabschnitte unterteilt<sup>‡</sup>. Der Algorithmus überprüfte jede der  $201^3 \cong 8.12$  Mio. möglichen Winkelkombinationen unter Verwendung der Gleichung 3.22 auf Lösungen und ordnete jeder gefundenen Lösung<sup>§</sup> die Gesamtwahrscheinlichkeit  $p_g = p_1 \cdot p_2 \cdot p_3$  zu, wobei  $p_{1,2,3}$  die Einzelwahrscheinlichkeiten der Vertrauensbereiche der für die jeweilige Lösung verwendeten Winkel sind. Es wurde auf die Summe aller Lösungen normiert, da mathematisch eine Lösung vorliegen muss. Somit lassen sich die gefundenen Lösungen der 3- $\sigma$ -Lösungsmenge hinsichtlich ihrer Wahrscheinlichkeit differenzieren.

Die Lösungsmenge selbst stellt einen Ausschnitt der Kugeloberfläche einer Einheitskugel (siehe Abb. 3.6) dar, deren Mittelpunkt der Koordinatenursprung des verwendeten Koordinatensystems für die DFT-Berechnungen der Struktur und Schwingungen der jeweiligen Moleküle ist. Alle Vektoren vom Mittelpunkt der Kugel zur Lösungsfläche sind 3D-Orientierungen des  $\vec{\mu}_{el}$  innerhalb des 3- $\sigma$ -Vertrauensbereiches. Jeder Lösung ist wie bereits geschrieben eine Wahrscheinlichkeit  $p_g$  zugeordnet. Allen Wahrscheinlichkeiten  $p_g$  wurden wiederum Farbwerte zugeordnet. Zur Bestimmung des 1- und 2- $\sigma$ -Bereiches der Lösungsfläche wurden die nach Größe sortierten Wahrscheinlichkeiten  $p_g$  aller Lösungen bis zu 0,675 respektive 0,95 aufsummiert und dargestellt (hier nicht gezeigt). Der 1- $\sigma$ -Bereich entspricht in allen Darstellungen immer dem grünen bis roten Bereich.

<sup>‡</sup>Genauer gesagt wurde der Kosinus des Winkelbereichs unterteilt.

<sup>§</sup>Eine analytische Lösung aus einer willkürlichen Kombination dreier gerundeter relativer Winkel genau zu treffen, ist nahezu unmöglich. Deshalb wurden näherungsweise Lösungen mit einer Abweichung von max.  $1/3^\circ$  zugelassen. D.h.:  $\angle \vec{\mu}_{el}, \vec{\mu}_{vib1..3} - \theta_{1..3} \leq 1/3^\circ$ .

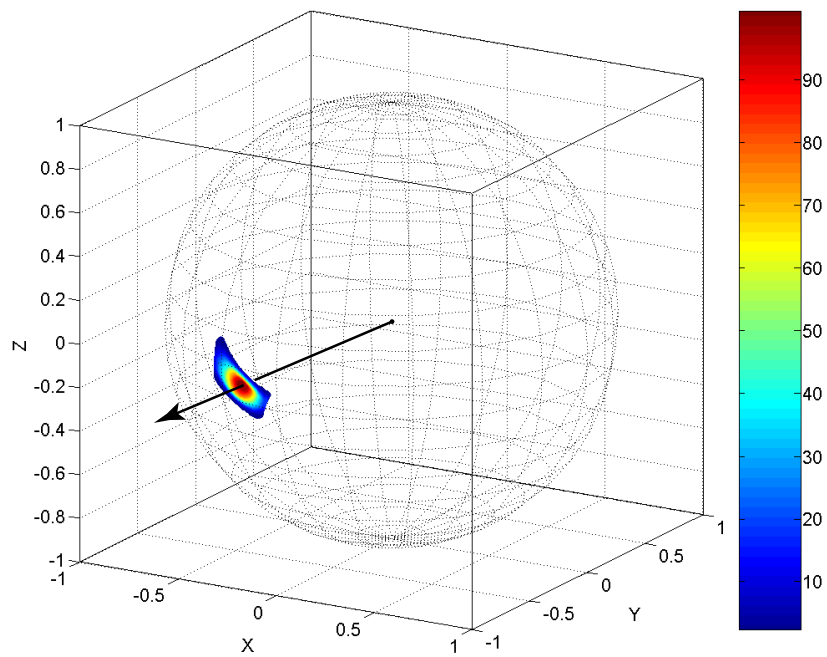


Abbildung 3.6.: Beispiel für die wahrscheinlichste Lösung der 3D-Lage eines untersuchten  $\vec{\mu}_{el}$  (Pfeil). Alle Vektoren vom Mittelpunkt der Einheitskugel zur Lösungsfläche sind Lösungen, deren Wahrscheinlichkeiten farbcodiert sind. Das Koordinatensystem wird von den theoretischen Berechnungen der Struktur sowie der  $\vec{\mu}_{vib}$  übernommen.



---

## 4. Chlorophyll *a* – Dreidimensionale Orientierung des $Q_y$ Übergangsdipolmoments

---

### 4.1. Intention

Die Umwandlung des Sonnenlichts in biochemische Energie durch die Photosynthese dient als Hauptenergiequelle der Pflanzen und einiger Bakterien und stellt damit die Grundlage allen Lebens auf der Erde dar. Zur Nutzbarmachung dieser Energiequelle wird das Sonnenlicht mit speziellen Proteinkomplexen den sogenannten Lichtsammel- oder Antennenkomplexen aufgefangen und die elektromagnetische Anregung zu den Reaktionszentren weitergeleitet, wo die Ladungstrennung stattfindet. Die Lichtsammelkomplexe beinhalten eine spezielle Anordnung photosynthetischer Pigmente wie Chlorophyll bzw. Bakteriochlorophyll und Carotinoide. Die Effizienz des Energietransfers zwischen z. B. den Chlorophyllmolekülen hängt von der Stärke und Orientierung der elektronischen Übergangsdipolmomente der  $Q$ -Bande ab. Das Wissen der genauen 3D-Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes innerhalb der Struktur der Chlorophyll ist deswegen von großer Bedeutung. Das  $Q_y$ -Übergangsdipolmoment ist ein wichtiger Parameter, um den Energietransfer zu studieren [106]. Es ist Voraussetzung zur Berechnung optischer Spektren und exzitonischer Kopplungen in den Lichtsammelkomplexen bzw. zur Berechnung der Chlorophyll-Chlorophyll Wechselwirkungen [91][106][114].

Frühere theoretische Berechnungen sagen voraus, dass das  $Q_y$ -Übergangsdipolmoment parallel zur  $Y$ -Achse\* ist [85]. Neuere Berechnungen ergeben hingegen eine leicht abweichende Lage des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments von der  $Y$ -Achse um  $2,3^\circ$  und von der Chlorinebene um  $1,5^\circ$  [106]. Abhängig von der verwendeten Methode, der betrachteten Molekülstruktur und Seitengruppen sowie der Umgebung des Moleküls ergeben sich unterschiedliche Resultate. Eine weitere Schwierigkeit der theoretischen Vorhersagen besteht zudem in der erforderlichen Berechnung der Wellenfunktionen des elektronisch angeregten Zustandes. Solche Berechnungen sind weniger zuverlässig als Berechnungen der Wellenfunktionen des elektronischen Grundzustandes. Auf Grundzustandsberechnungen basierende Methoden, wie die in dieser Arbeit vorgestellten Möglichkeit der 3D-Bestimmung von Übergangsdipolmomenten, ermöglichen somit solidere Ergebnisse.

---

\*Konvention der Achsen in den Abb. 4.5-4.7, 4.13 enthalten.

Experimentell ist die Thematik der Orientierung von Übergangsdipolmomenten bereits Ende der 70er Jahre oft bearbeitet worden. Es gibt beispielsweise eine Reihe optischer Untersuchungen an Proteinkomplexen mit Pigmenten, die sich mit einer Bestimmung der Orientierung verschiedener Übergangsdipolmomente zueinander beschäftigt haben z. B. [111][125][143]. Auch wurden Experimente mit Magnetophotoselektion durchgeführt und die relative Orientierung von Übergangsdipolmomenten bzgl. magnetischer Achsen im Pigment bestimmt [15][34] sowie Messungen an Chlorophyllid enthaltenden Einkristallen mit der Ermittlung der Orientierung bzgl. der Kristallachsen [14]. Erste Ergebnisse der Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments bzgl. der Struktur selbst statt relativ zu anderen Übergangsdipolmomenten, magnetischen Achsen oder Kristallachsen wurden einige Jahre später erzielt. So wurden optische Experimente zur Bestimmung der Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments von Chl *a* in der molekularen Struktur an teilweise *ausgerichteten* Proben durchgeführt, z. B. an gedehnten dünnen Filmen (van Zandvoort et al. [142]) oder *ausgerichteten* Flüssigkristallen (Fragata et al. [33]). Moog et al. [94] sowie Kleima et al. [68] untersuchten die Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments mittels Fluoreszenzanisotropie an einem Hämoglobin-Hybriden mit substituierten Chlorophylliden respektive an Peridinin-Chlorophyll-*a*-Protein. Fragata et al. folgerten aus ihren Experimenten einen Winkel von  $70^\circ$  zwischen dem  $Q_y$ -ÜDM und der X-Achse des Chl *a*, wohingegen van Zandvoort et al. einen Winkel von  $(105 \pm 2)^\circ$  erhielten. Kleima et al. ermittelten eine Abweichung der Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments von der Y-Achse zwischen  $2-7^\circ$ . In den drei Fällen wurde jedoch eine Lage des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments innerhalb der Chlorinebene postuliert. Moog et al. zogen zumindest eine mögliche Abweichung von der Ebene um  $\pm 5^\circ$  in Betracht und ermittelten eine Orientierung des Übergangsdipolmoments bzgl. der X-Achse von  $93-97^\circ$ .

Eine *tatsächliche* 3D-Bestimmung der Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments verknüpft mit der molekularen Struktur von Chl *a* war ein Ziel dieser Arbeit und wurde durch die Kombination von DFT-Berechnungen im Grundzustand sowie Femtosekunden polarisationsaufgelöster UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie erstmals erreicht. Ergebnisse dieses Kapitels wurden in J. Am. Chem. Soc. 2008 [82] und ChemPhysChem 2010 [83] veröffentlicht.

## 4.2. Proben und Durchführung

Das untersuchte Chl *a* (Abb. 4.1) stammt von Spinat und wurde bei *Sigma-Aldrich Chemie GmbH* erworben und unverändert verwendet. Für die Messungen wurde es in gelöster Form mit einer Konzentration von 1-2 mM eingesetzt. Als Lösungsmittel diente deuteriertes Toluol (Toluol- $d_8$ ), ebenfalls erworben bei *Sigma-Aldrich Chemie GmbH*. Bei den Experimenten wurde die Probenkammer (siehe Abb. 2.9 auf S. 17) mit einer Dicke von  $100 \mu\text{m}$  benutzt. Sie wurde während der Messungen durchgehend bewegt, um Doppelbeleuchtungen dergleichen Moleküle zu vermeiden.

Anregung von Chl *a* fand bei einer Wellenlänge von 665 nm mit einer horizontalen/vertikalen Ausdehnung des *Pump*-Strahls im Fokus von  $350/450 \mu\text{m}$  statt. Der Fokus

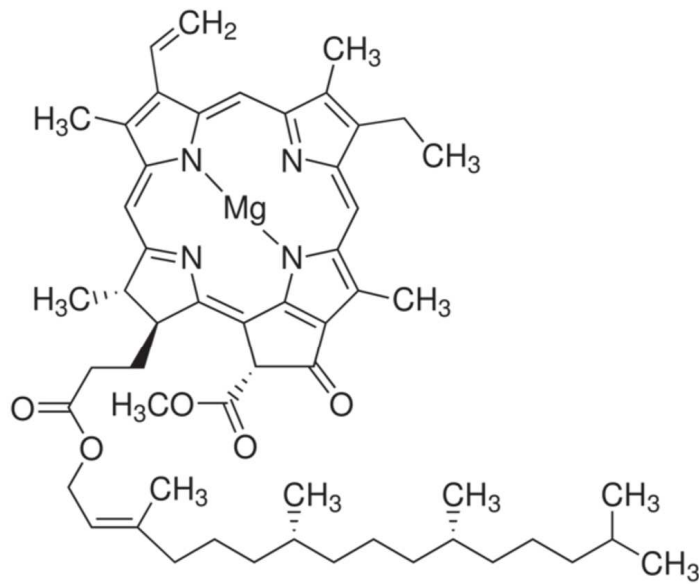


Abbildung 4.1.: Struktur von Chl *a*, Graphik entnommen vom Datenblatt des Vertreibers.

der beiden *Probe*-Strahlen betrug 280/210  $\mu\text{m}$  bzw. 210/300  $\mu\text{m}$ . Die *Pump*-Intensität wurde so eingestellt, dass weniger als 3% der Chl *a* - Moleküle angeregt wurden. Die Chl *a*-Proben wurden im Bereich von 1150 bis 1800  $\text{cm}^{-1}$  abgetastet, jeweils 50  $\text{cm}^{-1}$  pro Experiment. Die Zeitaufösung der Experimente betrug etwa 300 fs und war hauptsächlich durch die verschiedenen Gruppengeschwindigkeiten der *Pump*- und *Probe*-Pulse begrenzt (*Group Velocity Mismatch*, GVM [19][108]) begrenzt.

Es wurde jeweils eine Eichmessung mit einem Polymerfilm durchgeführt und das Spektrometer gegebenenfalls spektral korrigiert. Die Bestimmung des Zeitnullpunktes der Verzögerungsstrecke d.h. die Position der Verzögerungsstrecke, bei der *Pump*- und *Probe*-Strahlen die gleiche Länge haben, wurde durch eine Eichmessung mit einem Germaniumplättchen durchgeführt und der Zeitnullpunkt entsprechend neu gesetzt. Alle *Pump-Probe*-Experimente wurden bei Raumtemperatur ca. 23 °C und niedriger Luftfeuchtigkeit (üblicherweise 10% im Labor und <5% am optischen Tisch) durchgeführt. Vor und nach jedem FS-Pol-PPS-Experiment wurden Vis- und IR-Absorptionsspektren von der untersuchten Chl *a*-Probe aufgezeichnet. Die Aufnahme der Absorptionsspektren erfolgte ebenfalls bei Raumtemperatur ca. 23 °C, das Fourier-Transform-Infrarotspektrometer (FTIR [5]), welches zur Bestimmung des IR-Absorptionsspektrums diente, wurde zusätzlich mit entfeuchteter Luft gespült.

Informationen zum Messaufbau und Durchführung der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie sind im Kapitel 2 angegeben.

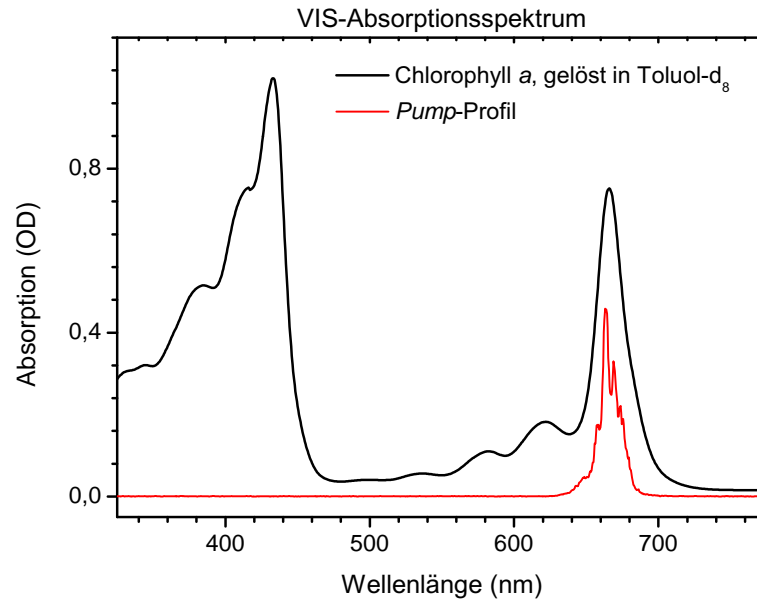


Abbildung 4.2.: Vis-Absorptionsspektrum von Chl *a* gelöst in Toluol-d<sub>8</sub> (schwarz) sowie *Pump*-Profil des Anregungslichts (rot).

### 4.3. Vis- und IR-Absorptionsspektren

Ein gemessenes Vis-Absorptionsspektrum des Chl *a* ist in Abbildung 4.2 schwarz dargestellt. Es zeichnet sich durch zwei charakteristische Absorptionsbanden aus: Der Soret-Bande im blauen Spektralbereich und der Q<sub>y</sub>-Bande im roten. Die elektronische Anregung des Chl *a* erfolgte mit linear polarisierten *Pump*-Pulsen in der Q<sub>y</sub>-Bande der Moleküle. Das Maximum des *Pump*-Spektrums (rot dargestellt) lag bei 665 nm und die Breite betrug ca. 14 nm.

Abbildung 4.3 zeigt einen Ausschnitt gemessener IR-Absorptionsspektren der Chl *a*-Lösung (schwarz), des reinen Lösungsmittels (grau) und der Differenz (grün). Die Spektren sind hauptsächlich durch starke Absorptionen des Lösungsmittels geprägt, die auf Kohlenstoffstretschwingungen des aromatischen Rings sowie Biegeschwingungen zwischen Kohlenstoff und Deuterium zurückzuführen sind. Durch die Ungenauigkeit des Spektrometers bei hohen Absorptionen und durch evtl. Unterschiede der Probenkammern und ihrer Position/Ausrichtung im Spektrometer ist die Differenz in Abb. 4.3 c) nicht gänzlich vom Lösungsmittel bereinigt. Die signifikantesten Absorptionen im Differenzspektrum liegen im Bereich von 1680 bis 1760 cm<sup>-1</sup>, in diesem Bereich erwartet man Carbonylschwingungen des Chl *a*. Es sind in den IR-Spektren keine Anzeichen einer Wasserabsorption sichtbar, ferner wurde keine starke Schwingungsbande bei 1650 cm<sup>-1</sup> beobachtet, die auf aggregierte Chl *a*-Moleküle hinweisen könnte [22]. Da zudem das Vis-Spektrum (siehe Abb. 4.2) ein Absorptionsmaximum bei 665 nm aufwies ohne zusätzliche Absorptionsbande oder einer Schulter zu höheren Wellenlängen, kann die



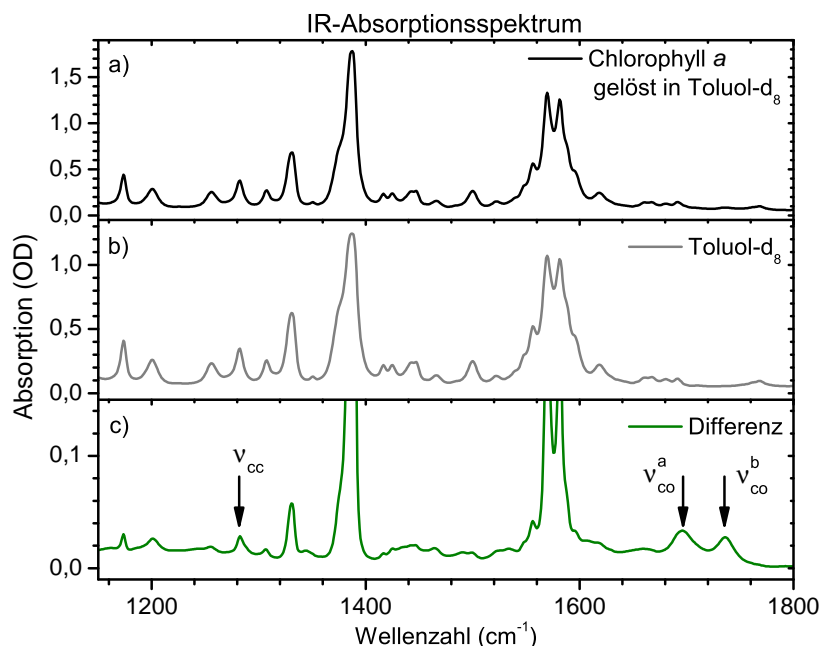


Abbildung 4.3.: a) IR-Absorptionsspektrum von Chl *a* gelöst in Toluol- $d_8$  (schwarz). b) IR-Absorptionsspektrum von Toluol- $d_8$  (grau). c) Differenzspektrum (grün), abgetastete Schwingungsbanden markiert.

Möglichkeit einer Chl *a*-Aggregation vernachlässigt werden [55].

Aufgrund der Tatsache, dass nur anregungsinduzierte Absorptionsänderungen registriert werden (siehe Abschnitt 2.7), unterscheiden sich die entsprechend aufgenommenen Absorptionsänderungsspektren von IR-Absorptionsspektren. Nicht jede IR-Absorptionsbande des Chl *a*-Spektrums in Abb. 4.3 führt zu einem auswertbaren Signal, ebenso müssen die Signalstärken der IR-Absorptionsbanden und deren Verhältnisse zueinander nicht unbedingt mit den entsprechenden Signalen der Absorptionsänderungen übereinstimmen. Durch die Anregung der  $Q_y$ -Bande ist zu erwarten, dass primär die Schwingungsbanden des Chlorinringes von Chl *a* einer messbaren Absorptionsänderung unterliegen.

Die drei stärksten Signale der polarisationsaufgelösten *Pump-Probe*-Messungen waren Bleichbanden mit den Wellenzahlen:  $\nu_{cc} = 1288 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{co}^a = 1698 \text{ cm}^{-1}$  und  $\nu_{co}^b = 1739 \text{ cm}^{-1}$ . Die entsprechenden IR-Absorptionsbanden sind in Abb. 4.3 mit Pfeilen kenntlich gemacht und in Abbildung 4.4 vergrößert dargestellt. Die Linienform wird durch Stoßverbreiterung dominiert und sie lässt sich sehr gut durch Lorentzkurven der Breite  $\Delta\nu_{cc} = 8 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\Delta\nu_{co}^a = 33 \text{ cm}^{-1}$  und  $\Delta\nu_{co}^b = 19 \text{ cm}^{-1}$  beschreiben. Die Schwingungsmode  $\nu_{cc}$  lässt sich einer Biegeschwingung des Tetrapyrrolrings zuordnen [4][118] und die charakteristischen Banden  $\nu_{co}^a$  sowie  $\nu_{co}^b$  entstehen durch Streckmoden der Carbonylgruppen des Chlorinrings sowie der Esterseitengruppe [4][16][40][43][118].

DFT-Berechnungen wurden durchgeführt mit *Gaussian03* [36], um die Struktur des Chl *a*-Moleküls im Grundzustand zu bestimmen sowie die Normalmoden der Schwin-

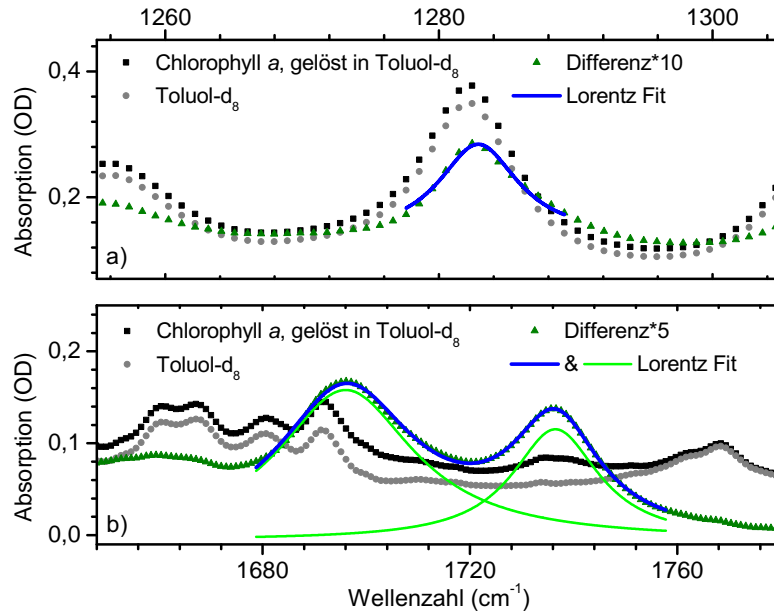


Abbildung 4.4.: Vergrößerter Ausschnitt der IR-Absorptionsspektren der Abb. 4.3. Chl *a* gelöst in Toluol-d<sub>8</sub> (schwarz), Toluol-d<sub>8</sub> (grau). a) Mit Faktor 10 skaliertes Differenzspektrum (grüne Dreiecke) im Bereich der abgetasteten Schwingungsbande  $\nu_{cc}$  sowie dessen Lorentz-anpassung (blau). b) Mit Faktor 5 skaliertes Differenzspektrum (grüne Dreiecke) im Bereich der abgetasteten Schwingungsbanden  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$  sowie dessen Lorentz-anpassungen (blau bzw. hellgrün).

gungen im Grundzustand und deren Vibrations-ÜDM. Es wurde das Austausch-Korrelations-Funktional B3LYP und der Basissatz 6-31G\* benutzt. Die Berechnungen fanden in Gasphase statt. Die Darstellungen 4.5, 4.6 und 4.7 zeigen die theoretischen Berechnungen der drei Schwingungen  $\nu_{cc}$ ,  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$  innerhalb des Chl *a*-Moleküls. Die dünnen blauen Pfeile geben die Amplitude der an der Schwingung beteiligten Atome an und der dicke orangene Pfeil das resultierende Übergangsdipolmoment der jeweiligen Schwingungsmoden. Die Schwingungen  $\nu_{cc}$ ,  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$  lassen sich molekularen Schwingungen im Chlorinring zuordnen, in Übereinstimmung mit der Literatur ([4][16][40][43][118]). Die Atomkoordinaten von Chl *a* sind der Tabelle A1 im Anhang A zu entnehmen. Die Koordinaten der drei Vektoren sind in Tab. A2 im Anhang A angegeben und bezüglich des in Abb. 4.5-4.7 dargestellten Koordinatensystems (näheres hierzu in Abschnitt 4.7) in Tab. 4.1 sowie in Tab. A5 Anhang A angegeben. Die Vibrations-ÜDM  $\vec{\mu}_{cc}$ ,  $\vec{\mu}_{co}^a$  und  $\vec{\mu}_{co}^b$  zu den Frequenzen  $\nu_{cc}$ ,  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$  sind linear unabhängig.  $\vec{\mu}_{cc}$  liegt in der X-Y-Ebene, die vom Chlorinring aufgespannt wird und teilt diese nahezu, wohingegen  $\vec{\mu}_{co}^a$  und  $\vec{\mu}_{co}^b$  deutlich nach oben bzw. unten aus der Ebene herausragen bei ähnlich starken Y-Komponenten. Zu beachten ist, dass die Übergangsdipolmomente *auch* durch Vektoren mit umgekehrtem Richtungssinn repräsentiert werden, sie sind gleichwertig. Für späte-

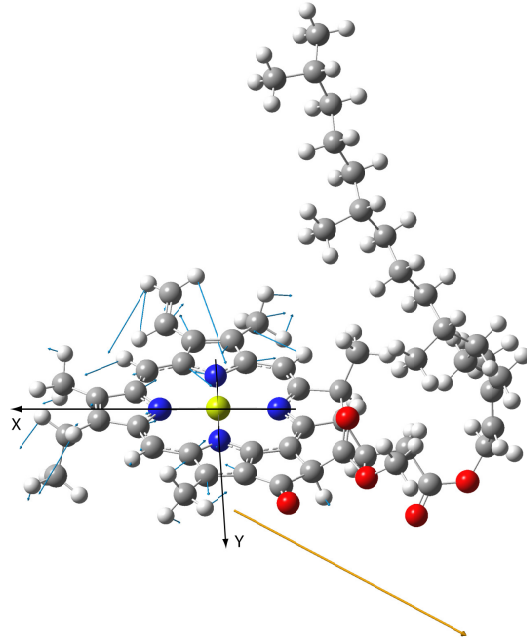


Abbildung 4.5.: Theoretische DFT-Berechnung des Chl *a*-Moleküls mit der Schwingungsmode  $\nu_{cc} = 1288 \text{ cm}^{-1}$ . Relative Atombewegung (blaue Pfeile), Übergangsdipolmoment der Schwingung (orangefarbener Pfeil).

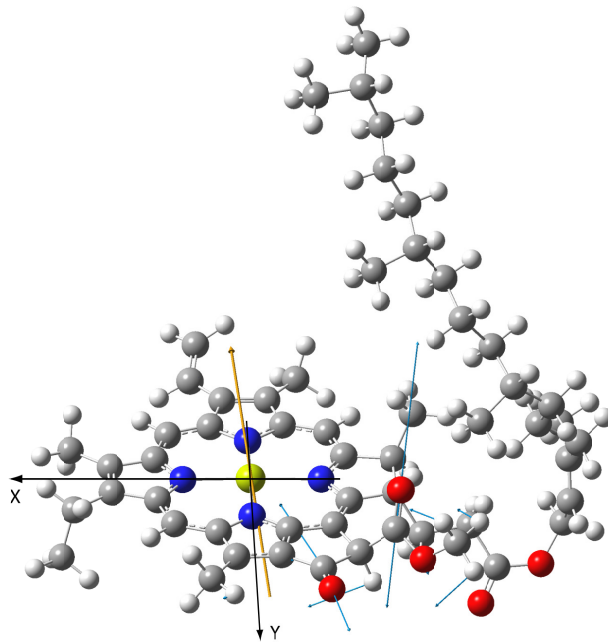


Abbildung 4.6.: Theoretische DFT-Berechnung des Chl *a*-Moleküls mit der Schwingungsmode  $\nu_{co}^a = 1698 \text{ cm}^{-1}$ . Relative Atombewegung (blaue Pfeile), Übergangsdipolmoment der Schwingung (orangefarbener Pfeil).

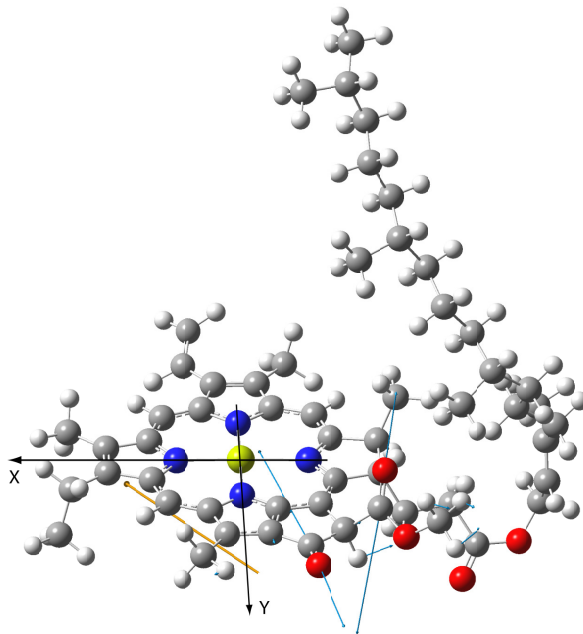


Abbildung 4.7.: Theoretische DFT-Berechnung des Chl *a*-Moleküls mit der Schwingungsmode  $\nu_{co}^b = 1739 \text{ cm}^{-1}$ . Relative Atombewegung (blaue Pfeile), Übergangsdipolmoment der Schwingung (orangefarbener Pfeil).

Schwingungsmode	$\nu$ in $[\text{cm}^{-1}]$	X	Y	Z
$\vec{\mu}_{cc}$	1288	0,66	-0,75	-0,03
$\vec{\mu}_{co}^a$	1698	0,11	-0,91	0,39
$\vec{\mu}_{co}^b$	1739	0,33	-0,89	-0,31

Tabelle 4.1.: Normierte Vektoren der DFT Berechnungen der abgetasteten Übergangsdipolmomente  $\vec{\mu}_{cc}$ ,  $\vec{\mu}_{co}^a$  und  $\vec{\mu}_{co}^b$ . Richtung von  $\vec{\mu}_{cc}$  gegenüber der Berechnung (Abb. 4.5) invertiert (siehe Text).

re Berechnungen ist es sinnvoll, Übergangsdipolmomente mit ähnlichem Richtungssinn zu verwenden, um dies zu gewährleisten, wurde der in Abb. 4.5 dargestellte Vektor  $\vec{\mu}_{cc}$  invertiert verwendet, wie in Tab. 4.1 angegeben.

## 4.4. Dynamik im elektronischen Grundzustand und angeregten Zustand

Zur Ermittlung der Dynamik von Chl *a* nach der Anregung der  $Q_y$ -Bande wurden Simulationen der polarisationsaufgelösten Transienten sowie der errechneten isotropen Signale  $I_{so} = (P + 2S) / 3$  durchgeführt.

Alle polarisationsaufgelösten Transienten des gesamten spektralen Bereichs incl. der drei signalstärksten Schwingungsmoden  $\nu_{cc}$ ,  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$  lassen sich sehr gut global durch zwei Zeitkonstanten beschreiben. Sie betragen  $\tau_1 = (90 \pm 10)$  ps sowie  $\tau_2 = 5$  ns. Die längere Zeitkonstante war wesentlich größer als der gemessene Zeitbereich und wurde deshalb bei der Analyse auf 5 ns festgesetzt. Es handelt sich dabei um die Lebensdauer des angeregten Zustandes von Chl *a* [73][98].

Abbildungen 4.8 und 4.9 zeigen die simulierten polarisationsaufgelösten Transienten der drei Bleichbanden. Die Transienten bei den Frequenzen 1740, 1698 und 1288  $\text{cm}^{-1}$  zeigen unterschiedliche dichroitische Verhältnisse, wobei das dichroitische Verhältnis  $D$  immer größer eins ist, d.h. der Winkel des zugehörigen abgetasteten Übergangsdipolmoments bzgl. des angeregten Übergangsdipolmoments ist immer kleiner als der magische Winkel  $\theta = 54,7^\circ$ . Während das dichroitische Verhältnis  $D$  in Abb. 4.8 a) über 100 ps nahezu konstant bleibt, so verändert es sich in Abb. 4.8 b) und c) mit der Zeitkonstante  $\tau_1$  insbesondere bei 1698  $\text{cm}^{-1}$  deutlich. Das parallele Signal der Bleichbande nimmt mit zunehmender Verzögerungszeit ab, wohingegen das senkrechte Signal zunimmt. Dieses Verhalten kann durch Rotation der Chl *a*-Moleküle im Lösungsmittel mit der Zeitkonstanten  $\tau_1 = (90 \pm 10)$  ps erklärt werden, bei der der senkrechte Signalanteil der abgetasteten Bande des Moleküls auf Kosten des parallelen Anteils steigt.

Rotationen der Moleküle müssen nicht zwangsläufig, wie beobachtet, alle abgetasteten Schwingungsbanden gleichermaßen beeinflussen. Von den drei möglichen Trägheitsmomenten des Moleküls und den zumeist fünf Rotationskorrelationszeiten [20][26] könnte innerhalb der untersuchten Zeitspanne lediglich die schnellste Rotation mit dem kleinsten Trägheitsmoment beobachtbar sein. Ob und wie stark der Effekt der Rotation ist, hängt sowohl von der Größe der Moleküle, deren viskosen Eigenschaften im Lösungsmittel, aber auch von dem Winkel des abgetasteten ÜDM bezüglich der Rotationsachse ab. Rotationen haben keinen Einfluss auf die polarisationsaufgelösten Signale, wenn eine der drei Geometrien vorliegt: a) das abgetastete  $\vec{\mu}_{vib}$  liegt parallel zur Rotationsachse, b) das angeregte  $\vec{\mu}_{el}$  liegt parallel zur Rotationsachse oder c) Rotationsachse und  $\vec{\mu}_{vib}$  schließen den magischen Winkel  $54,7^\circ$  ein. Durch die Drehung zerfällt zwar, abgesehen von Fall b), die durch die Photoselektion erreichte Anisotropie der Moleküle, jedoch hat dies keinen Einfluss auf das dichroitische Verhältnis. Fall b) kann anhand der vorliegenden Ergebnisse ausgeschlossen werden, da hierbei keine der abgetasteten Transienten eine

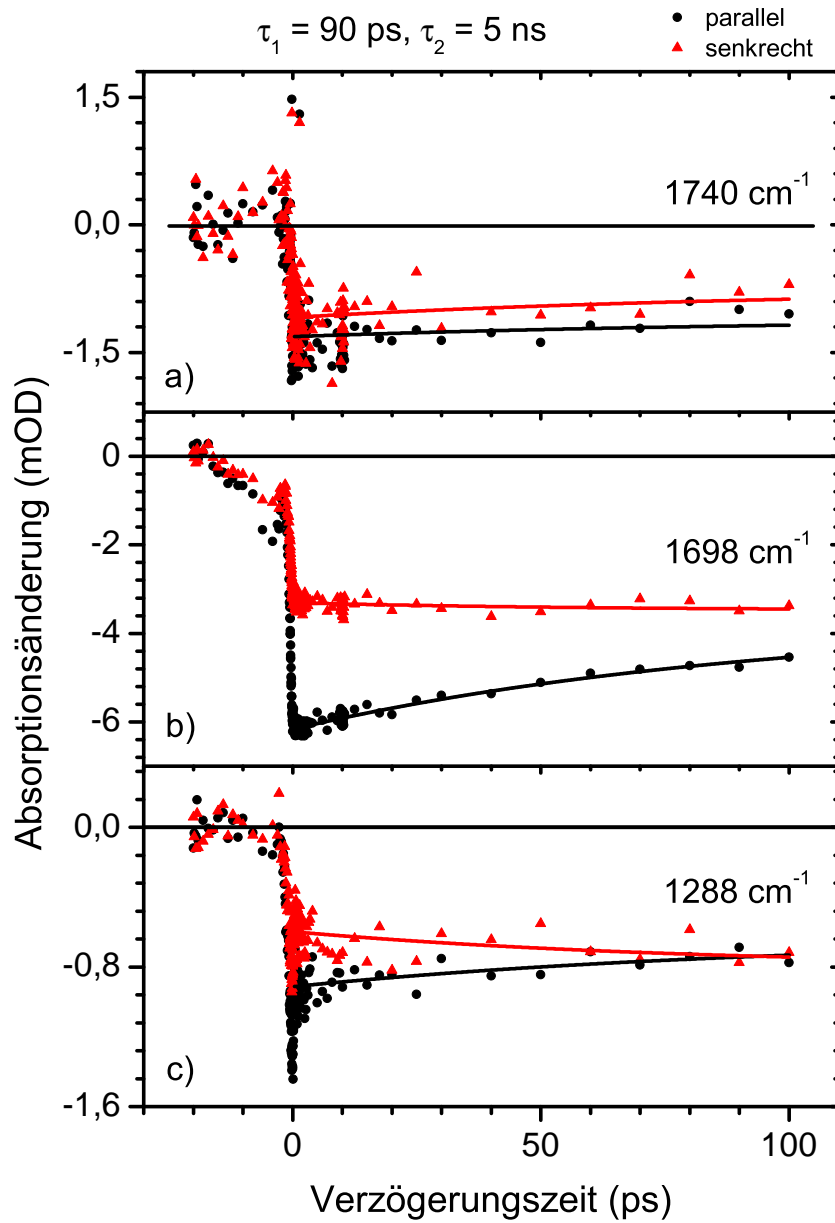


Abbildung 4.8.: Dynamik der polarisationsaufgelösten Signale. *Probe*-Polarisation parallel bzgl. *Pump*-Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Dreiecke). Daten bi-exponentiell simuliert (Linien) mit  $\tau_1 = 90 \text{ ps}$  und  $\tau_2 = 5 \text{ ns}$ .

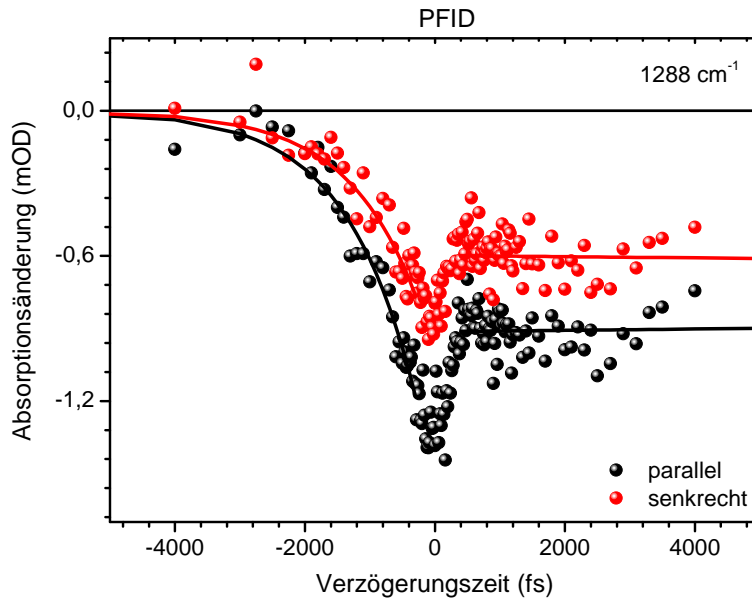


Abbildung 4.9.: Vergrößerte Dynamik der polarisationsaufgelösten Signale bei  $1288 \text{ cm}^{-1}$  (Abb. 4.8 c)). *Probe*-Polarisation parallel bzgl. *Pump*-Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Punkte). Daten bi-exponentiell simuliert (Linien) mit  $\tau_1 = 90 \text{ ps}$  und  $\tau_2 = 5 \text{ ns}$  für positive Verzögerungszeiten und mono-exponentiell mit  $\tau_{pfid} = 1080 \text{ fs}$  für negative Verzögerungszeiten (PFID).

starke Veränderung des dichroitischen Verhältnisses  $D$  mit der Zeitkonstanten  $\tau_1$  zeigen dürfte. Die beobachtete Rotation könnte demnach entweder um eine Achse parallel zu  $\vec{\mu}_{co}^b$  erfolgen oder um eine Achse, die mit  $\vec{\mu}_{co}^b$  den magischen Winkel bildet.

Die Zeitkonstante  $\tau_1$  trat nur bei den polarisationsaufgelösten Transienten in Erscheinung. Die isotropen Transienten lassen sich vollständig mit der langen Zeitkonstante von  $5 \text{ ns}$  beschreiben (hier nicht gezeigt), ein weiter Beleg dafür, dass  $\tau_1$  ein Effekt der Moleküldrehung im Lösungsmittel während der Messung ist.

Theoretische Berechnungen von Karki et al. am Chlorophyll  $a$  gelöst in Wasser, Methanol und Benzen ergaben Rotationszeitkonstanten von  $99$ ,  $125$  und  $192 \text{ ps}$  [65] und stützen meinen experimentell ermittelten Wert für  $\tau_1 = (90 \pm 10) \text{ ps}$  von Chl  $a$  in deuteriertem Toluol. Sazanovich et al. bestimmten experimentell die Rotationsrelaxationszeiten verschiedener Chlorophyll ähnlicher Verbindungen (Kupfer(II)Porphyrine) in Benzen im Bereich von  $(96 \pm 30)$  bis  $(140 \pm 30) \text{ ps}$  [120] und Wiederrecht et al. ermittelten Zeitkonstanten von  $111$  und  $114 \text{ ps}$  [147] für verschiedene Chlorophyll-Derivate (Zink-Phäophorbide) in Tetrahydrofuran.

Abb. 4.9 zeigt einen vergrößerten Ausschnitt von Abb. 4.8 c) um den Zeitnullpunkt. Das ansteigende Signal im negativen Zeitbereich ist der *Perturbed Free Induction Decay*. Er lässt sich mit einer Exponentialfunktion simulieren, deren Zeitkonstante die

$T_2$ -Dephasierungszeit der abgetasteten Bande ist und die Bestimmung der spektralen Breite der Bande ermöglicht (siehe Abschnitt 3.2). Durch eine PFID-Analyse lässt sich zudem die spektrale Position der Bande ermitteln. Die Ergebnisse dienen als Eingangs- bzw. begrenzende Parameter bei der Auswertung der zerfallsassoziierten Spektren, die im nächsten Abschnitt besprochen werden.

## 4.5. Zerfallsassoziierte Spektren

Für eine strukturelle Untersuchung des Chl *a* müssen die dichroitischen Verhältnisse  $D$  zum Zeitnullpunkt ermittelt werden. Nur zu diesem Zeitpunkt ist aufgrund der Photoelektronen die Lage des angeregten elektronischen ÜDM bekannt und somit ein aus  $D$  berechneter relativer Winkel  $\theta$  aussagekräftig für die 3D-Lage des  $Q_y$ -ÜDM. Die anisotrope Verteilung der angeregten Moleküle geht nach dem Zeitnullpunkt mit zunehmender Verzögerungszeit durch die Orientierungsrelaxation wieder in eine isotrope Verteilung über (siehe Abb. 4.8 b)).

Um die dichroitischen Verhältnisse  $D$  zum Zeitnullpunkt bestimmen zu können, müssen zunächst die zerfallsassoziierten Spektren (DAS) aus den Transienten extrahiert werden. Dies geschieht über die Simulation aller Daten nach dem Abklingen des Lösungsmittelsignals und Extrapolation zum Zeitnullpunkt. Es finden sowohl die in Abschnitt 4.4 vorgestellte Dynamik des positiven Zeitbereichs als auch PFID-Analysen des negativen Zeitbereichs Verwendung. Bedenkt man die begrenzte Zeitauflösung des Systems, Einflüsse nichtlinearer Effekte und die Signale vom Lösungsmittel und evtl. der Fenster innerhalb der ersten 300-400 fs (Daten nicht gezeigt) ist dies eine praktischere Vorgehensweise gegenüber der Alternative, die verschiedenen Einflüsse heraus zu rechnen.

Die erhaltenen Spektren im Bereich der Schwingungsmoden  $\nu_{co}^a, \nu_{co}^b$  sind in Abb. 4.10 dargestellt und für die Schwingungsmoden  $\nu_{cc}$  in Abb. 4.11. Die Spektren in Abb. 4.10 lassen sich mit einer Überlagerung von vier Lorentzprofilen

$$y = y_0 + \frac{2A}{\pi} \frac{w}{(x - x_c)^2 + w^2} \quad (4.1)$$

anpassen, wobei  $A$  der Flächeninhalt des Lorentz-Profiles ist (Höhe  $H = 2A/\pi w$ ),  $w$  die Halbwertsbreite und  $x_c$  die zentrale Lage der Bande bzw. des Maximums/Minimums des Profils ist. Die spektrale Position der beiden negativen Signale wurde zu  $x_c = \nu_{co}^a = 1698 \text{ cm}^{-1}$  und  $\nu_{co}^b = 1739 \text{ cm}^{-1}$  mit der Breite  $w = \Delta\nu_{co}^a = 28 \text{ cm}^{-1}$  und  $\Delta\nu_{co}^b = 11 \text{ cm}^{-1}$  bestimmt. Es handelt sich hierbei um die Bleichbanden der Carbonylschwingungen bzw. entstehen sie durch Schwingungsübergänge im Grundzustand  $S_0$ . Die positiven Signale liegen bei  $^*\nu_{co}^a = 1677 \text{ cm}^{-1}$  und  $^*\nu_{co}^b = 1714 \text{ cm}^{-1}$  und besitzen die Breiten  $^*\Delta\nu_{co}^a = 34 \text{ cm}^{-1}$  respektive  $^*\Delta\nu_{co}^b = 41 \text{ cm}^{-1}$ . Es handelt sich hierbei um Schwingungsübergänge im elektronisch angeregten Zustand  $S_1$ . Die Zuordnung erfolgte im Hinblick auf einen Vergleich der dichroitischen Verhältnisse der vier Banden. Diese Verhältnisse  $D$  und damit die relativen Winkel zwischen angeregten und abgetasteten ÜDM sollten bei Schwingungsübergängen im Grundzustand und den analogen Übergängen im angeregten Zustand von ähnlicher Größe sein. Bei  $\nu_{co}^a$  und  $^*\nu_{co}^a$  erkennt man ein Verhältnis von etwa



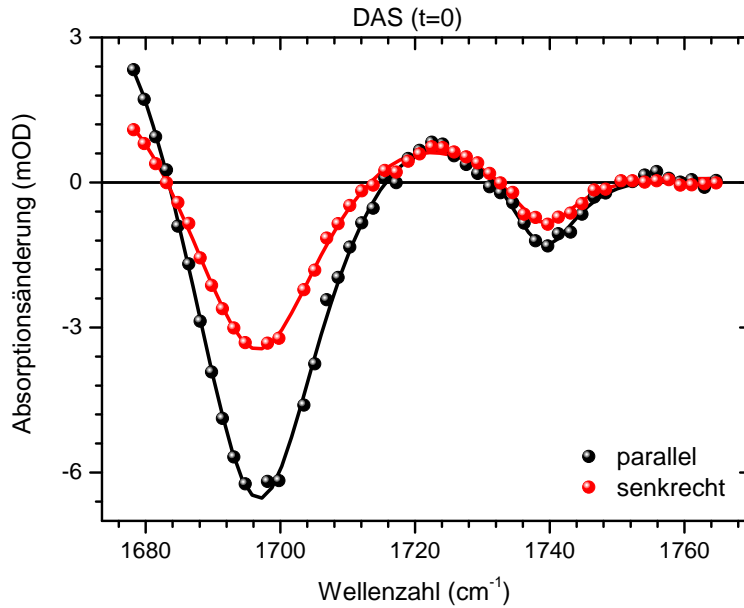


Abbildung 4.10.: Zerfallsassoziierte Spektren (DAS) im Bereich der Carbonylschwingungen  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$ . *Probe*-Polarisation parallel bzgl. *Pump*-Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Punkte). Daten mit vier Lorentzprofilen angepasst (Linien).

2:1 und wohingegen es bei  $\nu_{co}^b$  und  $^*\nu_{co}^b$  eher bei 1,5:1 bis 1:1 liegt. Die Simulation mit der besten Anpassung (kleinstem  $\chi^2$ ) der Lorentzprofile an die Daten ergab die Winkel  $\theta^a = 33^\circ$  und  $^*\theta^a = 31^\circ$  für  $\nu_{co}^a$  bzw.  $^*\nu_{co}^a$  sowie die Winkel  $\theta^b = 42^\circ$  und  $^*\theta^b = 40^\circ$  für  $\nu_{co}^b$  bzw.  $^*\nu_{co}^b$ . Näheres zur Winkelbestimmung wird im nächsten Abschnitt erläutert.

Die polarisationsaufgelösten Spektren der Schwingungsmode  $\nu_{cc}$  in Abb. 4.11 wurden durch eine Überlagerung von zwei Lorentzprofilen simuliert, einer schmalen negativen bei  $\nu_{cc} = 1288 \text{ cm}^{-1}$  mit der Breite  $\Delta\nu_{cc} = 9 \text{ cm}^{-1}$  und einer breiten positiven bei  $^*\nu_{cc} = 1330 \text{ cm}^{-1}$  mit der Breite  $^*\Delta\nu_{cc} = 160 \text{ cm}^{-1}$ . Das negative Signal ist die Bleichbande der Schwingung  $\nu_{cc}$  und das breite positive Signal wird einer Absorptionsänderung im elektronisch angeregten Zustand zugeordnet.

## 4.6. Dichroitische Verhältnisse und relative Winkel

Zur Berechnung der dichroitischen Verhältnisse  $D$  der untersuchten Banden verwendete ich die Flächeninhalte  $A$  der einzelnen Lorentz-Profile, bestimmt im vorangegangenen Abschnitt, statt der (abgelesenen) Amplituden der DAS oder der zugehörigen Transienten. Durch die teilweise spektrale Überlagerung der einzelnen Signale kommt es in den DAS und in den Transienten zu Mischwerten der dichroitischen Verhältnisse  $D$ . Das Ermitteln eines „reinen“ dichroitischen Verhältnisses  $D$  aus diesen Mischwerten ist nicht

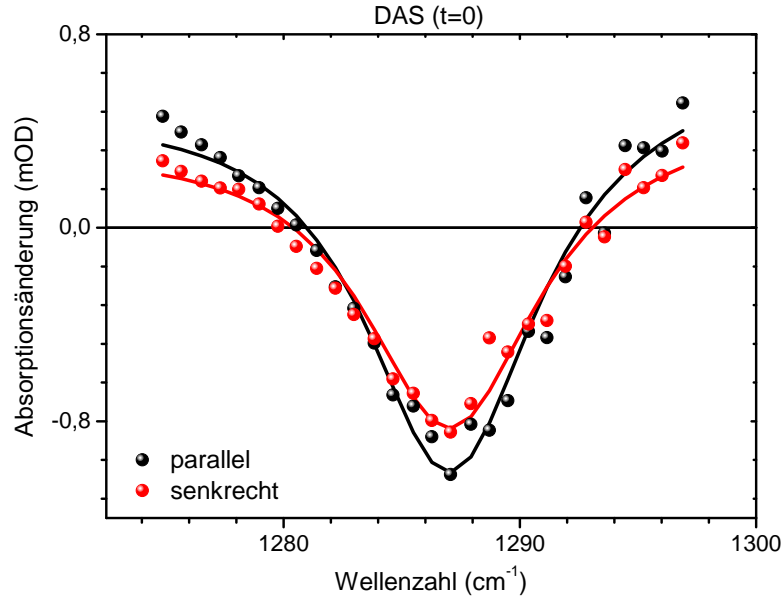


Abbildung 4.11.: Zerfallsassozierte Spektren (DAS) im Bereich der Schwingung  $\nu_{cc}$ . *Probe*-Polarisation parallel bzgl. *Pump*-Polarisation (schwarze Punkte), senkrecht (rote Punkte). Daten mit zwei Lorentzprofilen angepasst (Linien).

trivial. Die vorhandene spektrale Überschneidung der Signale selbst wird jedoch durch die Simulation mit Lorentz-Profilen trennbar, wodurch sich die „reinen“ dichroitischen Verhältnisse  $D$  direkt über  $A$  bestimmen lassen.

Zu diesem Zweck wurde eine ExSeAn (siehe Abschnitt 3.3 S. 27) bei der Simulation der Lorentz-Profile durchgeführt, um die Flächenbereiche  $A_{min} - A_{max}$  in Abhängigkeit der Vertrauensbereiche zu ermitteln. Unter Verwendung der Gleichungen 3.18 und 3.19 wurden anschließend die Fehlergrenzen für  $D$  ebenfalls für viele Vertrauensbereiche berechnet. Zu beachten ist, dass die Abweichung der Grenzwerte  $A_{min}, A_{max}$  bezüglich des Parameters  $A$  mit dem geringsten  $\chi^2_{DoF}$  in der Regel asymmetrisch waren ( $A_{max} - A \neq A - A_{min}$ ), dementsprechend sind auch die Fehlerbereiche der dichroitischen Verhältnisse  $D$  sowie der relativen Winkel  $\theta$  in der Regel asymmetrisch.

Mit den Gleichungen 3.10, 3.16 und 3.17 ergeben sich nun für die Schwingungsmoden für jeden Vertrauensbereich die zugehörigen Winkelbereiche. Sie sind der Tab. A6 im Anhang A zu entnehmen. Die maximalen Winkelbereiche für den 3- $\sigma$ -Vertrauensbereich (99%) ergaben sich zu:

$$\theta_{cc} = 35,2^\circ - 60,3^\circ \quad (4.2)$$

$$\theta_{co}^a = 29,8^\circ - 36,7^\circ \quad (4.3)$$

$$\theta_{co}^b = 26,3^\circ - 65,8^\circ. \quad (4.4)$$

Beachte: Es ist nicht möglich mit der FS-Pol-PPS die Winkel  $\pm\theta$  und  $180^\circ \pm \theta$  bzw.

$90^\circ \pm \vartheta$  und  $270^\circ \pm \vartheta$  mit  $\vartheta = 90^\circ - \theta$  zu unterscheiden, man betrachte hierzu die Abbildungen 2.2 und 2.3 sowie der zugehörigen Erläuterungen im Abschnitt 2.1. Eine absolute Winkelbestimmung ist nicht möglich. Das Ergebnis ist stets ein relativer Winkel, der kleinste eingeschlossene Winkel zweier Vektoren, im Bereich  $0^\circ - 90^\circ$ . Dieses Problem besteht auch für Experimente mit der Methode der Fluoreszenzanisotropie [68][94] sowie der präparativen Ansätze zur Bestimmung der 3D-Lage des  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a* in orientierten Proben z. B. [33][142]. Die Orientierung der Moleküle über Flüssigkristalle oder dem Strecken von Polymerfilmen lässt eine Unterscheidung der vier Möglichkeiten:  $\pm\theta$  und  $180^\circ \pm \theta$  nicht zu.

## 4.7. 3D-Lage des $Q_y$ -Übergangsdipolmoments von Chl *a*

Femtosekunden polarisationsaufgelöste UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie ist ein alternativer Ansatz zur Ermittlung strukturbezogener Informationen. Sie erlaubt es unter anderem die 3D-Lage von Übergangsdipolmomenten gelöster Moleküle zu bestimmen und ist nicht auf spezielle Präparationstechniken zur Orientierung der Moleküle wie in [33] oder [142] angewiesen.

Die Ermittlung der 3D-Lage erfolgt durch die Kombination der experimentell ermittelten relativen Winkelbereiche  $\theta$  mit den theoretisch bestimmten Übergangsdipolmomentvektoren der abgetasteten Schwingungen innerhalb der Struktur des Chl *a*. Zu diesem Zweck wurde der im Abschnitt 3.5 vorgestellte Algorithmus programmiert und erstmalig die 3D-Lage des  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a* in deuteriertem Toluol bestimmt.

Abb. 4.12 verdeutlicht die Vorgehensweise: Dargestellt ist die Struktur von Chl *a*<sup>†</sup> sowie die theoretisch berechneten Vektoren<sup>‡</sup>  $\vec{\mu}_{cc}^*$  (blauer Doppelvektor),  $\vec{\mu}_{co}^{a*}$  (gelb) und  $\vec{\mu}_{co}^{b*}$  (grün) der Dipolmomente der drei signalstärksten Schwingungsmoden mit den relativen Winkeln<sup>§</sup>  $\theta_{cc}$  (Öffnungswinkel des blauen Kegels),  $\theta_{co}^a$  (gelb) und  $\theta_{co}^b$  (grün) dieser Dipolmomente zum elektronischen ÜDM der  $Q_y$ -Bande des Chl *a*. Der Schnittpunkt der drei Kegel definiert die 3D-Lage des  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a* (orangefarbener Doppelvektor) im Molekül und ist in Abb. 4.13 separat dargestellt. Der Vektor hat in dem zur Berechnung verwendeten Koordinatensystem die Koordinaten  $\vec{\mu}_{el}^* = (0, 92/0, 13/0, 37)$ <sup>¶</sup>. Alle mit \* markierten Größen beruhen auf ein unübliches Koordinatensystem. Das Koordinatensystem ergab sich durch die Nutzung von *Gaussian03 Revision B.04* [36]. Alle Berechnungen wurden in diesem Koordinatensystem durchgeführt, dass bei den theoretischen Berechnungen des Chl *a*-Moleküls und der Schwingungsmoden eingeführt wurde. Dieses unübliche Koordinatensystem ist unpraktisch für einen direkten Vergleich der Ergebnisse mit anderen Veröffentlichungen oder weiterführenden theoretischen Berechnungen. Aus diesem Grund wurde ein praktikableres Koordinatensystem eingeführt. X- und Y-Achse werden durch die normierten Verbindungsvektoren der Stickstoffatome<sup>||</sup> des Chl *a* de-

<sup>†</sup> Atomkoordinaten siehe Tab. A1.

<sup>‡</sup> Vektorkoordinaten siehe Tab. A2.

<sup>§</sup> Relative Winkel aller Wahrscheinlichkeitsbereiche siehe Tab. A6.

<sup>¶</sup> Siehe auch Tab. A7.

<sup>||</sup> Siehe Tab. A3.

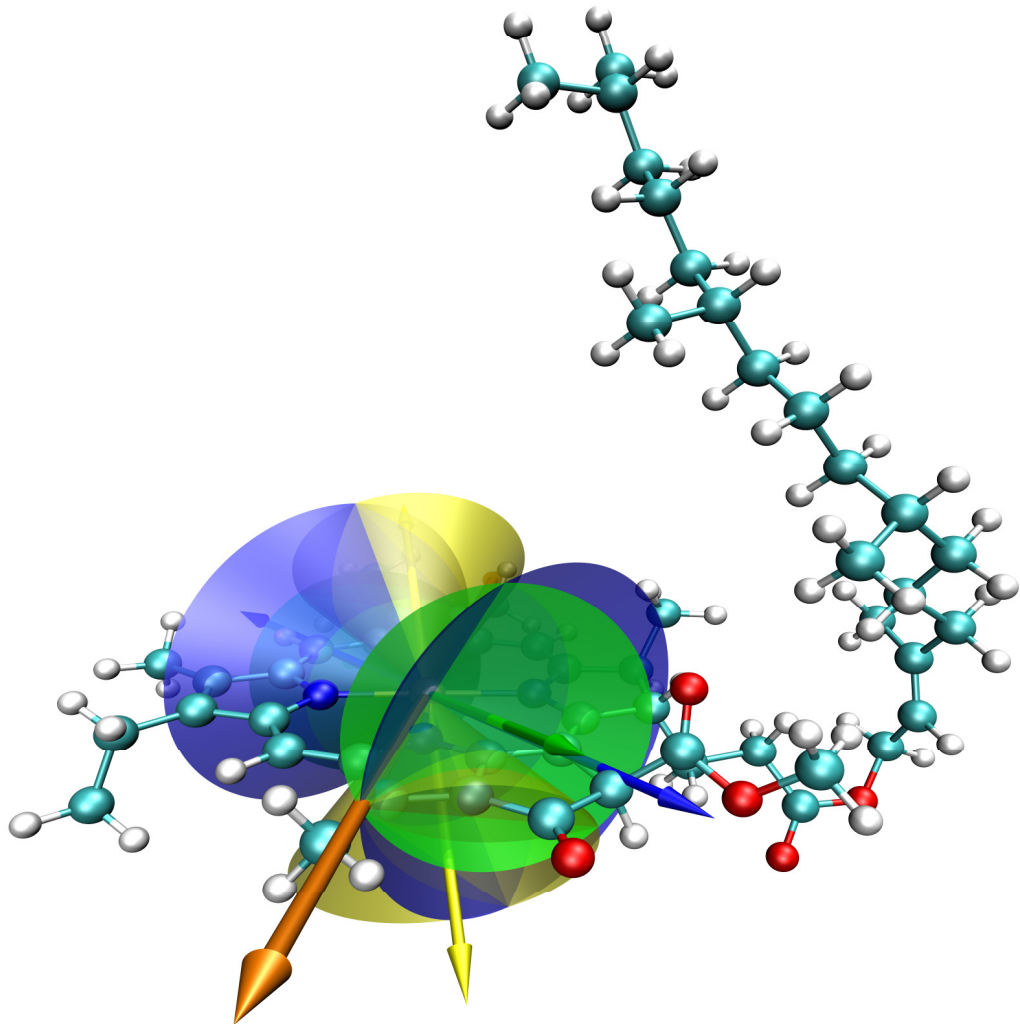


Abbildung 4.12.: Chl *a* mit den Übergangsdipolmomenten der Schwingungen  $\nu_{cc}$ ,  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$  (blaue, gelbe und grüne Doppelvektoren). Das elektronische Übergangsdipolmoment muss auf den Kegeln mit den Öffnungswinkeln  $\theta_{cc}$ ,  $\theta_{co}^a$  und  $\theta_{co}^b$  (blaue, gelbe und grüne Doppelkegel) liegen und wird durch die Kegelschnittpunkte definiert (orangefarbener Doppelvektor).

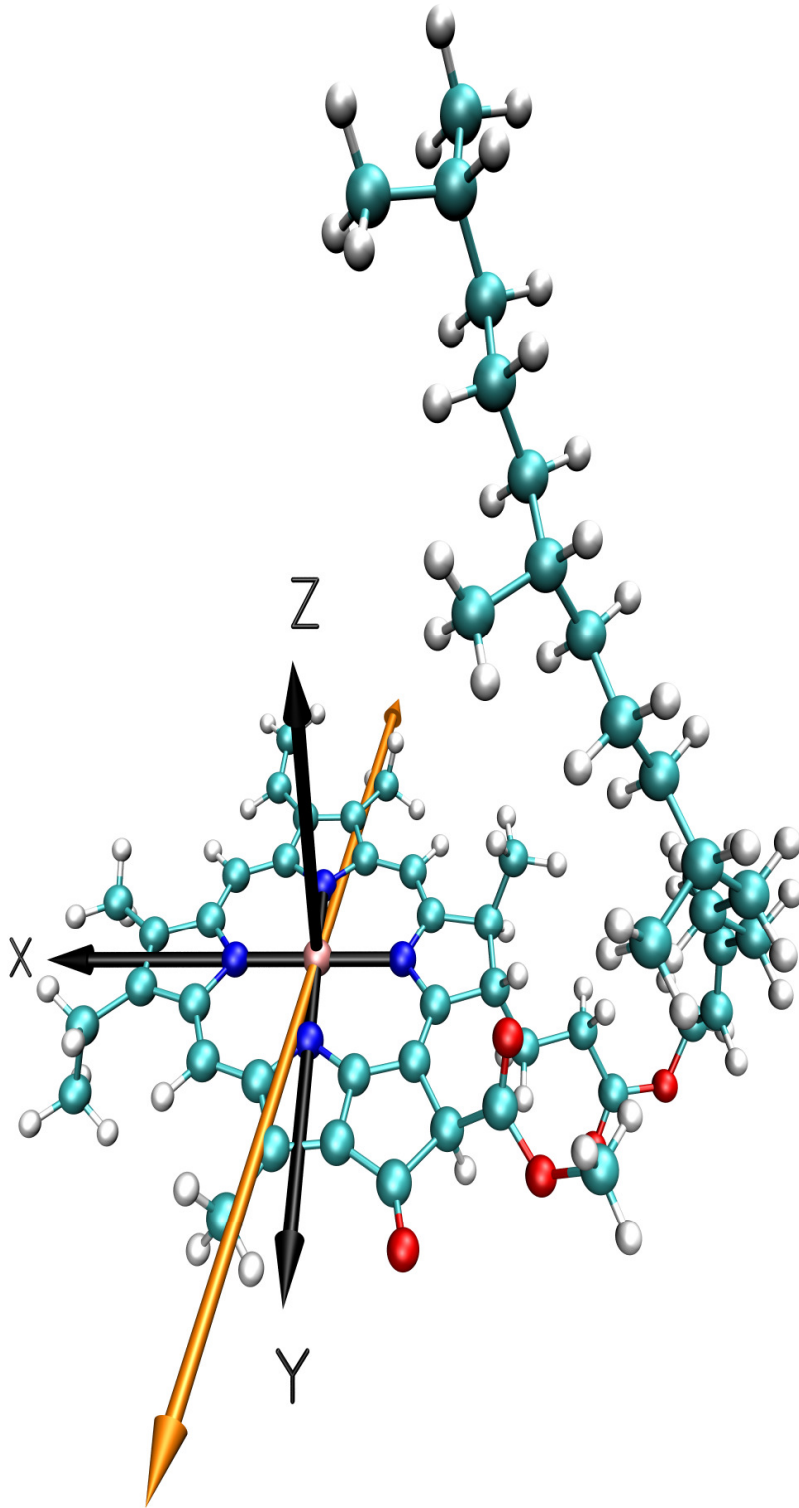


Abbildung 4.13.: Chl *a* mit dem bestimmten Vektor des elektronischen  $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes. Einführung des üblichen Koordinatensystems definiert durch die Stickstoffatome des Chlorinringes.

finiert, wie in Abb. 4.13 dargestellt. Die Z-Achse ergibt sich aus dem Vektorprodukt. Es wurden die zur Koordinatentransformation notwendigen Drehmatrizen\*\* bestimmt und verwendet. Nach der Koordinatentransformation besitzt die bestimmte 3D-Lage des  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a*, d.h. der normierte Vektor mit der höchsten Wahrscheinlichkeit innerhalb des Fehlerbereichs, die Koordinaten††:

$$\vec{\mu}_{el} = (0, 19/0, 98/0, 07) . \quad (4.5)$$

Die innerhalb des  $3\text{-}\sigma$ -Bereiches möglichen Vektoren des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments überstreichen auf einer Einheitskugel (siehe Abb. 3.6 S. 35) einen kleinen Bereich. Diese sogenannte Lösungsfläche stellt die Menge aller möglichen 3D-Lagen dar. Die Projektionen der gesamten Lösungsfläche des  $Q_y$ -Übergangsdipolmoments von Chl *a* auf die in Abb. 4.13 definierten Koordinatenebenen sind in Abb. 4.14 dargestellt. Die Wahrscheinlichkeit der Lösung sinkt von rot bis blau. Der wahrscheinlichste Wert erhielt den „Farbwert“ 100, und die anderen Lösungen wurden auf ihn normiert. Der  $1\text{-}\sigma$ -Bereich wird durch die Lösungen innerhalb des grünen Rings symbolisiert (siehe Abschnitt 3.5). Die  $1\text{-}\sigma$ -Fehlerbereiche variieren stark innerhalb der einzelnen kartesischen Koordinaten, ca. 0,06 für X im Vergleich zu 0,01 für Y. Würde man aber die Lösungsfläche auf der Einheitskugel um den Koordinatenursprung betrachten, so erhielte man eine annähernd symmetrische Form des  $1\text{-}\sigma$ -Bereichs der Lösungsfläche und der Raumwinkel.

Bemerkenswert ist, dass die experimentell bestimmten Fehlerbereiche der relativen Winkel  $\theta$  teilweise fast  $40^\circ$  überstreichen, wohingegen das elektronischen Übergangsdipolmoments im Vergleich dazu einen recht kleinen Fehlerbereich hat. Eine Erklärung dafür ist, dass nicht jede Winkelkombination geometrisch zu einer Lösung führen kann. Der Fehlerbereich des Übergangsdipolmoments wird dadurch erheblich reduziert. Er ist durch den kleinsten Fehlerbereich eines der verwendeten relativen Winkeln (in diesem Fall  $\theta_{co}^a$ ) nach oben begrenzt. Gute Ergebnisse können folglich mit der in dieser Arbeit vorgestellten spektroskopischen Methode bereits mit einem einzelnen starken Signal erreicht werden.

Berechnet man die Winkel  $\varphi$  des  $\vec{\mu}_{el}$  bezüglich der kartesischen Koordinatenachsen (innerhalb des  $1\text{-}\sigma$ -Bereiches), so ergeben sich die Werte:

$$\varphi_x = (78 \pm 3)^\circ \text{ zur X-Achse,} \quad (4.6)$$

$$\varphi_y = (12 \pm 3)^\circ \text{ zur Y-Achse und} \quad (4.7)$$

$$\varphi_z = (86 \pm 2)^\circ \text{ zur Z-Achse.} \quad (4.8)$$

Ältere Untersuchungen ergaben einen Winkel  $\varphi_x$  des  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a* zur X-Achse von  $70^\circ$  [33],  $(105 \pm 2)^\circ$  [142],  $(95 \pm 2)^\circ$  [94] bzw. zur Y-Achse von  $2 - 7^\circ$  [68]. Der präparative Ansatz von [142] bzw. die Methode von [94] lassen jedoch keine Unterscheidung zwischen  $\pm\theta$  und  $180^\circ \pm \theta$  zu, weswegen  $(105 \pm 2)^\circ$  und  $(75 \pm 2)^\circ$  für [142] bzw.  $(95 \pm 2)^\circ$  und  $(85 \pm 2)^\circ$  für [94] gleichwertige Lösungen sind. Des Weiteren konnten keine Aussagen darüber getroffen werden, ob und wie weit das  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a* aus der Ebene

---

\*\*Siehe Tab. A4.

††Siehe auch Tab. A7.

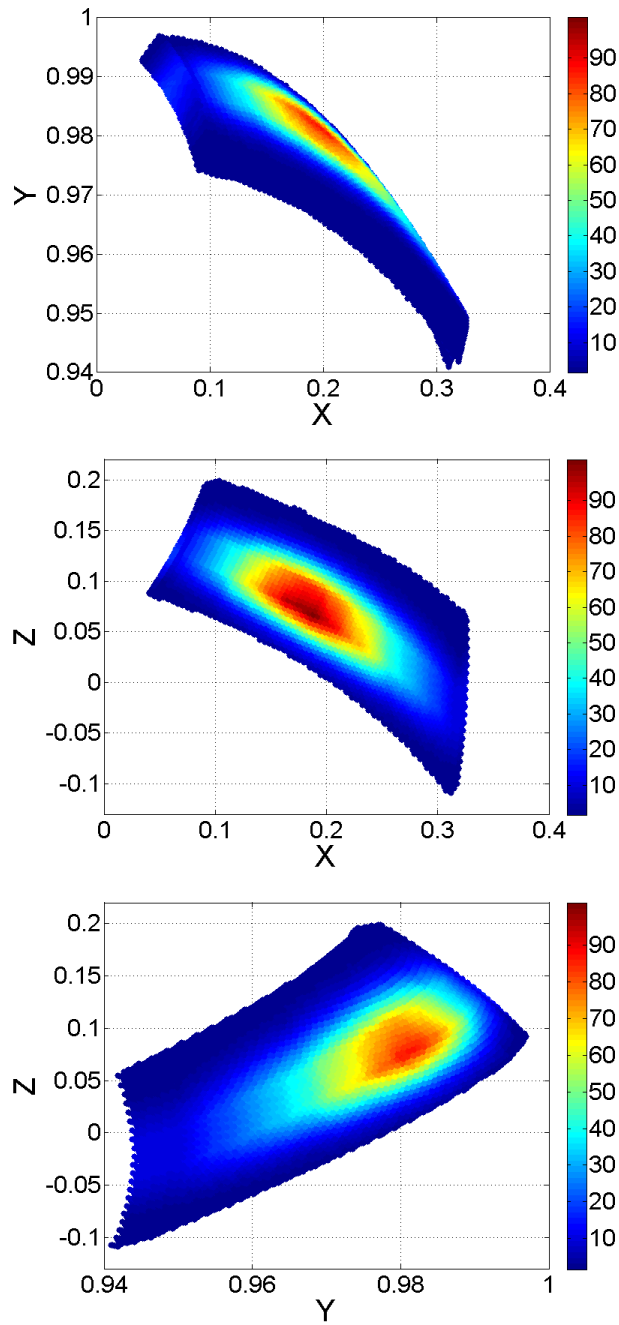


Abbildung 4.14.: Projektionen der Lösungsfläche des elektronischen  $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes auf die drei Koordinatenebenen ( $3\text{-}\sigma$ -Fehlerbereich).

des Chlorinrings herausragt, in [94] wurde zumindest eine mögliche Abweichung von  $\pm 5^\circ$  in Betracht gezogen. Innerhalb des  $1\text{-}\sigma$ -Bereiches zeigt nur das Ergebnis von [142] Übereinstimmung mit der ermittelten 3D-Lage des  $\vec{\mu}_{el}$ .

Die in dieser Arbeit verwendete Methode kann im Gegensatz zu den älteren Untersuchungen die 3D-Lage des  $Q_y$ -ÜDM von Chl *a* bestimmen: Die auf die Chlorinebene projizierte Orientierung des  $\vec{\mu}_{el}$  bzgl. der Y-Achse liegt zwischen den Ergebnissen von [33][142] und [68][94] und zeigt zudem mit  $(4 \pm 2)^\circ$  leicht aus der X-Y-Ebene heraus.

## 4.8. Zusammenfassung und Ausblick

Chl *a* wurde mit der Methode der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie untersucht. Diese Methode ermöglicht es, die Ausrichtung eines oder mehrerer Übergangsdipolmomente im Raum in Echtzeit zu beobachten, wobei die Moleküle selbst nicht fixiert sind, sondern frei beweglich in Lösung vorliegen. Die Übergangsdipolmomente der untersuchten Moleküle und deren Struktur sind direkt miteinander verknüpft. Dadurch erhält man mit dieser optischen Messmethode Zugang zur vorliegenden Struktur sowie Bewegungen des gesamten Moleküls oder einzelner Molekülgruppen auf einer Zeitskala von wenigen Femtosekunden bis hin zu Nanosekunden<sup>‡‡</sup>.

Die Rotation von Chl *a* in Toluol- $d_8$  konnte zeitaufgelöst beobachtet werden. Die Zeitkonstante der Rotation wurde zu  $\tau_1 = (90 \pm 10)$  ps bestimmt und die Lage der Rotationsachse ließ sich eingrenzen. Prinzipiell ist es sogar möglich, durch das Abtasten geeigneter Schwingungsbanden, die Rotationsachse des Moleküls zu ermitteln. Neben der Rotation des gesamten Moleküls konnte kürzlich durch Anwendung der FS-Pol-PPS von Yang et al. [151] auch die lichtinduzierte Rotation des vierten Pyrrols eines Cyanobacterium Phytochroms (Cph1) beobachtet und die Quantenausbeute der Isomerisierung ermittelt werden.

Eine Kombination der experimentellen Ergebnisse mit DFT-Berechnungen im Grundzustand des Chl *a* erlaubte die erstmalige 3D-Bestimmung des elektronischen Übergangsdipolmoments der  $Q_y$ -Bande im Molekül, einem Parameter von enormer Bedeutung für das Verständnis des Energietransfers zwischen Chlorophyllmolekülen bei der Photosynthese. Das  $Q_y$ -Dipolmoment liegt weder exakt in der Chlorinebene noch verläuft es entlang der Y-Achse, es ragt vielmehr um  $(4 \pm 2)^\circ$  aus der Ebene des Chlorinringes heraus und die Projektion des Vektors auf die Chlorinebene schließt mit der Y-Achse einen Winkel von  $(12 \pm 3)^\circ$  ein. Seine Koordinaten betragen  $\vec{\mu}_{el} = (0, 19/0, 98/0, 07)$ .

Die bestimmte Orientierung des elektronischen ÜDM der  $Q_y$ -Bande des Chl *a* ermöglicht nun die Durchführung verfeinerter Berechnungen exzitonischer Kopplungen sowie Simulationen von Energietransferprozessen oder Absorptionsspektren von Chlorophyll enthaltenden Systemen. Protein-Kofaktor-Wechselwirkungen könnten Störungen der 3D-Lage des ÜDM bewirken, weshalb vergleichende Experimente an Chl *a* in veränderter Umgebung bzw. Proteinumgebung zu einer Analyse der Wechselwirkungen beitragen könnten.

---

<sup>‡‡</sup>Die Zeitliche Begrenzung ergibt sich zum einen durch die Zeitauflösung und zum anderen durch die maximale Wegstrecke der verwendeten Verzögerungsstrecke.



Ein Vorteil der vorgestellten Methode ist, dass die Fehlerbereiche der 3D-Bestimmung des elektronischen Übergangsdipolmoments nach *oben* begrenzt sind, durch das experimentelle Einzelergebnis (relativer Winkel) mit der höchsten Genauigkeit. Im nächsten Kapitel werde ich am Beispiel von Coumarin 314 zeigen, dass die Abtastung einer weiteren (vierten) Schwingungsbande die Genauigkeit der Berechnung der 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments nochmals erhöht. Zudem wird demonstriert, dass sich sowohl verschiedene Isomere unterscheiden lassen, als auch deren vorliegendes Mischungsverhältnis ermittelt werden kann.



---

## 5. Coumarin 314 – Einfluss einer isomeren Mischung

---

### 5.1. Intention

Coumarin 314 (kurz C314; vollständige Bezeichnung: Ethyl 2,3,6,7-tetrahydro-11-oxo-1H,5H,11H-[1]benzopyrano[6,7,8-ij]quinolizine-10-carboxylate) ist ein gut charakterisiertes planares Aminocoumarinderivat [54][115][119][152][154] und es findet aufgrund seiner Eigenschaften Verwendung als Laserfarbstoff. Die vergleichsweise einfache Struktur erleichtert den Zugang theoretischer Berechnungen des elektronischen Grund- sowie des angeregten Zustands. Trotz der einfachen Struktur und der vielen Erkenntnisse, die zu diesem Molekül existieren, stellt C314 Molekül gegenüber Chl *a* jedoch eine zusätzliche Herausforderung bei der Analyse der mit Femtosekunden polarisationsaufgelöste UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie detektierten Signale dar. Die Schwierigkeiten ergeben sich durch die beiden isomeren Konformationen, die C314 annehmen kann: Z-C314 und E-C314 (siehe Abb. 5.1). Welche der beiden Konformationen C314 gelöst in Acetonitril annimmt bzw. welches Verhältnis eine evtl. Mischung hätte war nicht bekannt und wurde im Rahmen dieser Arbeit erstmals experimentell mit einer optischen Methode bestimmt.

Generell ist die Möglichkeit experimentell zwischen ähnlichen Strukturen unterscheiden zu können von besonderer Relevanz z.B. für die Bestimmung der 3D-Konformationen der Proteinkofaktoren, die mit spezifischen aktiven Zuständen verknüpft sind [53][67][91][112]. Polarisationaufgelöste Messungen beinhalten die dafür notwendigen Informationen und erlauben es verschiedenen Strukturen auseinander zu halten, wie ich in diesem und dem nächsten Kapitel darstellen werde.

Moritz Theisen bestimmte im Rahmen seiner Diplomarbeit [135] erstmals die Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmoments von C314 in Acetonitril. Ich werde an diesem Punkt ansetzen und C314 als exemplarisches System verwenden, um die Möglichkeit der Bestimmung des vorliegenden Isomerverhältnisses von C314 zu untersuchen (Abschnitt 5.5). Des Weiteren gehe ich der Frage nach, welchen Einfluss die Verwendung von mehr als drei Schwingungsübergangsdipolmomenten bei der Bestimmung des elektronischen ÜDM hat (Abschnitt 5.4) und wie zuverlässig die Bestimmung durch die parallele Anregung beider Konformationen des C314 ist (Abschnitt 5.6). Ergebnisse dieses Kapitels wurden in J. Chem. Phys. 2009 [136] und ChemPhysChem 2010 [83] veröffentlicht.

## 5.2. Proben und Durchführung

Coumarin 314 (C314) sowie das verwendete Lösungsmittel Acetonitril wurden bei *Sigma-Aldrich Chemie GmbH* erworben und unverändert verwendet. Die Schichtdicke der Probenkammer betrug ca. 100  $\mu\text{m}$ . Die Probenkammer wurde, zur Verhinderung von Doppelbeleuchtungen desgleichen Probenvolumens, durchgehend bewegt mit einem Bewegungsmuster bestehend aus Lissajousfiguren.

Anregung von C314 fand bei einer Wellenlänge von 455 nm statt weit weg von der Sättigung, d.h. die Intensität wurde begrenzt, so dass weniger als 3% der Moleküle angeregt wurden. Die Abtastung wurde schrittweise im Bereich von 1500 bis 1800  $\text{cm}^{-1}$  durchgeführt mit einer spektralen Breite von jeweils 50  $\text{cm}^{-1}$  pro Messung. Die Zeitauflösung des *Vis Pump – IR Probe Experiments* betrug ca. 360 fs.

Die Bestimmung des Zeitnullpunktes der Verzögerungsstrecke wurde durch eine Eichmessung mit einem Germaniumplättchen durchgeführt und der Zeitnullpunkt wenn notwendig angepasst. Alle *Pump-Probe*-Experimente wurden bei Raumtemperatur ca. 23 °C und niedriger Luftfeuchtigkeit (üblicherweise 10% im Labor und <5% am optischen Tisch) durchgeführt.

Vor und nach jedem FS-Pol-PPS-Experiment wurden Vis- und IR-Absorptionsspektren von Coumarin 314 aufgenommen. Die Aufnahme der Absorptionsspektren erfolgte ebenfalls bei Raumtemperatur ca. 23 °C, das Fourier-Transform-Infrarotspektrometer (FTIR), welches zur Bestimmung des IR-Absorptionsspektrums diente, wurde zusätzlich mit entfeuchteter Luft gespült.

Informationen zum Messaufbau und Durchführung der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump – IR Probe* Spektroskopie sind im Kapitel 2 angegeben.

## 5.3. Theoretische Berechnungen

### Grundzustandsberechnungen

Coumarin 314 kommt in zwei verschiedenen Konformationen vor. Es wurden theoretische Berechnungen durchgeführt, um die Struktur der beiden Isomere im Grundzustand zu ermitteln bzw. zu überprüfen, die energetische Stabilität zu untersuchen sowie die Schwingungsmoden und deren ÜDM im Grundzustand zu erhalten. Die Berechnungen erfolgten mit *Gaussian03* sowie dem Austausch-Korrelations-Funktional B3LYP und den Basissätzen 6-31G\*, 6-31G\*\*. Ausgangspunkt der DFT-Berechnungen war die 3D-Struktur des C314, die experimentell in den Arbeiten [9][71][100][154] vorgestellt wurde. Eine Geometrieoptimierung wurde ausgeführt, um sicherzustellen, dass diese Struktur den Grundzustand darstellt (siehe hierzu Supp. Inv. von [136]). Die Atomkoordinaten für E-C314 und Z-C314 sind in den Tab. B1 und B2 im Anhang B enthalten.

Abb. 5.1 zeigt die beiden Isomere des C314. Sie unterscheiden sich hinsichtlich der Orientierung der Ethoxycarbonylgruppe. Die Carbonylgruppen an den Kohlenstoffatomen C2 und C19 liegen bei dem Isomer Z-C314 (Abb. 5.1 (a)) auf derselben Seite, wohingegen sie bei Isomer E-C314 (Abb. 5.1 (b)) auf unterschiedlichen Seiten liegen.

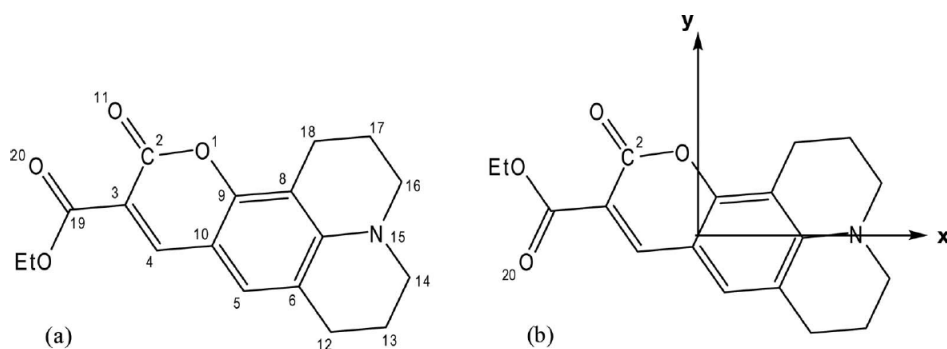


Abbildung 5.1.: Die beiden isomeren Strukturen des C314 (a) Z-C314 und (b) E-C314.

Abb. 5.2 zeigt die relative Energie (blau) sowie den Bindungsabstand (violett) zwischen den Kohlenstoffatomen C3 und C19 in Abhängigkeit vom Rotationswinkel um die Bindung C3-C19. C314 liegt im globalen Energie- und Bindungslängenminimum (bei  $0^\circ$ , grüner Punkt) als E-C314 vor. Durch Rotation der C3-C19-Bindung um  $180^\circ$  wird das E-Isomer in das Z-Isomer überführt und ein weiteres lokales Energieminimum (roter Punkt) erreicht, die Bindungslänge C3-C19 nimmt zu. Der Grundzustand des E-C314 liegt energetisch um 0,07 eV niedriger als der des Z-C314. Die bei der Rotation zu überwindende Energiebarriere hat eine Höhe von etwa 0,24 eV.

Die Frequenzen und Übergangsdipolmomente der Schwingungsübergänge im Grundzustand wurden für beide Isomere des C314 berechnet. Im Rahmen der experimentellen Untersuchung konnten sechs Schwingungsbanden im Bereich von  $1500$  bis  $1800\text{ cm}^{-1}$  beobachtet werden. Abb. 5.3 zeigt die zugehörigen\* berechneten Molekülschwingungen (blaue Pfeile) und Übergangsdipolmomente (orangene Pfeile) dieser sechs beobachteten Schwingungsbanden innerhalb der Molekülstruktur für das E-C314-Isomer (Abb. 5.3 (a) bis (f)). Im Folgenden werden diese Schwingungen aufsteigend sortiert nach der Frequenz mit  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_2^{cc}$ ,  $\nu_3^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$ ,  $\nu_5^{co}$  und  $\nu_6^{co}$  bezeichnet.  $\nu_1^{cc}$  bis  $\nu_4^{cc}$  sind hauptsächlich Schwingungen der Kohlenstoffatome,  $\nu_5^{co}$  und  $\nu_6^{co}$  sind Carbonylstreckschwingungen. Die entsprechenden Ergebnisse für das Z-Isomer weichen davon wenig ab mit Ausnahme der Carbonylstreckschwingung der Atome C19-O20 ( $\nu_5^{co}$ ), aufgrund der um  $180^\circ$  gedrehten Ethoxycarbonylgruppe unterscheiden sich die Orientierungen der ÜDM dieser Schwingung für die beiden Isomere des C314 stark voneinander. Dargestellt ist die angesproche-

\*Detaillierte Zuweisung in [136].

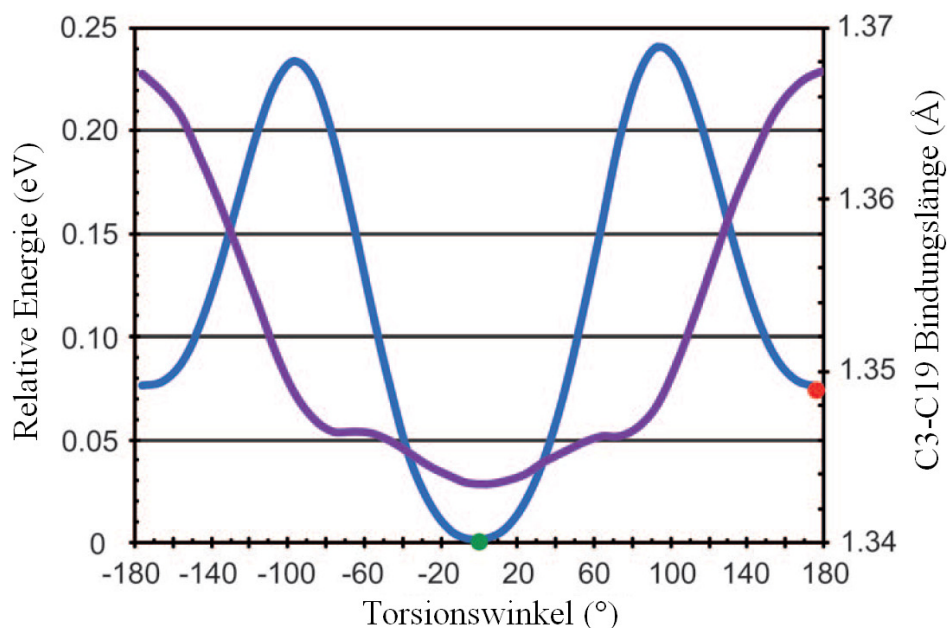


Abbildung 5.2.: Abhängigkeit der Energie (blau) sowie der Bindungslänge (lila) vom Torsionswinkel der Bindung zwischen C3 und C19. Die Bindungslängen für Z-C314 und E-C314 sind durch den roten bzw. grünen Punkt bei 180° bzw. 0° gegeben. Die Barrierehöhe der Rotation vom E-C314 zum Z-C314 beträgt ca. 0,24 eV, der Grundzustand des E-C314 liegt energetisch 0,07 eV tiefer als der des Z-C314.

ne Schwingung für E-C314 in Abb. 5.3 (e) und für Z-C314 in Abb. 5.3 (g). Anhand dieses Unterschieds lässt sich unter Verwendung der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie untersuchen, welches Isomer bzw. in welchem Verhältnis die Isomere des C314 in Acetonitril vorliegen (Abschnitt 5.5 und 5.6).

In Abschnitt 5.4 wird das elektronische Übergangsdipolmoment des C314, ausgehend von den signalstärksten bzw. rauschärmsten Grundzustandsschwingungen  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$ ,  $\nu_5^{co}$  und  $\nu_6^{co}$ , experimentell ermittelt. Die theoretisch berechneten (normierten) ÜDM-Vektoren der vier Schwingungen sind in Tab. 5.1 sowie in Tab. B3 jeweils für E-C314 sowie Z-C314 angegeben.

## Berechnungen im elektronisch angeregten Zustand

Berechnungen mit angeregten Zuständen des C314 wurden durchgeführt, um das elektronische Übergangsdipolmoment vergleichend zur experimentell gestützten Analyse (siehe Abschnitt 5.4) zu bestimmen. Eine theoretische Bestimmung des ÜDM ist schwieriger und ungenauer als Berechnungen bezüglich des elektronischen Grundzustandes  $S_0$ . Es werden Annahmen und Näherungen (z. B. für die Wellenfunktionen, deren Überlapp, Born-Oppenheimer-Näherung, Frank-Condon-Prinzip, Wechselwirkungen zwischen den

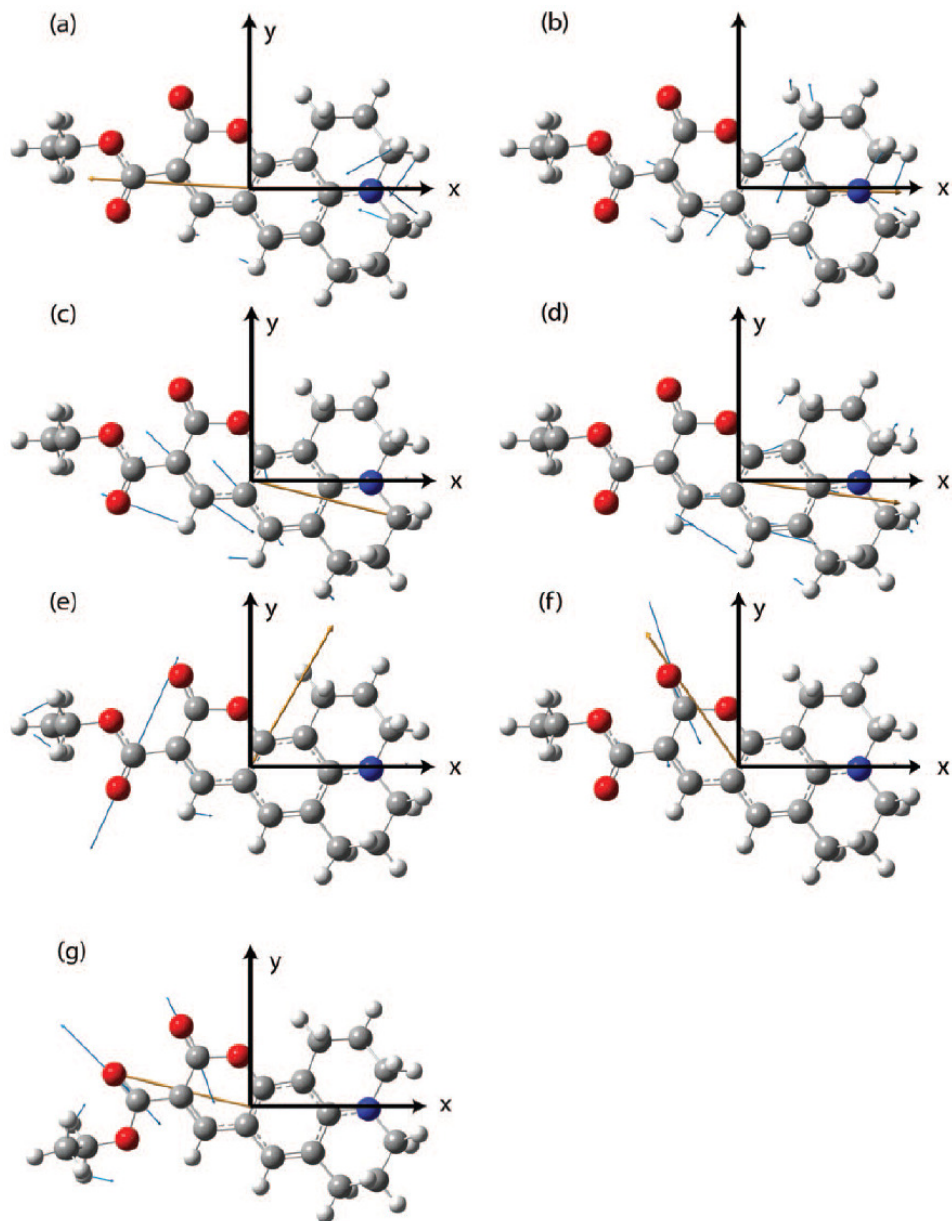


Abbildung 5.3.: Berechnete IR Schwingungsmoden mit atomarem Versatz (blaue Pfeile) sowie den zugehörigen Übergangsdipolmomenten (orangefarbene Pfeile). (a)-(f) Schwingungsmoden des E-C314:  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_2^{cc}$ ,  $\nu_3^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$ ,  $\nu_5^{co}$  und  $\nu_6^{co}$ . (g) Schwingungsmodus  $\nu_5^{co}$  des Z-C314.

Schwingungsmode	X	Y	Z
$E \vec{\nu}_1^{cc}$	-0,9966	0,0653	-0,0512
$Z \vec{\nu}_1^{cc}$	-0,9981	0,0414	-0,0460
$E \vec{\nu}_4^{cc}$	0,9900	-0,1375	0,0316
$Z \vec{\nu}_4^{cc}$	0,9889	-0,1468	0,0233
$E \vec{\nu}_5^{co}$	0,4797	0,8723	0,0950
$Z \vec{\nu}_5^{co}$	-0,9665	0,2320	-0,1095
$E \vec{\nu}_6^{co}$	-0,5673	0,8204	0,0713
$Z \vec{\nu}_6^{co}$	-0,6482	0,7596	0,0527

Tabelle 5.1.: Berechnete Übergangsdipolmomente und deren Orientierungen für ausgewählte Schwingungsmoden. Direkter Vergleich für E-C314 und Z-C314.

Zuständen) verwendet, die die Komplexität reduzieren, jedoch eine gewisse Unsicherheit darstellen.

Für die Bestimmung des elektronischen ÜDM muss zunächst die Molekülstruktur des C314 im elektronisch angeregten Zustand  $S_1$  ermittelt werden. Zur Re-Optimierung der geometrischen Struktur wurde DFT verwendet mit dem Programm *Jaguar* [1] sowie B3LYP und 6-31G<sup>\*\*</sup>. Es wurden basierend auf dieser Struktur Berechnungen zur elektronischen Struktur mit *Q-Chem* [74] durchgeführt. Die Bestimmung der permanenten Dipolmomente und der Übergangsdipolmomente wurde für beide Isomere durchgeführt. Die normierten Vektoren sind in Tabelle 5.2 angegeben. Die theoretisch berechneten

Bezeichnung	Zustand	X	Y	Z
$E \vec{\mu}_0$	$S_0$	0,9267	-0,3755	-0,0190
$Z \vec{\mu}_0$	$S_0$	0,8071	-0,5903	-0,0138
$E \vec{\mu}_{el}$	$S_0 \rightarrow S_1$	-0,9822	0,1854	-0,0298
$Z \vec{\mu}_{el}$	$S_0 \rightarrow S_1$	-0,9900	0,1400	-0,0164

Tabelle 5.2.: Berechnete permanente Dipolmomente  $E \vec{\mu}_0$  und  $Z \vec{\mu}_0$  sowie elektronische Übergangsdipolmomente  $E \vec{\mu}_{el}$  und  $Z \vec{\mu}_{el}$  jeweils für E-C314 und Z-C314.

permanenten Dipolmomente sind nicht parallel zu den berechneten elektronischen Übergangsdipolmomenten. Sie verlaufen mit einem Winkel zueinander von ca. 12° für E-C314 und 28° für Z-C314. Dies steht im Widerspruch zu den Angaben in [9][154], die besagen, dass beide Dipolmomente parallel zueinander seien. Die theoretisch berechneten elektronischen Übergangsdipolmomente  $E \vec{\mu}_{el}$  und  $Z \vec{\mu}_{el}$  haben untereinander einen Winkel von nur 2,8°. Man muss folglich davon ausgehen, dass eine selektive Anregung eines einzelnen Isomers durch PhotoSelektion nicht möglich sein wird. Eine elektronische Anregung wird immer bei beiden Isomeren gleichermaßen erfolgen.



## 5.4. 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments – 4-Vektoren-Analyse

Eine Auswertung von drei Schwingungsbanden ist notwendig zur eindeutigen Bestimmung des elektronischen ÜDM. Im Folgenden wird demonstriert, dass sich, durch die Hinzunahme einer weiteren Schwingung, die Genauigkeit der 3D-Lagebestimmung des elektronischen ÜDM erhöht. Zur Behandlung dieses Abschnitts wurden die Messergebnisse von Moritz Theisen (siehe [135]) aufgegriffen und fortgesetzt.

Analog zur Vorgehensweise beschrieben in Kapitel 4 wurden von Moritz Theisen Messungen an C314 durchgeführt, die Dynamik des C314 ermittelt sowie die DAS konstruiert. Die DAS wurden mit Lorentz-Profilen (Gl. 4.1) angepasst, um die Lage, Breite und Fläche der untersuchten Banden zu bestimmen. Die Fehlerbereiche ergeben sich durch ExSeAn während der Simulationen. Aus den Flächen bzw. Amplituden der polarisationsaufgelösten Banden wurden die dichroitischen Verhältnisse  $D$  sowie die entsprechenden relativen Winkel (siehe Abschnitt 3.4) als Funktionen des Vertrauensbereiches bestimmt (siehe Abschnitt 4.6). Die Ergebnisse für die Schwingungen mit den kleinsten Fehlerbereichen  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$  und  $\nu_6^{co}$  wurden von ihm verwendet zur Berechnung des elektronischen Übergangsdipolmoments von C314.

Diese Berechnung (des elektronischen Übergangsdipolmoments) wurde von mir mit erhöhter Genauigkeit wiederholt, dazu wurden die Vertrauensbereiche für die relativen Winkel in feineren Abstufungen bestimmt (siehe Tab. B4) und anhand der in Abschnitt 3.5 beschriebenen Methode unter Zuhilfenahme der theoretisch berechneten Orientierungen der Übergangsdipolmomente der betrachteten Schwingungen  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$  und  $\nu_6^{co}$  (siehe Tab. B3) die wahrscheinlichste 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments bestimmt zu  $\vec{\mu}_{el,3} = (-0,987/0,159/ -0,029)$ . Die zugehörige Lösungsfläche, d.h. alle Lösungen der 3D-Lagen innerhalb des Fehlerbereichs, wurde im Anschluss analog zur Vorgehensweise in Abschnitt 3.5 mit den Winkelbereichen der vierten Schwingungsbande  $\nu_5^{co}$  abgeglichen und die wahrscheinlichste 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments basierend auf den vier Banden  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$ ,  $\nu_5^{co}$  und  $\nu_6^{co}$  bestimmt zu  $\vec{\mu}_{el,4} = (-0,994/0,107/ -0,020)$ . Die angegebenen Ergebnisse basieren auf den Schwingungsvektoren des E-C314. Eine Verwendung der theoretisch berechneten Schwingungsübergangsdipolmomenten des Z-C314 führte nur im Falle des Vektors  $\vec{\mu}_{el,3}$  zu einem Resultat, jedoch nicht für  $\vec{\mu}_{el,4}$ . Von den verwendeten Banden ist  $\nu_5^{co}$  die einzige Bande, deren Übergangsdipolmoment sich für beide Isomere signifikant in der Orientierung unterscheidet und somit auch eine Unterscheidung der beiden Isomere ermöglicht. Aus diesem Grund muss C314 in einer Majorität des Isomers E-C314 vorliegen. Die Thematik einer möglichen Mischung beider Isomere mit geringen Anteilen des Z-C314 wird gesondert in den nächsten Abschnitten 5.5 sowie 5.6 behandelt.

Eine graphische Gegenüberstellung des Lösungsbereiches für  $\vec{\mu}_{el,3}$  und  $\vec{\mu}_{el,4}$  ist in Darstellung 5.4 gegeben. Die Lösungsfläche wurde auf die drei kartesischen Koordinatenebenen projiziert. Die einzelnen Punkte repräsentieren mögliche 3D-Lagen des elektronischen ÜDM, die Farbskalierung gibt Auskunft über die Wahrscheinlichkeit des jeweiligen Lösungspunktes. Es wurde der Lösung mit der höchsten Wahrscheinlichkeit der „Farb-

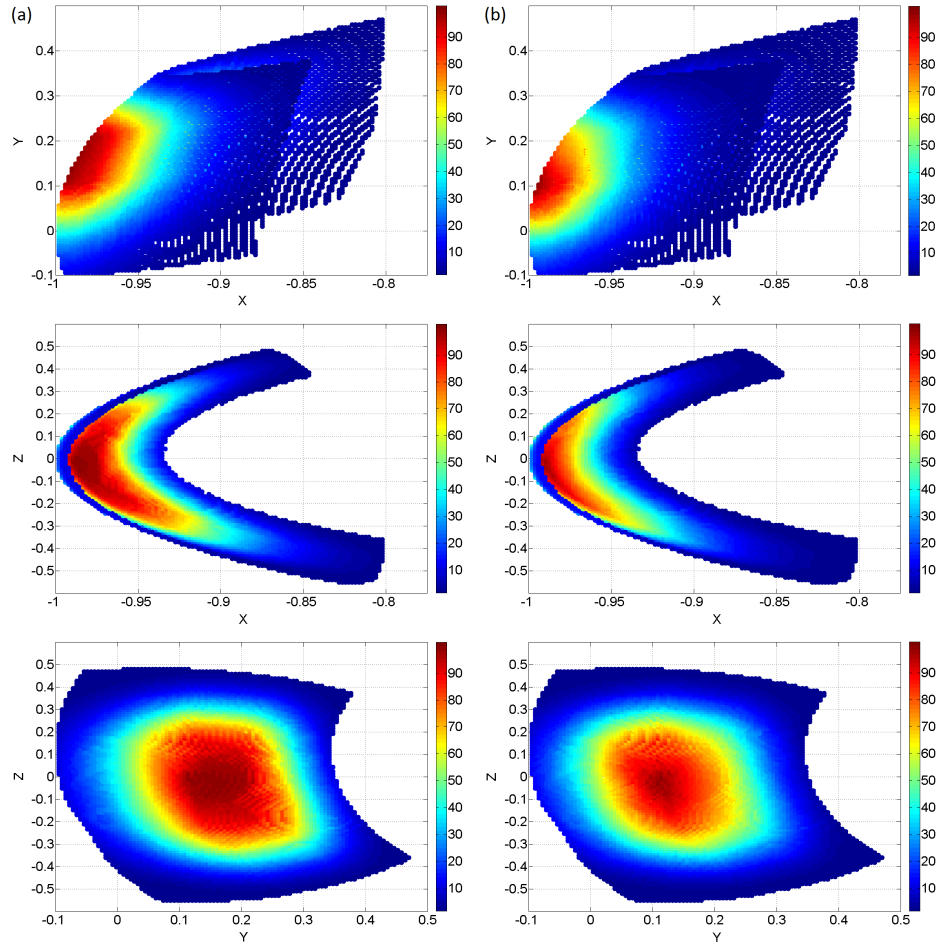


Abbildung 5.4.: Mögliche Orientierungen des elektronischen Übergangsdipolmoments des E-C314 ausgehend vom Koordinatenursprung. Die 3D-Lösungsflächen wurden jeweils projiziert auf die drei Koordinatenebenen mit farbcodierten Wahrscheinlichkeiten, skaliert auf den jeweiligen Bestwert (dunkelrot). (a) Lösung für  $\vec{\mu}_{el,3}$  basierend auf den Schwingungsübergangsdipolmomenten  $E\vec{V}_1^{cc}$ ,  $E\vec{V}_4^{cc}$ ,  $E\vec{V}_6^{co}$  und (b)  $\vec{\mu}_{el,4}$  basierend auf  $E\vec{V}_1^{cc}$ ,  $E\vec{V}_4^{cc}$ ,  $E\vec{V}_5^{co}$  und  $E\vec{V}_6^{co}$ .

wert 100“ bzw. „dunkelrot“ zugeordnet, der „Farbwert 50“ bzw. „grün“ wird entsprechend Lösungen zugewiesen, deren Wahrscheinlichkeiten nur 50% des Maximalwertes betragen. Die 1- $\sigma$ -Bereichsgrenze entspricht etwa der grünen Farbe. Die Bestimmung erfolgte durch Integration der absteigend sortierten Wahrscheinlichkeiten aller Lösungen bis der Wert 0,6827 erreicht wurde, die Summe aller Wahrscheinlichkeiten war auf 1 normiert. Die Anzahl der Lösungen ist jedoch nicht gleichverteilt über die verschiedenen Wahrscheinlichkeitsbereiche und es gibt beispielweise mehr Lösungen im dunkelblauen Bereich von 0 bis 20% als im roten von 80 bis 100%. Deswegen ist die 1- $\sigma$ -Bereichsgrenze bei tieferen Farbwerten als man erwarten könnte. Die Darstellung 5.4 zeigt, dass zum einen der 1- $\sigma$ -Bereich für  $\vec{\mu}_{el,4}$  kleiner ist als für  $\vec{\mu}_{el,3}$ , zum anderen ist die wahrscheinlichste Lösung schärfer definiert. Bei beiden Varianten hat die X-Komponente den kleinsten Fehlerbereich und die Z-Komponente des Vektors den höchsten Fehlerbereich. Die Ursache besteht darin, dass C314 ein planares Molekül ist deren Übergangsdipolmomente kaum von der Ebene abweichen, die verwendeten Vektoren der Banden  $\nu_1^{cc}, \nu_4^{cc}, \nu_5^{co}$  und  $\nu_6^{co}$  haben nur schwache Z-Komponenten (Tab. 5.1) wodurch eine größere Unsicherheit bei Berechnungen in dieser Richtung die Folge ist.

Eine quantitative Gegenüberstellung von  $\vec{\mu}_{el,3}$  und  $\vec{\mu}_{el,4}$  ist in Tab. 5.3 gegeben.  $\vec{\mu}_{el,4}$

	X	Y	Z	1- $\sigma$ -Fläche bzgl. Halbkugel in [%]
$\vec{\mu}_{el,3}$	-0,987	0,159	-0,029	2,34
$\vec{\mu}_{el,4}$	-0,994	0,107	-0,020	2,24

Tabelle 5.3.: Wahrscheinlichste 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments bestimmt mit drei respektive vier betrachteten Schwingungsbanden sowie die Größe des jeweiligen 1- $\sigma$ -Bereiches bezogen auf den Flächeninhalt einer Halbkugel mit Radius 1.

hat gegenüber  $\vec{\mu}_{el,3}$  schwächere Y-, Z-Komponenten und liegt dichter an der X-Achse. Der 1- $\sigma$ -Bereich von  $\vec{\mu}_{el,3}$  bedeckt 2,34% der Oberfläche einer halben Einheitskugel. Der 1- $\sigma$ -Bereich von  $\vec{\mu}_{el,4}$  ist um ca. 4% kleiner, er bedeckt 2,24% der gleichen Referenzfläche. Unter der Annahme einer symmetrischen 1- $\sigma$ -Fläche, entspräche der Wert 2,24% für  $\vec{\mu}_{el,4}$  einem Raumwinkel von  $\pm 8^\circ$ . Der Winkel zwischen  $\vec{\mu}_{el,3}$  und  $\vec{\mu}_{el,4}$  beträgt ca.  $3^\circ$  und zwischen  $\vec{\mu}_{el,4}$  und dem theoretisch berechneten elektronischen Übergangsdipolmoment für E-C314  ${}^E\vec{\mu}_{el}$  (Tab. 5.2) ca.  $5^\circ$ . Innerhalb des Fehlerbereichs stimmen das experimentell und das theoretisch bestimmte elektronische ÜDM von C314 überein.

## 5.5. Mischungsverhältnis der Isomere

Im letzten Abschnitt wurde das elektronische Übergangsdipolmoment für C314 gelöst in Acetonitril bestimmt, basierend auf den Vektoren der Schwingungsübergangsdipolmomente  ${}^E\vec{\nu}_1^{cc}, {}^E\vec{\nu}_4^{cc}, {}^E\vec{\nu}_5^{co}$  und  ${}^E\vec{\nu}_6^{co}$  des E-C314-Isomers. Diese Vektoren unterscheiden sich kaum von den entsprechenden Vektoren des Z-C314-Isomers mit Ausnahme des Vektors für die Bande  $\nu_5^{co}$ . Erwartungsgemäß führte eine Bestimmung des  $\vec{\mu}_{el}$  basierend auf

${}^Z\vec{\nu}_1^{cc}$ ,  ${}^Z\vec{\nu}_4^{cc}$  und  ${}^Z\vec{\nu}_6^{co}$  zu einem identischen Ergebnis im Rahmen des Fehlerbereichs (hier nicht gezeigt). Eine Bestimmung unter Hinzunahme des strukturbedingt vom E-Isomer abweichenden Vektors  ${}^Z\vec{\nu}_5^{co}$  führte jedoch zu keiner Lösung. Aus diesem Grund, kann davon ausgegangen werden, das C314 überwiegend als E-C314 vorlag. Im Folgenden wird die Möglichkeit des Vorliegens einer Z-C314 Minorität untersucht, die im Rahmen des Fehlerbereichs denkbar wäre und dieses Mischungsverhältnis beider Isomere bestimmt.

Aus den theoretischen Untersuchungen ist bekannt, dass bei gleichzeitigem Vorliegen beider Isomere in Lösung auch beide durch die *Pump*-Pulse angeregt würden (siehe Abschnitt 5.3). Gemäß den DFT-Berechnungen in Gasphase sollte das E-C314 um 0,07 eV stabiler sein und es wäre zu erwarten, das im thermodynamischen Gleichgewicht nur 7% der C314-Moleküle in der Konformation Z-C314 vorliegen würden. Der relative Winkel zwischen  ${}^E\vec{\nu}_5^{co}$  und  ${}^E\vec{\mu}_{el}$  beträgt ca.  $108,2^\circ$  (gleichwertig mit  $71,8^\circ$ ), das entspricht einem dichroitischen Verhältnis von etwa  ${}^E D_5^{co} = 0,628$ , welches man experimentell erwarten würde bei einer reinen E-C314-Konformation der zum Signal beitragenden Moleküle. Für Z-C314 ergibt sich der relative Winkel zwischen  ${}^Z\vec{\nu}_5^{co}$  und  ${}^Z\vec{\mu}_{el}$  zu ca.  $7,6^\circ$ , korrespondierend zu einem dichroitischen Verhältnis von etwa  ${}^Z D_5^{co} = 2,913$ , das man für 100% Z-C314-Anteil experimentell bestimmen müsste. Tatsächlich wurde für die Bande  $\nu_5^{co}$  jedoch ein dichroitisches Verhältnis von ca.  $D_{exp} = 0,833$  bestimmt, korrespondierend zu einem Winkel von etwa  $61^\circ$ .

Bei einer Mischung beider Isomere würde man eben diese beobachtete Erhöhung des experimentell bestimmten dichroitischen Verhältnisses  $D$  gegenüber  ${}^E D_5^{co} = 0,628$  erwarten. Eine Berechnung des tatsächlichen Mischungsverhältnisses beider Isomere aus den gemessenen polarisationsaufgelösten Amplituden der abgetasteten Schwingungsbanden ist jedoch nicht trivial. Bedingt durch die Messmethode sind die Messwerte Projektionen sich überlagernder Signalanteile im betrachteten Frequenzintervall, die sich ohne externe Annahmen oder Kenntnisse nicht separieren lassen. Die Extinktionskoeffizienten der Übergänge beider Isomere müssen bei gleichen Anregungs- bzw. Abtastwellenlängen nicht identisch sein. Hinzu kommt, dass die angeregten elektronischen Übergangsdipolmomente beider Isomere gemäß der theoretischen Berechnungen untereinander einen Winkel von ca.  $3^\circ$  haben und somit bereits eine Anregungsunschärfe bei Verwendung der Photoselektion entsteht. Unter der Annahme gleicher Signalamplituden beider Isomere bei gleichen Konzentrationen und Anregungsleistungen, ist eine Ermittlung des Mischungsverhältnis beider Isomere jedoch durch eine Näherung durchführbar: Formal lässt sich das experimentell bestimmte dichroitische Verhältnis  $D_{exp}$  zerlegen in zwei Signalanteile  $D_{exp} = {}^E p * {}^E D_5^{co} + {}^Z p * {}^Z D_5^{co}$ , wobei der erste Summand den Signalbeitrag zu  $D_{exp}$  von E-C314 darstellt und der zweite dem Anteil von Z-C314 entspricht. Es gilt  $0 \leq {}^E p, {}^Z p \leq 1$  und  ${}^E p + {}^Z p = 1$ . In Abbildung 5.5 ist der relative Winkel zwischen  ${}^Z\vec{\nu}_5^{co}$  und  ${}^Z\vec{\mu}_{el}$  dargestellt in Abhängigkeit vom steigenden Signalanteil  ${}^Z p$  des Z-C314-Isomers. Der experimentell bestimmte Winkel betrug  $61^\circ$  ( $+14^\circ / -12^\circ$ ) und ist in der Graphik als fehlerbehafteter Punkt eingetragen (b). Er entspricht einem Signalbeitrag von 91% des E-C314 und 9% des Z-C314. Betrachtet man den 1- $\sigma$ -Fehlerbereich, so könnten aber 0-25% des dichroitischen Verhältnisses  $D_{exp}$  vom Z-Isomer stammen. Die Bestimmung des Mischungsverhältnis beider Isomere des C314 durch die vorgenommene Abschätzung deckt sich mit dem theoretisch erwarteten Wert eines Z-C314-Anteils von etwa 7%.

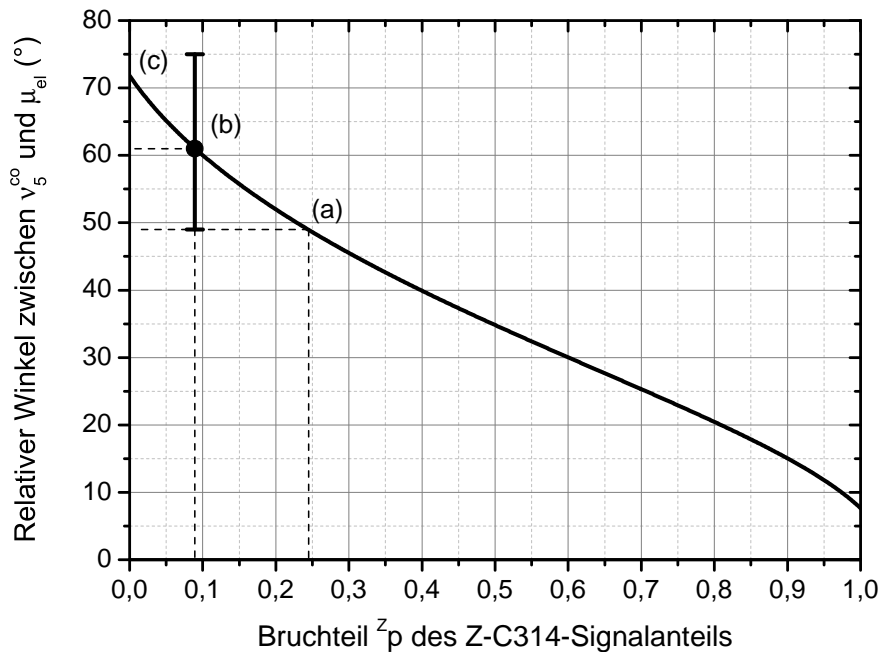


Abbildung 5.5.: Abhängigkeit des relativen Winkels zwischen dem elektronischen Übergangsdipolmoment und der Schwingungsbande  $\bar{\nu}_5^{co}$  in Abhängigkeit vom steigenden Signalanteil  $z_p$  des Z-C314-Isomers. (b) gibt den experimentell ermittelten Wert an mit den Fehlergrenzen (a) bis (c).

## 5.6. Einfluss einer isomeren Minorität

Im letzten Abschnitt wurde gezeigt, dass der Anteil des Z-C314 ca. 9% beträgt mit einem Fehlerbereich, der von 0-25% reicht. In diesem Abschnitt wird untersucht, welchen Einfluss ein in dieser Größenordnung vorliegendes Z-C314-Isomer auf die Berechnung der 3D-Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmoments hat. Zu klären ist, wie vertrauenswürdig die Bestimmung des elektronischen ÜDM bei der Verwendung einer isomersensitiven Schwingungsbande ist und wie hoch die Abweichung der elektronischen ÜDM bei einem Isomerenanteil von bis zu 25% ist.

Zu diesem Zweck wurde die im Abschnitt 5.4 bestimmte 3D-Lage des elektronischen Übergangsdipolmoments für das C-314 mit einem modifizierten Ansatz neu kalkuliert. Im Gegensatz zur vorangegangenen Bestimmung, bei der die Schwingungsbanden  $\nu_1^{cc}$ ,  $\nu_4^{cc}$  und  $\nu_6^{co}$  verwendet wurden, wird diesmal die Bande  $\nu_5^{co}$  statt  $\nu_4^{cc}$  benutzt. Außerdem wird der relative Winkel der Bande  $\nu_5^{co}$  reguliert (die relativen Winkel der Banden  $\nu_1^{cc}$  und  $\nu_4^{cc}$  bleiben bestehen), um unterschiedliche Isomerenanteile zu simulieren. Es werden dabei drei Fälle vorgestellt, die in Abb. 5.5 entsprechend bezeichnet sind: (a) Es wird ein relativer Winkel zwischen  $\bar{\nu}_5^{co}$  und  $\bar{\mu}_{el}$  von  $49^\circ$  verwendet, dem unteren Grenzwinkel des  $1-\sigma$ -Winkelbereiches, der experimentell für die Bande  $\nu_5^{co}$  bestimmt wurde. Er würde einem Z-

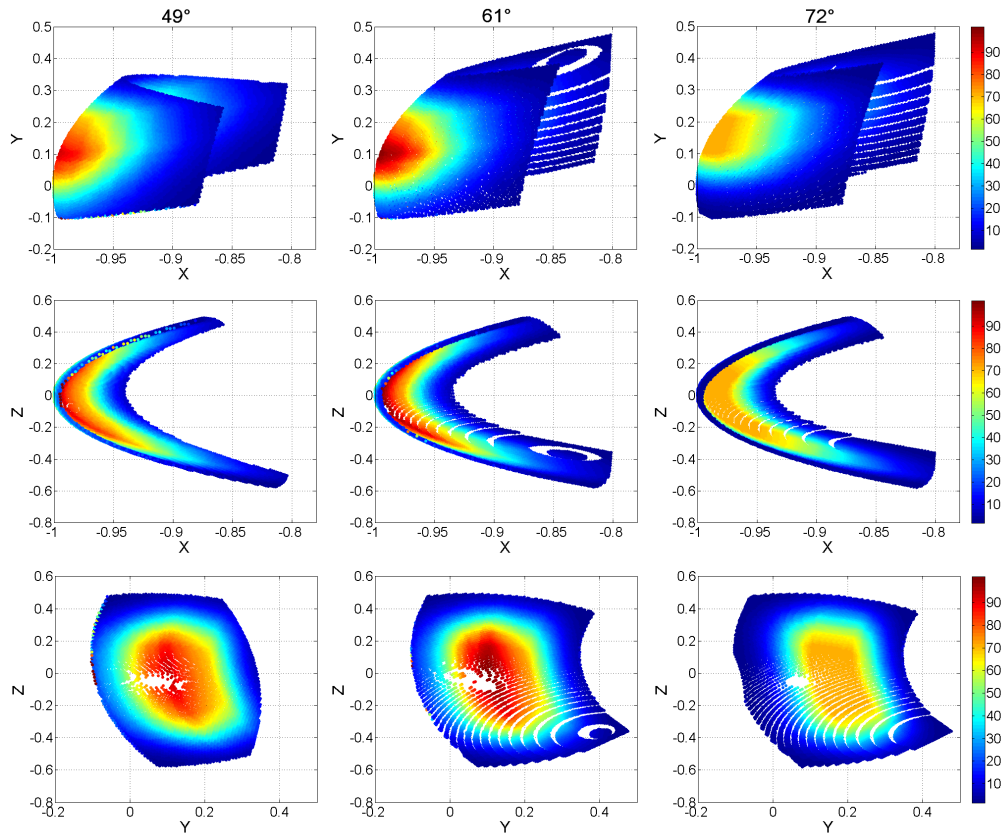


Abbildung 5.6.: Projektionen der Lösungsflächen des elektronischen Übergangsdipolmoments von C-314. Verwendete Schwingungsübergangsdipolmomente:  $E\vec{\nu}_1^{cc}$ ,  $E\vec{\nu}_5^{co}$  und  $E\vec{\nu}_6^{co}$ . Der relative Winkel für  $\nu_5^{co}$  wurde für die äußeren Spalten auf  $49^\circ$  bzw.  $72^\circ$  verschoben. Die mittlere Spalte mit  $61^\circ$  entspricht dem experimentellen Ergebnis für  $\nu_5^{co}$ .

C314-Anteil von ca. 25% entsprechen. (b) Der experimentell bestimmte wahrscheinlichste relative Winkel von  $61^\circ$  wird genutzt, entsprechend einem Anteil des Z-C314 von ca. 9%. (c) Es wird angenommen es liegt ausschließlich E-C314 vor und der relative Winkel beträgt folglich  $72^\circ$  (gleichwertig zu  $108^\circ$ ). In den drei Fällen wird jeweils dergleiche Fehlerbereich verwendet, d.h. in jedem der drei Fälle wird von einer Abweichung nach oben von  $14^\circ$  und nach unten von  $12^\circ$  ausgegangen, entsprechend des experimentellen Befunds zu Fall (b).

Der programmierte Algorithmus wurde wie in Abschnitt 3.5 beschrieben verwendet und ca.  $8,12 \times 10^6$  Winkelkombinationen nach möglichen Lösungen untersucht. Fall (a) mit  $49^\circ$  ergab ca.  $12,5 \times 10^3$  mögliche Lösungen innerhalb des Fehlerbereiches (der Lösungsfläche), der gemessene Fall (b) mit  $61^\circ$  ergab ca.  $13,9 \times 10^3$  mögliche Lösungen und für Fall (c) mit  $72^\circ$  wurden ca.  $18,9 \times 10^3$  Lösungen ermittelt. Der Lösungsbe- reich für  $\vec{\mu}_{el}$  wurde auf die drei kartesischen Koordinatenebenen projiziert (Abbildung 5.6). Die Farbcodierung gibt wieder die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen Lösung an,

wobei der höchste Farbwert (dunkelrot) dem wahrscheinlichsten Wert insgesamt, über alle drei Fälle, zugeordnet wurde. Er wurde im Fall (b) ermittelt und entspricht erwartungsgemäß auch der wahrscheinlichsten Lösung des  $\vec{\mu}_{el}$  angegeben in Abschnitt 5.4. Die Lösungsfläche für den Fall  $72^\circ$  weist im Zentrum ein Plateau auf. Im Vergleich zu den Lösungsflächen für  $49^\circ$  und  $61^\circ$  ist die Wahrscheinlichkeit innerhalb dieses Plateaus viel geringer und  $\vec{\mu}_{el}$  ist dort viel unschärfer definiert und das obwohl für diese Analyse die meisten Winkelkombinationen eine mögliche Lösung innerhalb des  $3\text{-}\sigma$ -Bereichs darstellten. Die Lösungsflächen für die Fälle (a) und (b) sind einander hingegen ähnlich. Das Vorliegen eines reinen E-C314-Isomers ist folglich der unwahrscheinlichste Fall und wird entsprechend ausgeschlossen. Des Weiteren lässt sich, bestätigend zu den Ergebnissen des Abschnitts 5.5 aus den Ergebnissen folgern, dass das tatsächliche Isomerverhältnis Z-/E-C314 eher  $1/10$  denn  $1/4$  beträgt.

Ein qualitativer Vergleich der Projektionen für  $49^\circ$  und  $61^\circ$  mit den Ergebnissen der Abb. 5.4 zeigt annähernd gleiche Koordinatenbereiche der Lösungsflächen, die Form der Projektionen für  $49^\circ$  und  $61^\circ$  selbst besitzt eine größere Übereinstimmung mit der 4-Vektor Lösung (5.4 (b)) als mit dem 3-Vektor Ergebnis.  $\vec{\mu}_{el,4}$  basiert wie die Berechnungen dieses Abschnitts unter anderem auf  $\vec{\nu}_5^{co}$  im Gegensatz zu  $\vec{\mu}_{el,3}$ , das ohne  $\vec{\nu}_5^{co}$  bestimmt wurde, wodurch die veränderte Form der Lösungsfläche zu erklären ist. Die Berechnungen in Abb. 5.6 wurden zu Gunsten einer kleineren Berechnungszeit mit einer höheren Intervallgröße des Algorithmus durchgeführt. Die Folge sind weiße Ringe bzw. Flecken. Die Lösungen an diesen Punkten sind sozusagen durch das grobe Raster „gerutscht“.

Die wahrscheinlichsten Lösungen  $^{a,b,c}\vec{\mu}_{el}$  für die drei Fälle sind in Tabelle 5.4 ange-

	X	Y	Z	Winkel mit $^b\vec{\mu}_{el,3}$ in $[\circ]$
$^a\vec{\mu}_{el}$	-0,99	0,11	0,00	0,4
$^b\vec{\mu}_{el}$	-0,99	0,11	0,01	0
$^c\vec{\mu}_{el}$	-0,98	0,18	0,05	5,1

Tabelle 5.4.: Bestimmte wahrscheinlichste 3D-Lagen des elektronischen Übergangsdipolmoments von C-314 für verschiedene Isomeranteile ((a)-(c): 25%, 9% und 0%) von Z-C314, sowie deren Winkelabweichung bzgl. des exp. Ergebnisses (b).

geben. Die Vektoren für die Fälle a) und b) mit  $49^\circ$  respektive  $61^\circ$  unterscheiden sich praktisch nicht voneinander und liegen um nur  $0,4^\circ$  auseinander. Die Lösung für den Fall c) mit  $72^\circ$  weicht um  $5,1^\circ$  von experimentellen Fall b) ab. Zu beachten ist aber auch die wesentliche schlechtere Ausprägung eines Maximums in diesem Fall.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine Variation des Winkels einer Bande in einem Bereich von insgesamt  $49^\circ$  bis  $72^\circ$  die wahrscheinlichste Richtung des elektronischen ÜDM  $\vec{\mu}_{el}$  um maximal  $5,1^\circ$  veränderte. Eine bestimmte 3D-Lage des  $\vec{\mu}_{el}$  ist gegenüber solchen Winkelvariationen einer einzelnen Bande ziemlich stabil. Eine Erklärung für dieses Verhalten besteht darin, dass zum einen der Fehlerbereich des  $\vec{\mu}_{el}$  nach

oben begrenzt ist durch die Schwingungsbande mit dem kleinsten Winkelbereich (siehe Abschnitt 4.7) und zum anderen das  $\vec{\mu}_{el}$  im Wesentlichen bereits durch zwei Vektoren, in diesem Fall  $\vec{\nu}_1^{cc}$  und  $\vec{\nu}_6^{co}$ , und deren relative Winkel bestimmt ist. Die Lösung besteht in diesem Fall aus maximal zwei Bereichen und ist durch die Wahl der Vektoren für beide Isomere nahezu identisch. Ein dritter Vektor würde einen Bereich als eindeutige Lösung auswählen und die Genauigkeit der Lösung selbst erhöhen, er verändert aber nicht mehr stark die wahrscheinlichste 3D-Lage, auch wenn er sensitiv für verschiedene Isomere ist. Jeder weitere Vektor, der zur Bestimmung von  $\vec{\mu}_{el}$  herangezogen wird, verbessert die Genauigkeit der Lösung weiter, wobei davon auszugehen ist, dass der absolute Gewinn an Genauigkeit mit jedem weiteren Vektor sinkt.

## 5.7. Zusammenfassung und Ausblick

Das planare Molekül C314 wurde als ein Beispielsystem mit zwei isomeren Strukturen untersucht und dessen elektronisches Übergangsdipolmoment mit verschiedenen Ansätzen bestimmt. Zur eindeutigen Bestimmung der 3D-Lage sind drei relative Winkel des elektronischen ÜDM zu abgetasteten Schwingungsbanden notwendig, verschiedene Kombinationen von bis zu vier Schwingungsübergangsdipolmomenten hingegen wurden verwendet. Die Orientierung des elektronischen ÜDM konnte in allen Variationen reproduziert werden. Eine Gegenüberstellung der verschiedenen Lösungen sowie die Ergebnisse der rein theoretischen Berechnungen sind in Tab. B5 enthalten.

Die Bestimmung der Orientierung eines elektronischen ÜDM mit der vorgestellten Methode ist erstaunlich robust. Sowohl die Fehlerbereiche als auch die 3D-Lage sind bereits durch zwei relative Winkel stark eingeschränkt. Ein dritter, vom Isomerverhältnis abhängender Winkel, verändert die Orientierung der Lösung max. um ca. 5° bei einer Variation des Isomerverhältnisses von 0% bis 25% Z-C314-Anteil und die Einbeziehung eines vierten Vektors erhöht weiter die Genauigkeit der bestimmten Lösung.

Durch Kombination experimenteller Ergebnisse und DFT-Berechnungen der isomeren Strukturen konnte gezeigt werden, dass C314 nicht ausschließlich in der Konformation E-C314 vorliegt, die Z-C314-Konformation aber nur eine geringe Konzentration aufweisen kann. Der vorliegende Z-C314-Anteil des C314 in Acetonitril lässt sich durch Hinzunahme der DFT-Berechnungen aus dem experimentell bestimmten Winkel der Schwingungsbande  $\nu_5^{co}$  bzgl. des elektronischen ÜDM zu 9% abschätzen und stimmt im Rahmen der Fehlergrenzen mit dem theoretisch erwarteten Wert von 7% überein.

Es wurde demonstriert, dass polarisationsaufgelöste Experimente vorliegende geometrische Heterogenitäten der Moleküle nachweisen können. Dieser Umstand ist von besonderer Bedeutung beim Verständnis der Reaktionsmechanismen biologischer Moleküle, da sie oft verschiedene Zustände annehmen können, deren Unterscheidung mit der IR-Absorptionsspektroskopie oft schwierig ist.

Neben den strukturellen Heterogenitäten lassen sich aber auch Heterogenitäten der elektronischen Übergänge und Absorptionsbanden nachweisen. Beide Aspekte werden im nächsten Kapitel am bakteriellen Phytochrom Agp1 behandelt. Dieses Molekül kann ebenfalls verschiedene Konformationen annehmen. Die vorliegende Konformation wird



mittels Femtosekunden polarisationsaufgelöste UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie bestimmt und außerdem zwischen verschiedenen elektronischen Übergängen unterscheiden.



---

## 6. Agrobacterium Phytochrom Agp1 – Heterogenität der Absorptionsbanden

---

### 6.1. Intention

Das Licht steuert in der Natur eine Vielzahl biologischer Prozesse und Verhaltensweisen, zur Detektion und Verarbeitung des Lichts dienen unter anderem Phytochrome als lichtempfindliche Schalter [110][116]. Sie wurden erstmalig bei Pflanzen nachgewiesen [18], sind aber nicht auf photosynthetische Lebewesen beschränkt und kommen auch bei Pilzen und Bakterien vor [116]. Die Phytochrome selbst lassen sich hinsichtlich ihrer Struktur und Funktion in zwei Regionen unterteilen: der N-terminalen Sensorregion, verantwortlich für die photosensorischen Eigenschaften und der C-terminalen Regulatorregion, die der Weiterleitung des Signals dient. Die Sensorregion enthält den Chromophor, ein kovalent gebundenes lineares Tetrapyrrol, das zwei stabile Konformationen die sogenannte  $P_r$ - und  $P_{fr}$ -Form annehmen kann und durch Absorption von Photonen geeigneter Wellenlänge reversibel zwischen beiden Zuständen konvertiert wird. Das Phytochrom des *Agrobacterium tumefaciens* (Agp1) [77] besitzt Biliverdin (BV) als natürlichen Chromophor einem Vorläufer anderer Chromophore [76], deren Absorptionsmaximum der Q-Banden bei  $\approx 703$  nm ( $P_r$ -Form) bzw.  $\approx 760$  nm ( $P_{fr}$ -Form) liegt. Eine Anregung der  $P_r$ -Form eines Chromophors in der Q-Bande führt zunächst zu einer schnellen Photoisomerisation ( $\approx 5$ -100 ps [50]) der Doppelbindung  $C_{15}=C_{16}$  (siehe Abb. 6.1) zwischen den Ringen C und D des Tetrapyrrols von 15 *Z* zu 15 *E* [3][28][90][113], begleitet durch eine Rotation des Rings D [151]. Die Weiterleitung dieses „Signals“ führt zu Veränderungen der Proteinkonformation und beeinflusst am Ende des Signalnetzwerks z. B. die Photomorphogenese: das Wachstum und die Entwicklung der Pflanzen [110].

Die tatsächliche Struktur der Chromophore in den beiden stabilen Konformationen war und ist Gegenstand der Forschung. Kneip et al. [70] und Mroginski et al. [96] schlugen aufgrund eines Vergleiches der Resonanz-Raman-Spektren pflanzlicher Chromophore mit den theoretisch erwarteten Spektren für die  $P_r$ -Form die Konformation  $C4=C5$  *Z*,  $C9=C10$  *Z*,  $C15=C16$  *Z*,  $C5-C6$  *anti*,  $C10-C11$  *syn*,  $C14-C15$  *anti* (*ZZZasa*) vor und Borucki et al. [12] schlossen wegen der Ähnlichkeit der Resonanz-Raman-Spektren des Agp1 ebenfalls das Vorliegen der Konformation *ZZZasa* für BV. Neuere Untersuchungen an bakteriellen Phytochromen mittels Röntgen-Kristallographie, Kernspinresonanzspek-

troskopie (NMR) sowie Absorptionsspektroskopie an sterisch blockiertem BV favorisieren hingegen in P<sub>r</sub>-Form die Konformation *ZZZssa* [27][42][57][146][148]. Durch das Abtasten unterschiedlicher Schwingungsbanden bei Anregung des gleichen elektronischen Übergangsdipolmoments ermöglicht die FS-Pol-PPS eine Unterscheidung zwischen verschiedenen Konformationen. Dies wurde in dieser Arbeit an einem sterisch blockiertem BV des Agp1 durchgeführt und wird in Abschnitt 6.9 behandelt.

Neben der Struktur der Phytochrome ist auch eine eventuelle Heterogenität bis heute nicht umfassend geklärt. Eine strukturelle Heterogenität führt zu einer Reihe verschiedener Wechselwirkungen zwischen dem Chromophor und der umgebenden Proteintasche des Phytochroms, was veränderte spektrale Eigenschaften bewirken kann. Es wird auch immer noch diskutiert, ob die bi-exponentielle Dynamik [50][123] der Photoisomerisation der P<sub>r</sub>-Form und die Schulter in der hochenergetischen Flanke der Q-Bande des Absorptionsspektrums von Phytochromen (ca. 644 nm bei Agp1) ihren Ursprung in einer strukturellen Heterogenität haben. Spillane et al. [129] zeigten durch die Berechnung des Absorptionsspektrums eines Cyanobacterium Phytochroms (Cph1) basierend auf der Analyse von Resonanz-Raman-Messungen, dass sich die Q-Bande incl. der Schulter durch vibronische Übergänge einer einzelnen Konformation des Cph1 in P<sub>r</sub>-Form simulieren lässt. Andere Studien demonstrierten hingegen strukturelle Heterogenitäten, beispielsweise untersucht durch temperaturabhängige Absorptionsspektroskopie am Phytochrom A [121] oder Agp1 [103], Resonanz-Raman-Spektroskopie an Kristallen bakterieller Phytochrome [144], Einzel-Molekül-Fluoreszenz-Emissions-Spektroskopie bei tiefen Temperaturen am Agp1 [101] oder NMR-Spektroskopie an Cph1 [127].

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Messungen an Agp1 durchgeführt, um den Ursprung der Schulter in der Q-Bande des Absorptionsspektrums näher zu beleuchten (siehe Abschnitt 6.8). Konkret wird darauf eingegangen, ob es sich um eine vibronische Progression, eine andere Chromophorstruktur oder einen anderen elektronischen Übergang handelt. Zu diesem Zweck, wurde sterisch blockiertes Agp1 jeweils im Maximum der Q-Bande, in der Schulter und in der Soret-Bande angeregt und die Schwingungsbanden polarisations- und zeitaufgelöst abgetastet, wodurch eine Unterscheidung der drei Varianten möglich wird. Eine Veröffentlichung der Ergebnisse ist derzeit in Bearbeitung [84].

## 6.2. Proben und Durchführung

Untersucht wurde das bakterielle Phytochrom des *Agrobacterium tumefaciens* mit dem sterisch blockiertem Chromophor 18-Ethyl-Biliverdin (18-Et-BV). Die Proben wurden von Inomata et al. und Lamparter et al. zur Verfügung gestellt. Informationen zur Synthese sind in [47][48] enthalten. Die gebräuchliche Bezeichnung der Proteinproben ist Agp1-M15 ZZZ-anti 18-Et-BV und wird im Folgenden mit Agp1-15Za abgekürzt. Die Konformation der Doppelbindungen von Agp1-15Za war C4=C5 *Z*, C9=C10 *Z*, C15=C16 *Z* und die der Einzelbindung C14-C15 *anti*. Abb. 6.1 zeigt den sterisch gelockten Chromophor 18-Et-BV in der Konformation *ZZZssa*. Eine zusätzliche Kohlenstoffkette (rot) zwischen dem Ring C und D verhindert eine Photokonversion von 15 *Z*

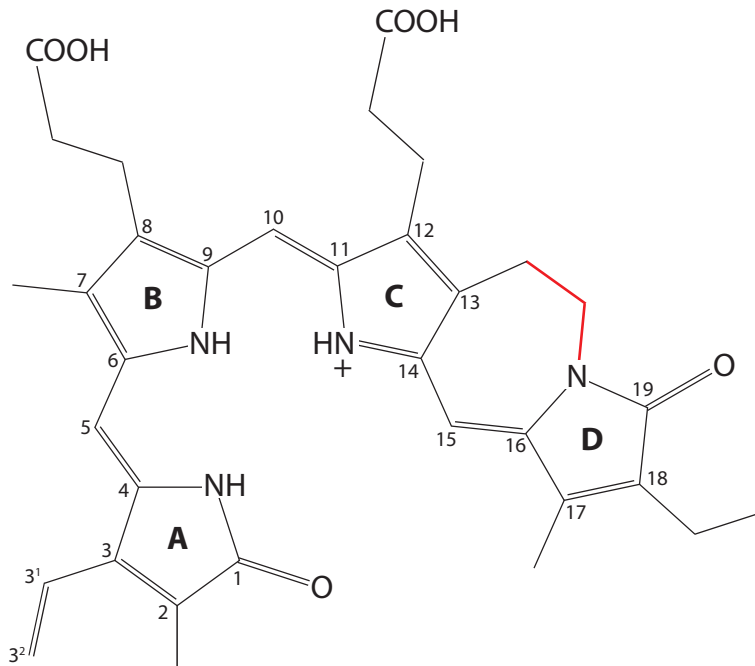


Abbildung 6.1.: Konformation des Chromophors 18-Et-BV (schwarz). Die Modifizierung der Struktur mit der zusätzlichen Kohlenstoffkette (rot) zwischen Ring C und D blockiert die  $Z \rightarrow E$  Photoisomerisation.

zu 15 *E* [56][57]. Mit anderen Worten: Der Chromophor ist photostabil und liegt dauerhaft in  $P_r$ -Form ( $ZZZ$ ) vor, er transformiert nicht durch Anregung der  $Q$ -Bande, dessen Maximum bei 713 nm liegt, zur  $P_{fr}$ -Form ( $ZZE$ ).

Agp1-15Za wurde in Lösung verwendet. Lösungsmittel und Puffer waren schweres Wasser ( $D_2O$ ) und Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS). Die Konzentration betrug etwa 2 mM und die Schichtdicke der Probe 50  $\mu m$ . Eine höhere Schichtdicke konnte wegen der starken Absorption der *Probe*-Pulse im untersuchten Bereich (1640-1750  $cm^{-1}$ ) durch das Lösungsmittel nicht verwendet werden. Die Probenkammer wurde während der Messungen durchgehend mit einem Bewegungsmuster in Form von Lissajousfiguren bewegt (Siehe Abschnitt 2.6), um Doppelbeleuchtungen desselben Probenvolumens zu verhindern.

Zur Untersuchung von Agp1-15Za wurden Anregungspulse bei 713 nm, 644 nm sowie 400 nm erzeugt und jeweils verwendet. Tabelle 6.1 enthält die Durchmesser der *Pump*- und *Probe*-Strahlen im Fokus bzw. im Probenvolumen. Die Anregungsleistung wurde begrenzt, um eine Sättigung zu vermeiden (Molekülanregung <6%). Die Schwingungsbänder im Bereich von 1640-1750  $cm^{-1}$  wurden in drei Etappen polarisationsaufgelöst abgetastet mit einer spektralen Breite von jeweils 50  $cm^{-1}$  pro Messung. Die Auflösung des Spektrometers betrug 1,5  $cm^{-1}$ . Die Experimente wurden mit *Pump-Probe*-Pulsverzögerungszeiten von -20 bis 100 ps sowie im erweiterten Zeitbereich von -20 ps bis 1,2 ns durchgeführt mit einer minimalen Schrittweite von 50 fs. Die Zeitauflösung aller Experimente war besser als 400 fs.

<i>Pump</i> -Wellenlänge in nm	<i>Pump</i> -Fokus H/V in $\mu\text{m}$	<i>Probe</i> -Fokus H/V in $\mu\text{m}$	<i>Probe</i> -Fokus H/V in $\mu\text{m}$
713	270 $\times$ 200	160 $\times$ 180	230 $\times$ 180
644	330 $\times$ 370	130 $\times$ 200	230 $\times$ 200
400	400 $\times$ 400	130 $\times$ 200	230 $\times$ 200

Tabelle 6.1.: Überblick der Strahldurchmesser (H/V) im Fokus für den *Pump*-Strahl sowie den vertikal und horizontal polarisierten *Probe*-Strahlen jeweils für Experimente mit der Anregungswellenlänge 713 nm, 644 nm und 400 nm.

Vor und nach jeder Untersuchung der Proben mittels FS-Pol-PPS wurde jeweils ein Vis- sowie IR-Absorptionsspektrum aufgezeichnet. Die Eichung des Spektrometers des FS-Pol-PPS-Aufbaus wurde täglich mit einer Eichmessung eines Polymerfilms überprüft. Zur Eichung der zeitlichen Verzögerung der *Pump*- sowie *Probe*-Pulse wurden Messungen an einem Germaniumplättchen durchgeführt und der Nullpunkt entsprechend gesetzt.

Alle Messungen wurden bei Raumtemperatur ca. 23 °C durchgeführt. Die Luftfeuchtigkeit im Labor betrug üblicherweise 10% und war <5% innerhalb des verdeckten Messaufbaus auf dem optischen Tisch.

Untersuchungen an natürlichem Agp1 Wildtyp in P<sub>r</sub>-Form wurden ebenfalls durchgeführt. Die Proben wurden von Lamparter et al. zur Verfügung gestellt und als Lösungsmittel diente wieder D<sub>2</sub>O. Agp1 Wildtyp wurde in der hochenergetischen Flanke des Maximums der Q-Banden angeregt bei 680 nm. Durchgehende Hintergrundbeleuchtung der Proben mit Licht oberhalb der Wellenlänge von 760 nm wurde zur Unterdrückung der P<sub>r</sub>-Form verwendet. Alle übrigen Parameter der Experimente entsprachen denen der Messungen an Agp1-15Za.

### 6.3. Absorptionsspektrum von Agp1-15Za

Die Q-Banden des natürlichen BV in P<sub>r</sub>-Form besitzen zwei charakteristische Absorptionen, das Maximum liegt bei  $\approx 703$  nm und in der hochenergetischen Flanke dieser Bande liegt die zweite Absorption bei  $\approx 644$  nm [12][77]. Das Absorptionsspektrum des BV zeigt bis zu einer kritischen Temperatur im sichtbaren Spektralbereich eine reversible Temperaturabhängigkeit. Die Position der Banden bleibt dabei unverändert, jedoch steigt die Absorption in der Soret-Bande wohingegen sie im Maximum der Q-Bande mit steigender Temperatur fällt. Die Absorption in der Schulter (644 nm) nimmt aber im Gegensatz dazu nur gering ab [103]. Eine Temperaturabhängigkeit wurde nicht beobachtet bei gleichartigen Messungen an Agp1-15Za [103].

Abb. 6.2 zeigt exemplarisch ein gemessenes Absorptionsspektrum von Agp1-15Za sowie die *Pump*-Profile. Angeregt wurden die beiden Q-Banden im jeweiligen Maximum bei 713 nm und 644 nm sowie die Soret-Bande bei 400 nm. Spektrale Veränderungen der Absorptionsbanden durch die Anregung der Proben wurden nicht beobachtet.

Das Absorptionsmaximum der Q-Banden (713 nm) des sterisch blockierten Agp1-15Za

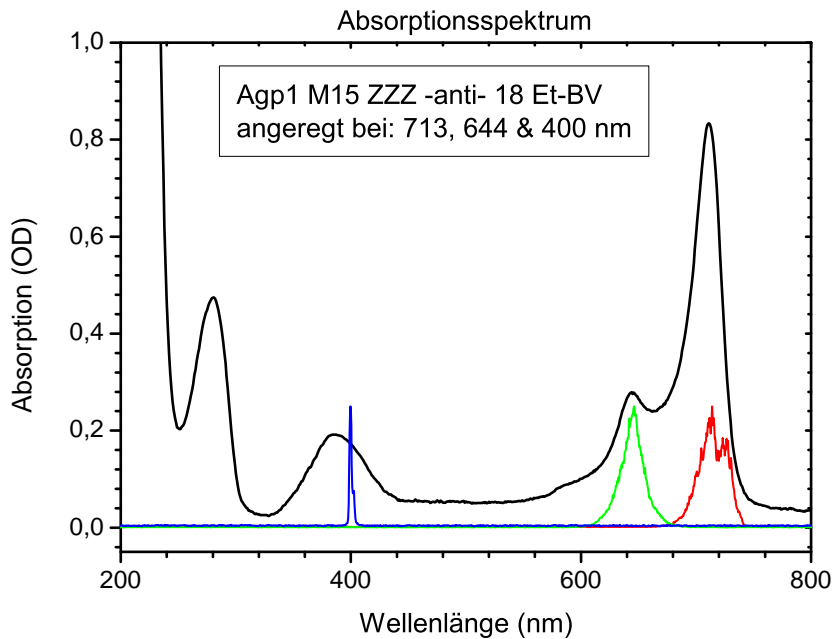


Abbildung 6.2.: Absorptionsspektrum von Agp1-M15 ZZZ-anti 18-Et-BV (Agp1-15Za, schwarz), *Pump*-Profile mit Maxima bei 713 nm (rot), 644 nm (grün) und 400 nm (blau).

ist gegenüber dem des natürlichen (ungeblockten) BV-Agp1 um ca. 10 nm zu höheren Wellenlängen verschoben wohingegen die Position der zweiten Absorptionsbande (644 nm) nahezu unverändert bleibt [56], der Abstand der beiden Banden zueinander steigt und das Amplitudenverhältnis ebenfalls zu Gunsten des Absorptionsmaximums bei 713 nm [56]. Die Ursache dieser spektralen Veränderung ist nicht bekannt.

Das unterschiedliche Verhalten beider Q-Banden durch die Veränderung der Temperatur sowie die inhomogene spektrale Verschiebung der Banden durch Modifizierung des Chromophors deuten auf eine Heterogenität der  $P_r$ -Form des BV hin. Der Abstand der beiden Absorptionsbanden des Agp1-15Za mit  $\approx 1500 \text{ cm}^{-1}$  liegt aber auch im möglichen Bereich für eine vibronische Progression des Maximums der Q-Bande und das Absorptionsspektrum lässt sich auch auf diese Weise interpretieren [129]. Polarisationsaufgelöste Messungen wurden durchgeführt, um die Herkunft beider Q-Banden zu untersuchen. Die Bestimmung des relativen Winkels zwischen dem jeweils angeregten elektronischen Übergangsdipolmoment und dem abgetasteten Schwingungsübergangsdipolmoment liefern dafür weitere nützliche Informationen zur Klärung dieses Sachverhalts.

## 6.4. Anregung bei 713 nm: Transiente Signale

Abb. 6.3 zeigt polarisationsaufgelöste transiente Signale der abgetasteten Carbonyl-

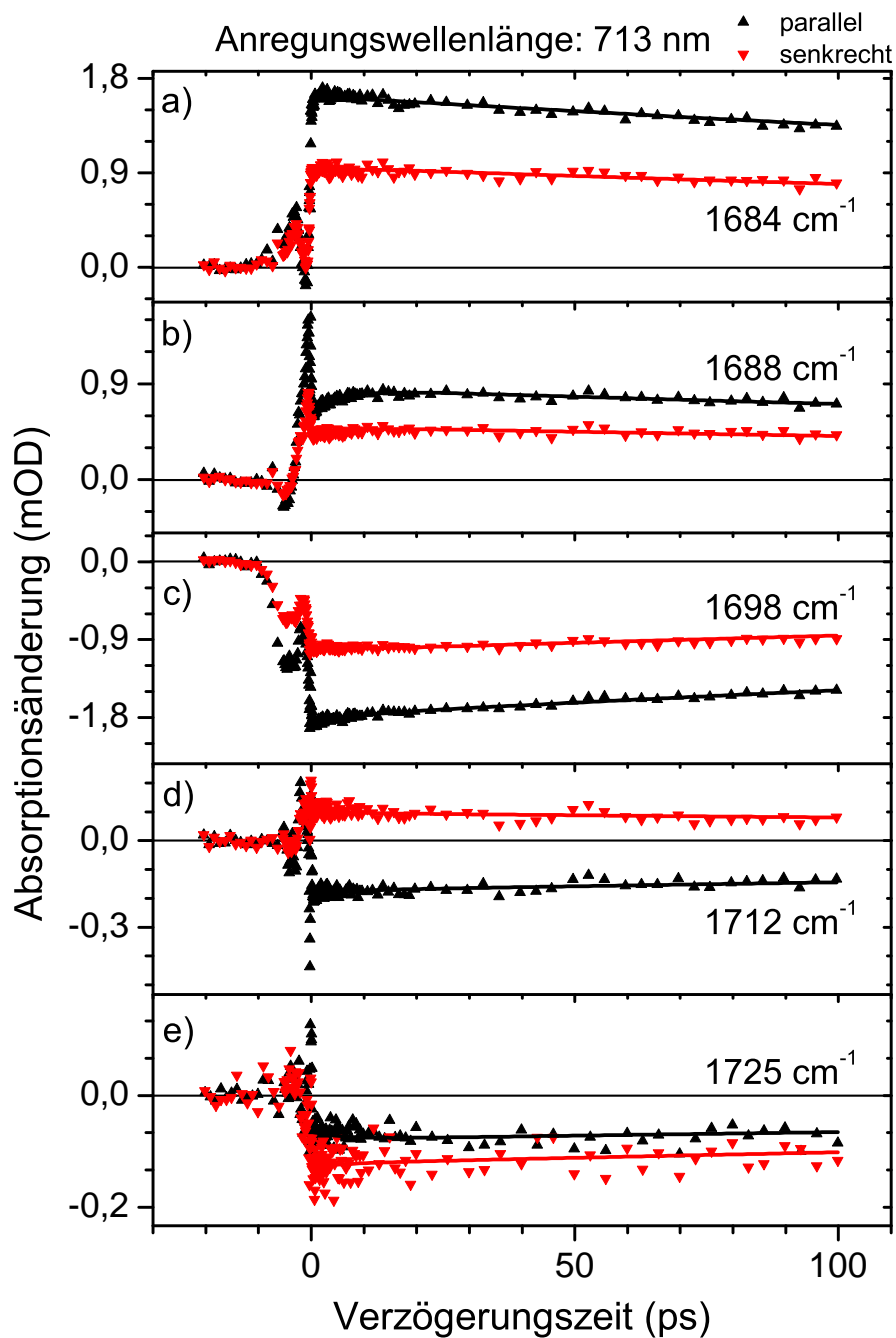


Abbildung 6.3.: Polarisationsaufgelöste transiente Signale von Agp1-15Za, parallel (schwarzes stehendes Dreieck), senkrecht (rotes hängendes Dreieck). Daten bi-exponentiell simuliert:  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540$  ps (durchgezogene Linie). Anregungswellenlänge: 713nm.



schwingungen des Agp1-15Za (*Pump*-Wellenlänge 713 nm). Die positiven Signale bei 1684 und 1688  $\text{cm}^{-1}$  repräsentieren  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Streckschwingungen im elektronisch angeregten Zustand und die negativen Signale bei 1698  $\text{cm}^{-1}$  die zugehörigen Schwingungen im Grundzustand. Das dichroitische Verhältnis  $D$  ist von ähnlicher Größe und stützt diese Zuordnung (siehe Abschnitt 6.7). Messungen an natürlichem Agp1 (siehe Abschnitt 6.10) ergaben analoge Bandenpositionen. Untersuchungen an natürlichem Agp1 gelöst in  $\text{H}_2\text{O}$  ergaben demgegenüber jedoch blauverschobene Absorptionen der  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Streckschwingungen zu 1698 bzw. 1712  $\text{cm}^{-1}$  im elektronisch angeregten Zustand bzw. Grundzustand [123], eine Blauverschiebung in dieser Größenordnung ist durch die Verwendung von  $\text{H}_2\text{O}$  statt  $\text{D}_2\text{O}$  zu erwarten. FTIR Spektroskopie an Phycocyanobilin (PCB) und Phytychromobilin (PΦB) bestimmten die Position der  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Streckschwingung im Grundzustand zu 1696 bis 1704  $\text{cm}^{-1}$  [30][139], zeitaufgelöste IR-Spektroskopie am Phytychrom Cph1 ergab hingegen 1716  $\text{cm}^{-1}$  [140].

Die Signale bei 1712 und 1725  $\text{cm}^{-1}$  in Abb. 6.3 d) und e) werden  $\text{C}_1=\text{O}$  Streck-schwingungen im elektronisch angeregten bzw. im Grundzustand zugeordnet. Die  $\text{C}_1=\text{O}$  Streck-schwingung wurde in [123] nicht aufgelöst und die Position bei strukturell ähnlichen Chromophoren wurde zu 1720 bis 1736  $\text{cm}^{-1}$  bestimmt [30][139][140].

Das dichroitische Verhältnis  $D$  der  $\text{C}_1=\text{O}$  Bleichbande bei 1725  $\text{cm}^{-1}$  unterscheidet sich deutlich zum dichroitische Verhältnis  $D$  der  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Bleichbande bei 1698  $\text{cm}^{-1}$ . Sie verhalten sich nahezu invers zueinander. Das anomale dichroitische Verhältnis  $D < 0$  bei 1712  $\text{cm}^{-1}$  entsteht durch eine Superposition mit den Signalen zu kleineren und höheren Wellenzahlen. Zu erwarten wären positive parallele und senkrechte Signale\*, deren Verhältnis in etwa dem bei 1725  $\text{cm}^{-1}$  entspricht. Die starke negative parallele Bande bei 1698  $\text{cm}^{-1}$  bewirkt jedoch ein insgesamt negatives paralleles Signal bei 1712  $\text{cm}^{-1}$ .

Alle dargestellten Signale zeigen ein annähernd mono-exponentielles Zeitverhalten mit einer Zeitkonstanten  $\tau > 100$  ps mit Ausnahme des parallelen Signals bei 1688  $\text{cm}^{-1}$  in Abb. 6.3 b), dass eine weitere Dynamik im Bereich weniger ps aufzeigt. Zur Bestimmung der Dynamik wurden deshalb die stärksten Signale der durchgeführten Messungen von -20 ps bis 1,2 ns verwendet und im Bereich von 350 fs bis 1,2 ns analysiert (nicht gezeigt), um die lange Zeitkonstante genauer bestimmen zu können. Die beste Anpassung wurde für eine bi-exponentielle Simulation mit  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540$  ps erzielt. Eine Hinzunahme einer dritten Zeitkonstante verbesserte die Anpassung nicht signifikant. Abb. 6.4 zeigt den 2D-Fehlerbereich, ermittelt mit ExSeAn. Die dargestellten Punkte kennzeichnen dabei die  $\tau_1/\tau_2$ -Parameterpaare an der Grenze des 1- $\sigma$ -Fehlerbereichs. Der Fehlerbereich von  $\tau_1$  reicht von ca. 4 bis 8 ps und der von  $\tau_2$  von ca. 510 bis 570 ps. Der einzelne Punkt im Zentrum gibt die Kombination mit dem geringsten  $\chi^2$  an. Eine globale bi-exponentielle Simulation der transienten Signale der Messungen im Bereich von -20 bis 100 ps mit  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540$  ps erzielt ebenfalls die beste Anpassung (siehe Abb. 6.3).

Schuhmann et al. ermittelten bei der Photoreaktion von natürlichem Agp1 in  $\text{P}_r$ -Form eine tri-exponentielle Dynamik (siehe auch Abschnitt 6.10) mit zwei Zeitkonstanten ähn-

---

\*Polarisation der *Probe*-Pulse parallel bzw. senkrecht zur Polarisation der *Pump*-Pulse.

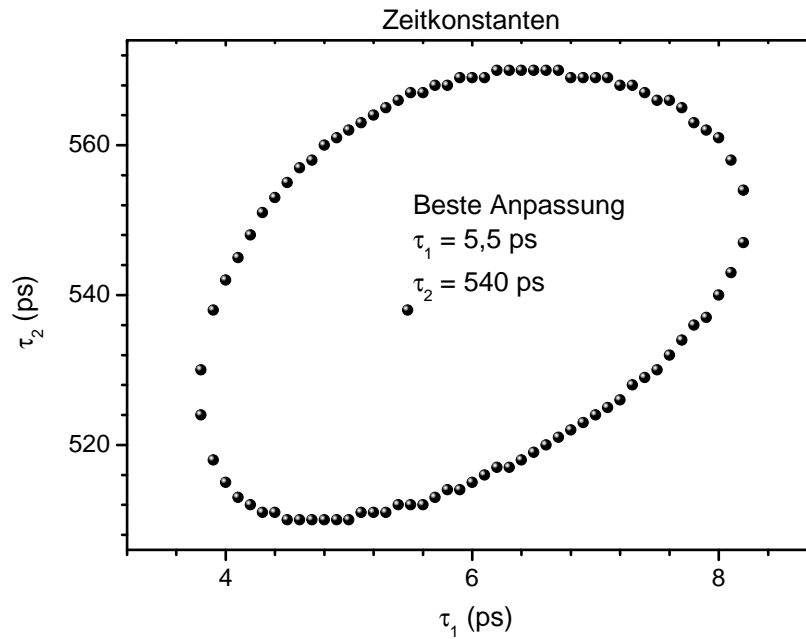


Abbildung 6.4.: 1- $\sigma$ -Fehlerbereich für die bi-exponentielle Simulation der polarisationsaufgelösten transienten Signale mit dem besten Signal- zu Rauschverhältnis, ermittelt mit ExSeAn. Optimaler Wert durch Punkt innerhalb der Fläche angegeben.

lich zu  $\tau_1$ . Sie betragen 2,0 und 4,3 ps (die dritte 46,8 ps) [123]. Sie waren stärkste Komponenten der bestimmten Dynamik,  $\tau_1$  zeigt in meinem Fall bei Agp1-15Za jedoch nur einen Anteil von etwa 10% zur Amplitude. Da Agp1-15Za durch die zusätzliche Verbindung zwischen Ring C und D keine Photoreaktion zeigt, wird  $\tau_1$  einem Relaxationsprozess zugeordnet (mehr dazu im Abschnitt 6.6 und 6.7) übereinstimmend mit Untersuchungen an Bacteriophytochrom (4 ps) [137] und Cph1 (3 ps) [140].  $\tau_2$  wird der Fluoreszenzlebensdauer zugewiesen.

Bei Untersuchungen am Chromophor Phycoerythrobilin (PEB) des Cph1, das ebenfalls keine Photoisomerisation zeigt, wurde  $\tau_1$  nicht beobachtet [50] und  $\tau_2$  liegt im Bereich von 0,7 bis 2 ns. Die niedrigere Fluoreszenzlebensdauer des Agp1-15Za steht in Übereinstimmung mit einer geringeren Quantenausbeute gegenüber PEB-Cph1 [153].

## 6.5. Anregung bei 644 nm: Transiente Signale

Abb. 6.5 zeigt polarisationsaufgelöste transiente Signale der abgetasteten Carbonylschwingungen des Agp1-15Za bei einer Anregung mit Pulsen der Wellenlänge 644 nm. Die Zuordnung der Transienten erfolgt analog zum vorangegangenen Abschnitt: Die positiven Signale bei 1684 und 1688  $\text{cm}^{-1}$  entstehen durch  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Streckschwingungen

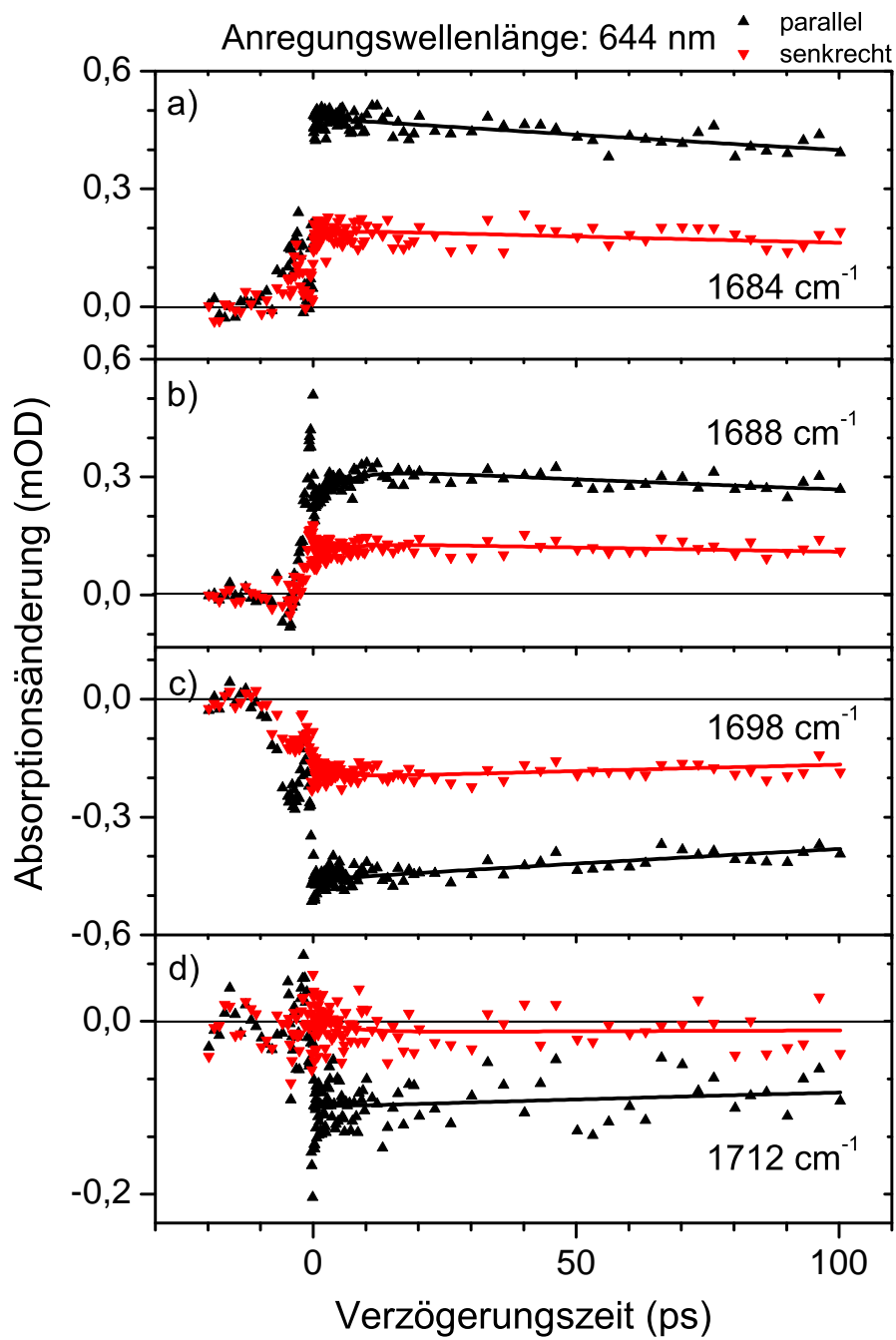


Abbildung 6.5.: Polarisationsaufgelöste transiente Signale von Agp1-15Za, parallel (schwarzes stehendes Dreieck), senkrecht (rotes hängendes Dreieck). Daten bi-exponentiell simuliert:  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540$  ps (durchgezogene Linie). Anregungswellenlänge: 644 nm.

im elektronisch angeregten Zustand und die negativen Signale bei  $1698\text{ cm}^{-1}$  durch die zugehörigen Schwingungen im Grundzustand. Bei  $1712\text{ cm}^{-1}$  liegen  $\text{C}_1=\text{O}$  Streckschwingungen im elektronisch angeregten Zustand vor, die durch eine Überlagerung mit der Bleichbande der  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Streckschwingungen eine insgesamt negative Absorptionsänderung zeigen.

Die Amplituden der Signale sind gegenüber denen, der Anregung mit  $713\text{ nm}$  *Pump*-Pulsen etwa drei mal kleiner, bedingt durch die geringere Absorption des Agp1-15Za in der Schulter der Q-Bande, die Form und das Zeitverhalten sind aber ähnlich. Die Daten wurden bi-exponentiell simuliert mit den Zeitkonstanten  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540\text{ ps}$  (durchgezogene Linien), ermittelt durch Analyse der Messungen mit  $713\text{ nm}$  Anregungswellenlänge. Der Parametersatz mit der besten Anpassung der Daten ( $\tau_1 = 4,6$  und  $\tau_2 = 540\text{ ps}$ , nicht gezeigt) unterscheidet sich praktisch nicht davon.

Vergleichend mit Abb. 6.3 stellt man in Abb. 6.5 ein größeres dichroitisches Verhältnis  $D$  fest. Außerdem zeichnet sich die kurze Zeitkonstante bei  $1688\text{ cm}^{-1}$  deutlicher ab, der Anteil von  $\tau_1$  an der Amplitude beträgt  $14\%$  gegenüber  $10\%$  bei  $713\text{ nm}$  Anregung.

## 6.6. Anregung bei $400\text{ nm}$ : Transiente Signale

Abb. 6.6 zeigt polarisationsaufgelöste transiente Signale der abgetasteten Carbonylschwingungen des Agp1-15Za bei einer Anregung mit der *Pump*-Wellenlänge  $400\text{ nm}$ . Diese Daten wurden ebenfalls bi-exponentiell mit  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540\text{ ps}$  simuliert (durchgezogene Linie). Man erkennt aber eine Abweichung der Anpassung bei großen Verzögerungszeiten (Abb. 6.6 c)). Die optimale Anpassung ergab  $\tau_1 = 4,4\text{ ps}$  und  $\tau_2 = 1,2\text{ ns}$ , wobei der  $1\text{-}\sigma$ -Fehlerbereich in diesem Fall von  $4$  bis  $8\text{ ps}$  für  $\tau_1$  und von  $0,5$  bis  $2,0\text{ ns}$  für  $\tau_2$  reicht und die dargestellte Simulation enthält. Der größere Fehlerbereich gegenüber der Analyse in Abschnitt 6.4 ergibt sich durch die geringere Signalstärke bzw. dem schlechteren Signal- zu Rauschverhältnis sowie der kürzeren Verzögerungszeiten ( $100\text{ ps}$  gegenüber  $1,2\text{ ns}$ ).

Deutlich zu erkennen ist in Abb. 6.6 b) eine stärkere Amplitude der kürzeren Zeitkonstante  $\tau_1$  deren Anteil  $33\%$  beträgt (Vergleich:  $14\%$  bzw.  $10\%$  bei  $644$  bzw.  $713\text{ nm}$  Anregung). Diese Erhöhung könnte Folge der höheren Anregungsenergie sein. Je mehr Energie im Chromophor deponiert wird, desto stärker sollten die Signale der Relaxationsprozesse werden. Das stärkste zu erwartende Signal sollte bei Anregung mit  $400\text{ nm}$  detektiert werden, da die Soret-Bande von Agp1-15Za dort absorbiert und eine Anregung dieser Bande zu elektronischen Übergängen zu höheren Niveaus führt ( $\text{S}_0 \rightarrow \text{S}_x$  mit  $x > 2$ ). Eine weitere Untersuchung des Ursprungs der Zeitkonstanten  $\tau_1$  erfolgt im nächsten Abschnitt.

Zu beachten sind ebenfalls die deutlichen Unterschiede der dichroitischen Verhältnisse  $D$  gegenüber denen in Abb. 6.3 und 6.5. Die senkrechten Signalanteile sind durch Anregung bei  $400\text{ nm}$  stärker als die parallelen im Gegensatz zur Anregung des Chromophors bei  $713$  oder  $644\text{ nm}$ . Bei allen Anregungsexperimenten wurden jeweils die gleichen Schwingungsübergänge abgetastet. Die beobachtete Veränderung des dichroitischen Verhältnisses  $D$  geht demnach mit einer großen Winkeländerung über den magischen Winkel

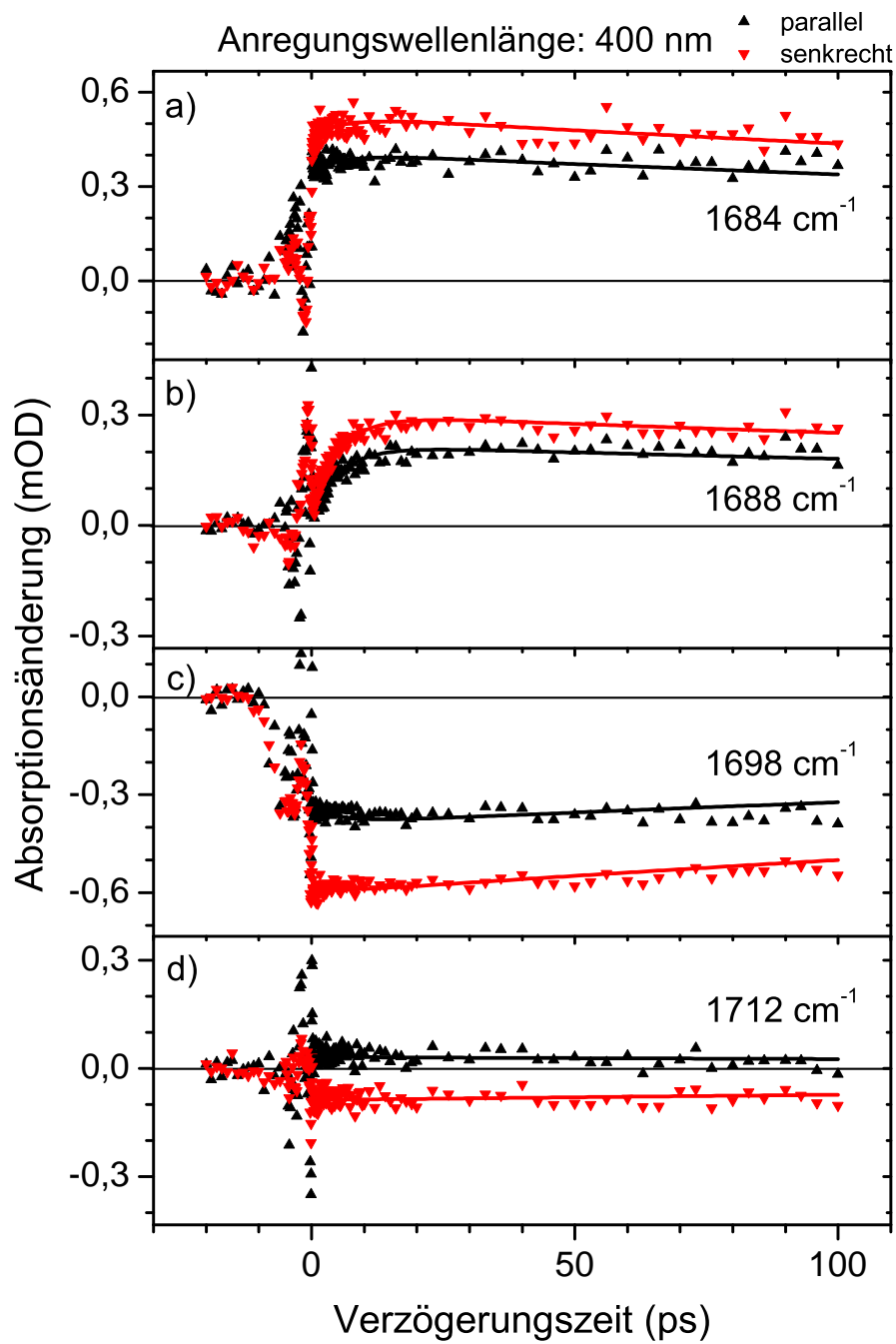


Abbildung 6.6.: Polarisationsaufgelöste transiente Signale von Agp1-15Za, parallel (schwarzes stehendes Dreieck), senkrecht (rotes hängendes Dreieck). Daten bi-exponentiell simuliert:  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540$  ps (durchgezogene Linie). Anregungswellenlänge: 400 nm.

von  $54,7^\circ$  einher. Demzufolge müssen die Orientierungen der elektronischen Übergangsdipolmomente der Q- und Soret-Banden drastisch voneinander abweichen. Die relativen Winkel, die dies quantitativ belegen werden im nächsten Abschnitt ermittelt.

## 6.7. Zerfallsassoziierte Spektren und relative Winkel

### Zerfallsassoziierte Spektren

Mit Hilfe der globalen Simulationen aller Daten mit  $\tau_1 = 5,5$  und  $\tau_2 = 540$  ps lassen sich die zerfallsassoziierten Spektren (DAS) konstruieren. Sie stellen die Spektren zum Zeitnullpunkt dar und sind durch die Vorfaktoren der Exponentialfunktionen gegeben. Abb. 6.7 b)-d) zeigt die DAS der beiden Zeitkonstanten  $\tau_1$  (leeres Symbol) und  $\tau_2$  (volles Symbol) für die jeweils verwendete Anregungswellenlänge 713, 644 und 400 nm. Die DAS wurden jeweils auf das Minimum der parallelen Bleichbande der  $C_{19}=O$  Streckmode normiert. Der spektrale Bereich von 1721 bis  $1742\text{ cm}^{-1}$  wurde bei den Messungen der *Pump*-Wellenlänge von 644 und 400 nm nicht aufgelöst und weitergehend untersucht. Man erkennt in allen DAS einen vertikalen Versatz der Datenpunkte bei bestimmten spektralen Positionen z. B. bei 1676, 1685, 1696 und  $1701\text{ cm}^{-1}$ , die auf Wasserdampfabsorptionen zurückzuführen sind (siehe differenziertes  $H_2O$ -Spektrum in Abb. 6.7 a)). Die Tatsache, dass Absorptionsbanden des Wassers die Messungen bei  $<5\%$  Luftfeuchte beeinflussen, demonstriert wie klein die gemessenen Signale der polarisationsaufgelösten Experimente waren. Die Molekülanregung muss unterhalb von 10% bleiben [141][143], um Sättigungseffekte der Photoselektion zu vermeiden. Die Anregungsleistung wurde deswegen reduziert. Ferner lässt sich Agp1-15Za nicht beliebig hoch konzentrieren, um größere Signalamplituden zu erreichen.

Die DAS der  $\tau_2$ -Komponenten unterscheiden sich kaum in ihrer Form untereinander sowie im Vergleich zu gemessenen Differenzspektren (Abb. 6.8). Man erkennt zwei positive Banden bei ca.  $1684$  und  $1712\text{ cm}^{-1}$  sowie zwei negative Signale bei  $1698$  und  $1725\text{ cm}^{-1}$ .  $\tau_2 = 540$  ps stellt die Lebensdauer der angeregten Zustände dar. Die negativen Banden bei  $1698$  und  $1725\text{ cm}^{-1}$  sind die Bleichsignale der beiden Carbonylstreckmoden am Ring D bzw. Ring A, d.h. sie entstehen durch Entvölkerung der entsprechenden Schwingungszustände im Grundzustand  $S_0$ . Die positiven Banden bei  $1684$  und  $1712\text{ cm}^{-1}$  repräsentieren die analogen Übergänge im angeregten Zustand  $S_1$ , die bevölkert werden und deswegen ein positives Signal aufweisen. Die vier Banden lassen sich durch vier Lorentzprofile simulieren (durchgezogene Linien). Die Position und Breite der verwendeten Lorentzprofile sowie deren Toleranzbereiche sind in Tabelle 6.2 angegeben. Die Fehlerbereiche wurden durch ExSeAn ermittelt.

Die DAS der  $\tau_1$ -Komponenten zeigen nur unterhalb von ca.  $1694\text{ cm}^{-1}$  wesentliche Beiträge. Die Amplitude steigt mit zunehmender *Pump*-Frequenz und ist bei Anregung mit 400 nm *Pump*-Licht am stärksten (Abb. 6.7 d)). Unterhalb von  $1680\text{ cm}^{-1}$  zeigen die DAS ein positives Signal, was auf ein dort schwindendes Signal hindeutet; zwischen  $1684$  und  $1694\text{ cm}^{-1}$  gibt es eine negative Amplitude (Minimum bei  $1688\text{ cm}^{-1}$ , FWHM:  $7\text{ cm}^{-1}$ ), entsprechend eines ansteigenden Signals. Dieses Verhalten lässt sich als Küh-

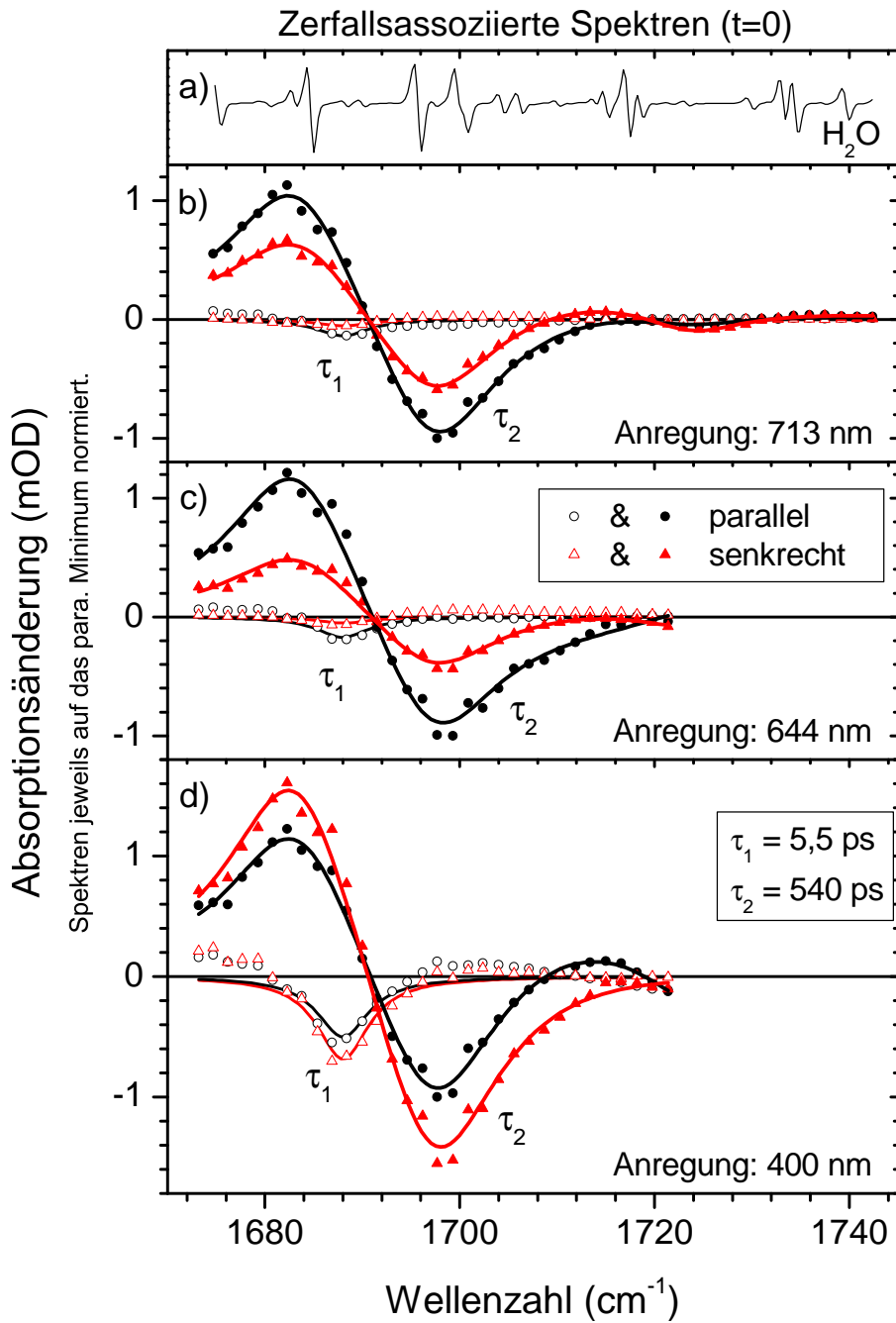


Abbildung 6.7.: a) Differenziertes Absorptionsspektrum von H<sub>2</sub>O. b)-d) Zerfallsassozierte Spektren ( $t=0$ ) jeweils für  $\tau_1 = 5,5$  ps (leeres Symbol) und  $\tau_2 = 540$  ps (volles Symbol), parallel (Kreis, schwarz), senkrecht (Dreieck, rot).  $\tau_1$ -Spektren mit einem und  $\tau_2$ -Spektren mit vier Lorentzprofilen simuliert (durchgezogene Linien).

Schwingung Zustand	C <sub>19</sub> =O S <sub>1</sub>	C <sub>19</sub> =O S <sub>0</sub>	C <sub>1</sub> =O S <sub>1</sub>	C <sub>1</sub> =O S <sub>0</sub>
<b>Position</b>				
Best	1683,3	1697,2	1712,3	1724,0
1- $\sigma$	1683,1 - 1683,7	1696,8 - 1697,4	1705,5 - 1716,5	1723,1 - 1725,4
2- $\sigma$	1682,7 - 1684,0	1696,5 - 1697,7	1696,0 - 1719,5	1721,9 - 1726,8
3- $\sigma$	1682,6 - 1684,1	1696,3 - 1697,9	1694,4 - 1720,5	1721,4 - 1727,6
<b>FWHM</b>				
Best	17,5	16,6	37	14
1- $\sigma$	16,3 - 18,9	15,1 - 18,1	27 - 45	10 - 19
2- $\sigma$	15,2 - 20,4	13,8 - 20,2	14 - 56	6 - 26
3- $\sigma$	14,8 - 21,2	13,3 - 22,2	11 - 63	5 - 30

Tabelle 6.2.: Position und Breite der abgetasteten Schwingungsbanden, ermittelt durch Simulation der zerfallsassoziierten Spektren mit vier Lorentzprofilen sowie ExSeAn. Angegeben ist jeweils der Bestwert mit minimalem  $\chi^2$  sowie die 1- bis 3- $\sigma$ -Fehlerbereiche. Alle Angaben in  $\text{cm}^{-1}$ .

lungsprozess lokalisiert am Ring D, an der C<sub>19</sub>=O Streckschwingung im angeregten Zustand, interpretieren. Unterstützt wird dies durch die dichroitischen Verhältnisse  $D$  der  $\tau_1$ -Komponenten, welche dem Verhältnis der C<sub>19</sub>=O Bande im angeregten Zustand entsprechen.

Dieser Zusammenhang ist auch den eigentlichen Absorptionsänderungsspektren zu entnehmen. Abb. 6.8 zeigt Spektren angeregt bei 713, 644 bzw. 400 nm bei verschiedenen Verzögerungszeiten. Gut zu erkennen sind wieder die kleinen Einbrüche hervorgerufen durch Wasserabsorptionen. Die Form aller Spektren ist sehr ähnlich und entspricht denen der  $\tau_2$ -Komponenten. Abb. 6.8 c) zeigt analog zu den  $\tau_1$ -Komponenten ein Sinken des Signals unterhalb von  $1680 \text{ cm}^{-1}$  mit steigender Verzögerungszeit und gleichzeitig ein Ansteigen bei ca.  $1688 \text{ cm}^{-1}$ . Insgesamt führt dies zu einer Blauverschiebung der C<sub>19</sub>=O Bande im angeregten Zustand durch den Kühlungsprozess mit  $\tau_1 = 5,5 \text{ ps}$ . Im Bereich von ca.  $1700$  bis  $1716 \text{ cm}^{-1}$  gibt es in Abb. 6.7 d) und 6.8 c) Anzeichen für einen analogen Prozess am Ring A, der C<sub>1</sub>=O Streckschwingung, man beachte das positive Signal der  $\tau_1$ -Komponenten in diesem Bereich.

Spektrale Verschiebungen oder Veränderungen, die über den Kühlprozess hinaus gehen, wie beispielsweise entstehende Banden, wurden nicht beobachtet. Es gibt infolgedessen keine Anzeichen für einen Energietransfer via Proton-Transfer im untersuchten Bereich von  $1670$  bis  $1740 \text{ cm}^{-1}$  für Agp1-15Za [137][153]. Des Weiteren ist durch die zusätzliche Verbindung zwischen Ring C und D der Chromophor nicht mehr in der Lage eine Photoisomerisation zu zeigen und über diesen Weg Energie zu transferieren. Der Energieüberschuss der sich dadurch, insbesondere bei Anregung mit Pulsen höherer Wellenzahlen bzw. Frequenzen, aufbaut, wird im ersten Schritt über Schwingungen des Chromophors sowie gekoppelter Schwingungen des Proteins umverteilt. Diese Relaxa-



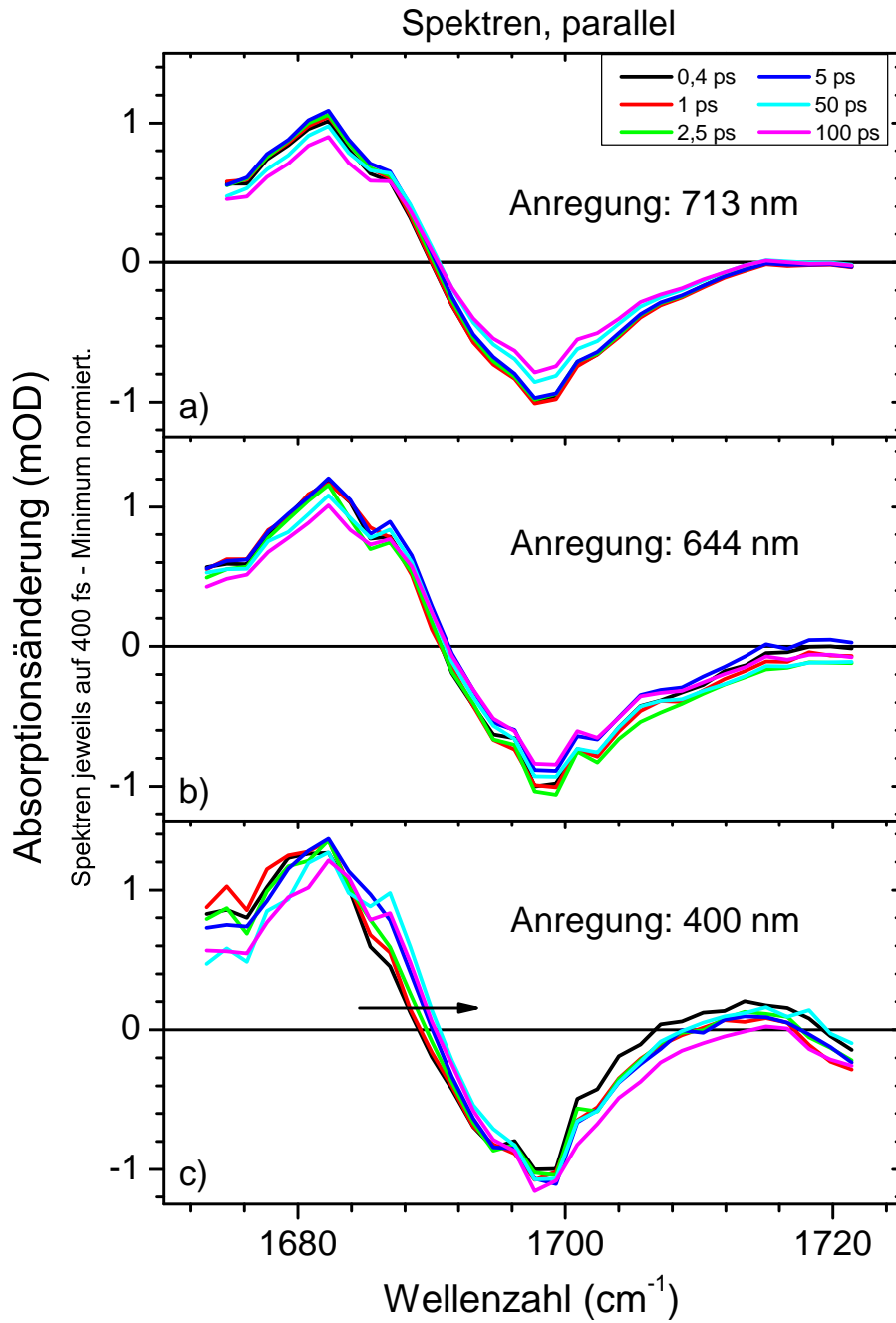


Abbildung 6.8.: a)-c) parallele Spektren von Agp1-15Za, angeregt bei 713, 644 und 400 nm, für verschiedene Verzögerungszeiten zwischen *Pump*- und *Probe*-Puls. Minimum der 400 fs Spektren jeweils auf -1 gesetzt, andere Spektren entsprechend skaliert.

tion verläuft in erster Linie über den angeregten Zustand der Carbonylschwingung am Ring D, übereinstimmend mit [137][153]. Inwieweit die Carbonylschwingung am Ring A an den Relaxationsprozessen beteiligt ist, vor allem im Vergleich zwischen natürlich vorkommenden Agp1 und Agp1-15Za, bleibt eine interessante Fragestellung.

## Relative Winkel

Die Simulation der DAS der  $\tau_2$ -Komponenten ermöglicht das Zerlegen der Spektren in die einzelnen Banden und damit die Berechnung der tatsächlichen dichroitischen Verhältnisse bzw. relativen Winkel ohne Beeinflussung durch benachbarte Banden. Dazu wurden die DAS (Abb. 6.7) mit den in Tab. 6.2 angegebenen Positionen und FWHM der vier Lorentzprofile simuliert. Die ebenfalls mit ExSeAn ermittelten Amplituden ergeben mit den Gleichungen 3.9, 3.10 und 3.16 bis 3.19 die relativen Winkel der angeregten elektronischen Übergangsdipolmomente bezüglich der abgetasteten Übergangsdipolmomente der Streckschwingungen  $C_{19}=O$  bzw.  $C_1=O$  jeweils im elektronisch angeregten Zustand  $S_1$  und dem Grundzustand  $S_0$  (siehe Tab. 6.3). Abhängig von der Anregungswellenlänge

Anregungswellenlänge Schwingung	713 nm $C_{19}=O$	644 nm $C_{19}=O$	400 nm $C_{19}=O$	713 nm $C_1=O$
<b>relativer Winkel (<math>S_1</math>)</b>				
Best	36,3	20,2	67,4	73,3
1- $\sigma$	34,2 - 38,3	15,3 - 24,9	64,8 - 70,2	64,9 - 90
2- $\sigma$	31,9 - 40,4	5,3 - 29,0	62,0 - 73,6	57,8 - 90
3- $\sigma$	30,1 - 42,1	0,0 - 32,1	59,9 - 76,6	52,7 - 90
<b>relativer Winkel (<math>S_0</math>)</b>				
Best	40,3	28,6	63,4	90
1- $\sigma$	38,6 - 42,2	23,7 - 32,2	60,8 - 65,5	70,9 - 90
2- $\sigma$	36,6 - 43,9	18,8 - 36,4	58,2 - 68,5	56,2 - 90
3- $\sigma$	35,1 - 45,4	12,9 - 39,6	56,3 - 70,7	46,8 - 90

Tabelle 6.3.: Vergleich der relativen Winkel zwischen den angeregten elektronischen Übergangsdipolmomenten und den Übergangsdipolmomenten der  $C_{19}=O$  Streckschwingung bei  $1697\text{ cm}^{-1}$  bzw. der  $C_1=O$  Streckschwingung bei  $1724\text{ cm}^{-1}$  (im Zustand  $S_1$  sowie  $S_0$ ). Angegeben ist jeweils der Bestwert mit minimalem  $\chi^2$  sowie die 1- bis 3- $\sigma$ -Fehlerbereiche. Alle Winkelangaben in  $^\circ$ .

bzw. der abgetasteten Schwingungsbande unterscheiden sich die relativen Winkel gravierend. Die 1- $\sigma$ -Fehlerbereiche überlappen nicht bei gleicher Abtast- oder Anregungswellenlänge. Im Vergleich der Ergebnisse im angeregten Zustand bzgl. des Grundzustands zeigt sich eine größere Ähnlichkeit mit meist überlappenden 1- $\sigma$ -Fehlerbereichen, ein weiterer Beleg für die Bandenzuordnung der vorangegangenen Abschnitte.

Große Winkelunterschiede offenbaren strukturelle Unterschiede oder verschiedene elektronische Übergangsdipolmomente. Betrachtet man die Ergebnisse der Anregungswellen-

länge 713 nm, so ergaben sich relative Winkel von  $(40 \pm 2)^\circ$  und  $90^\circ$  (mit Fehlerbereich von  $71^\circ - 90^\circ$ ) zwischen dem elektronischen Übergangsdipolmoment und dem Schwingungsübergangsdipolmomenten der Carbonylschwingungen am Ring D respektive am Ring A. Diese deutliche Abweichung ermöglicht die Überprüfung der Chromophorstruktur im Grundzustand und erfolgt im Abschnitt 6.9. Ein Vergleich der Abtastung der Carbonylschwingungen des Ring D mit einer Anregung im Maximum der Q-Bande bei 713 nm sowie in der Soret-Bande bei 400 nm bestätigt, wie zu erwarten, die unterschiedliche Natur der elektronischen Übergänge mit  $S_0 \rightarrow S_1$  für Absorption innerhalb der Q-Bande und  $S_0 \rightarrow S_x$  mit  $x > 2$  für die Soret-Bande. Interessanterweise ergeben sich aber bei Abtastung der Carbonylschwingungen des Ring D und Anregung im Maximum der Q-Bande bei 713 nm bzw. in der Schulter der Bande bei 644 nm ebenfalls unterschiedliche relative Winkel von  $(40 \pm 2)^\circ$  bzw.  $29^\circ$  (mit Fehlerbereich von  $24^\circ - 32^\circ$ ). Dieser Umstand wird im folgenden Abschnitt weiter untersucht.

## 6.8. Heterogenität der Q-Bande

Mit FS-Pol-PPS lässt sich die Existenz verschiedener elektronischer Übergangsdipolmomente des Agp1-15Za im Maximum der Q-Bande bei 713 nm und in der Schulter bei 644 nm untersuchen. Spillane et al. [129] demonstrierten am Cph1, dass in der Schulter der Q-Bande eine starke vibronische Progression zu erwarten ist, aber auch die Möglichkeiten einer anderen Chromophorstruktur [101][121][127][144] oder gar eines anderen elektronischen Übergangs wären denkbar. Wenn die Schulter ausschließlich durch eine starke vibronische Progression zustande kommen sollte, so wären die dichroitischen Verhältnisse einer abgetasteten Bande bei Anregung im Maximum bzw. in der Schulter identisch, dies liegt daran, dass die Orientierungen der Übergangsdipolmomente der niedrigen Schwingungsniveaus in harmonischer Näherung gleich sind. Die relativen Winkel zwischen dem abgetasteten Schwingungsübergangsdipolmoment und dem elektronischen Übergangsdipolmoment sollten demnach gleich sein. Wie in den Abb. 6.3, 6.5 und 6.7 ersichtlich, ist genau dies nicht der Fall. Die Abb. 6.9 und 6.10 zeigen zum besseren Vergleich die parallelen und senkrechten Signale der  $C_{19}=O$  Streckschwingung im elektronisch angeregten Zustand  $S_1$  bzw. im Grundzustand  $S_0$  bei Anregung mit 713 bzw. 644 nm *Pump*-Pulsen. Die Signale wurden auf gleiche parallele Signalstärke skaliert. Es ist offensichtlich, dass die senkrechten Signale innerhalb der einfachen Streuung der Datenpunkte keinen Überlapp zeigen. Dichroitische Verhältnisse und relative Winkel unterscheiden sich deutlich. Im letzten Abschnitt wurden die zugehörigen relativen Winkel (Tab. 6.3) bestimmt zu  $(36 \pm 2)^\circ$  (713 nm) bzw.  $(20 \pm 5)^\circ$  (644 nm) im elektronisch angeregten Zustand und  $(40 \pm 2)^\circ$  (713 nm) bzw.  $29^\circ$  mit Fehlerbereich von  $24^\circ - 32^\circ$  (644 nm) im Grundzustand.

Demzufolge kann die Schulter nicht alleine durch vibronische Progression eines einzelnen elektronischen Übergangs von  $S_0 \rightarrow S_1$  erklärt werden. Ferner wird ausgeschlossen, dass der elektronische Übergang bei 644 nm der  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergang eines ungebundenen Chromophors bzw. eines Chromophors mit anderer Konformation ist. Dies würde sich in Emissions-, Anregungsspektren bemerkbar machen und wurde nicht beobachtet [153]. Deshalb ist davon auszugehen, dass der elektronische Übergang bei 644 nm den

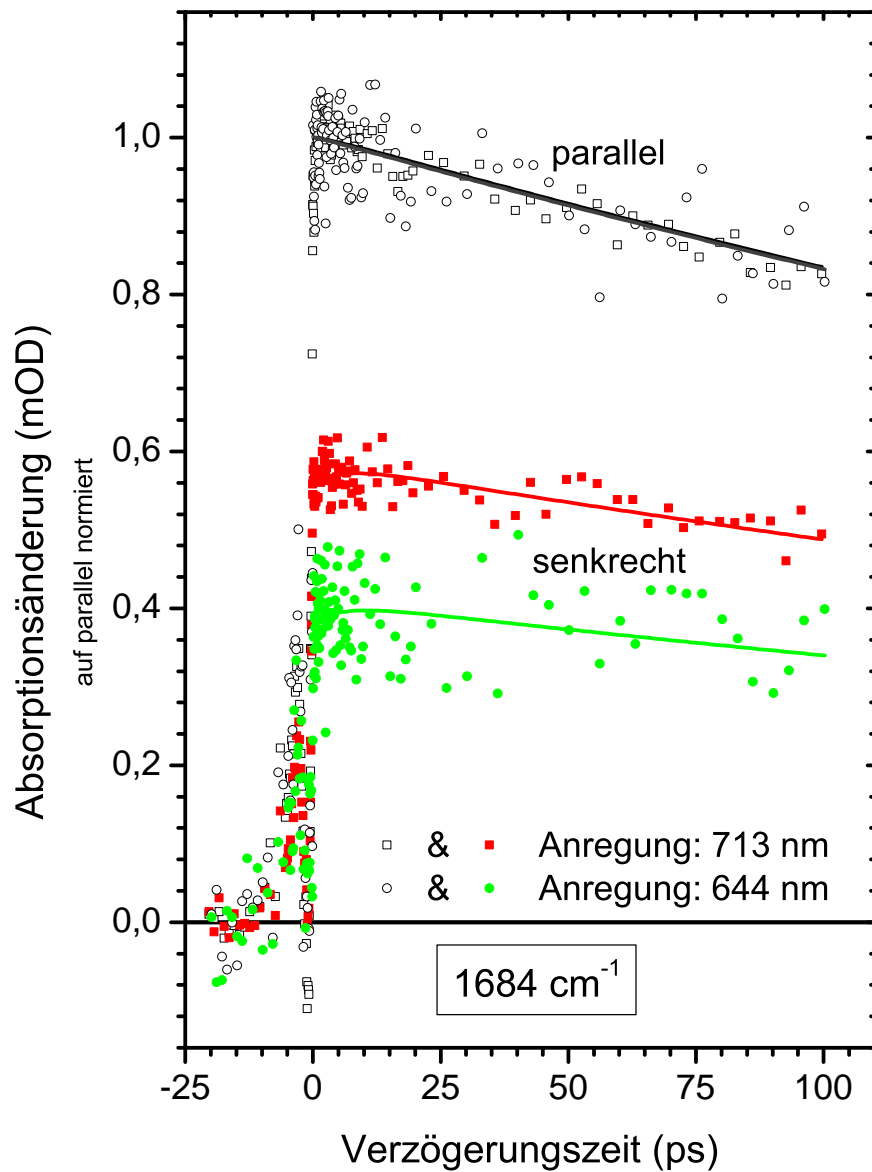


Abbildung 6.9.: Vergleich polarisationsaufgelöster transienter Signale für die Anregung bei 713 nm (Quadrat) bzw. 644 nm (Kreise), parallel (leeres Symbol), senkrecht (volles Symbol). Signale bi-exponentiell simuliert:  $\tau_1 = 5,5$  ps,  $\tau_2 = 540$  ps (durchgezogene Linie) und auf die simulierten parallelen Maxima normiert.

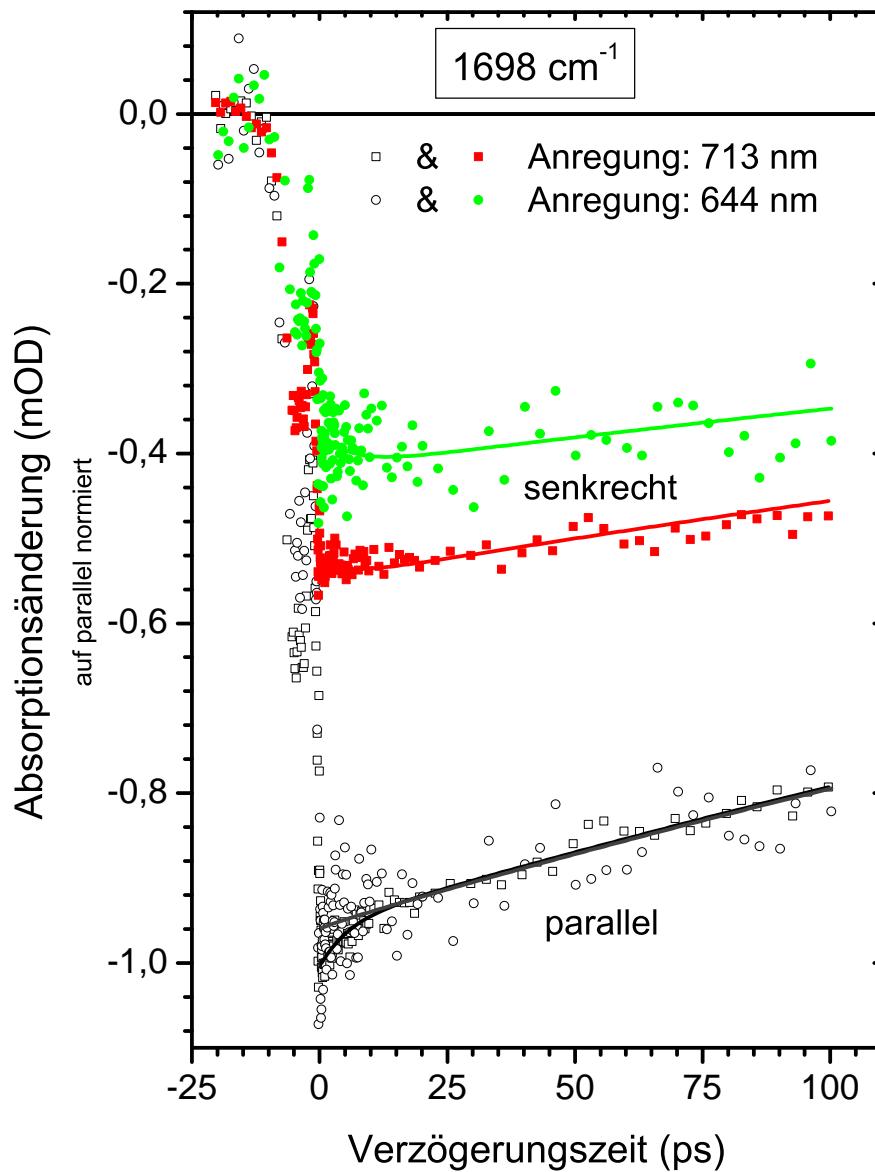


Abbildung 6.10.: Vergleich polarisationsaufgelöster transienter Signale für die Anregung bei 713 nm (Quadrate) bzw. 644 nm (Kreise), parallel (leeres Symbol), senkrecht (volles Symbol). Signale bi-exponentiell simuliert:  $\tau_1 = 5,5$  ps,  $\tau_2 = 540$  ps (durchgezogene Linie) und auf die simulierten parallelen Minima „normiert“.

Übergang  $S_0 \rightarrow S_2$  von Agp1-15Za repräsentiert, der sich in seiner Orientierung vom Übergang  $S_0 \rightarrow S_1$  bei 713 nm unterscheidet.

Es ist denkbar, dass der elektronische Übergang bei 713 nm bis hin zur Schulter der Q-Bande bei 644 nm nichtverschwindende Beiträge hat (z. B. vibronische Progression). Eine alleinige Anregung des  $S_0 \rightarrow S_2$  Übergangs bei 644 nm wäre in diesem Fall nicht möglich, es würden sowohl der Übergang  $S_0 \rightarrow S_2$  als auch  $S_0 \rightarrow S_1$  zu unterschiedlichen Anteilen angeregt werden. Im Folgenden wird anhand der Messergebnisse näherungsweise ermittelt, wie groß der Anteil des  $S_0 \rightarrow S_2$  Übergangs mindestens sein muss bei Anregung der Q-Bande mit 644 nm Pulsen:

Betrachtet man die wahrscheinlichsten relativen Winkel zwischen dem angeregten elektronischen ÜDM und dem ÜDM der  $C_{19}=O$  Streckschwingung bei  $1697 \text{ cm}^{-1}$  im Grundzustand, so ergeben sich die experimentell ermittelten dichroitischen Verhältnisse zu  $D_{@713}^{exp.} = 1,53$  (entspricht  $40^\circ$ ) und  $D_{@644}^{exp.} = 2,07$  (entspricht  $29^\circ$ ) für die Anregungswellenlängen 713 und 644 nm. Geht man davon aus, die Q-Banden bei 713 bzw. 644 nm würden nur durch die Beiträge der Übergänge  $S_0 \rightarrow S_1$  und  $S_0 \rightarrow S_2$  repräsentiert, sowie deren Progressionen, so setzen sich die experimentell ermittelten dichroitischen Verhältnisse  $D_{@713}^{exp.}$  und  $D_{@644}^{exp.}$  näherungsweise zusammen aus

$$D_{@713}^{exp.} = p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@713} \cdot D_{S_0 \rightarrow S_2}^{theo.} + p_{S_0 \rightarrow S_1}^{@713} \cdot D_{S_0 \rightarrow S_1}^{theo.} \quad (6.1)$$

$$D_{@644}^{exp.} = p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@644} \cdot D_{S_0 \rightarrow S_2}^{theo.} + p_{S_0 \rightarrow S_1}^{@644} \cdot D_{S_0 \rightarrow S_1}^{theo.} \quad (6.2)$$

oder anders gesagt überlagern sich die Absorptionsbanden beider Übergänge sowohl bei 713 als auch bei 644 nm zu unterschiedlichen Anteilen. Die dichroitischen Verhältnisse  $D^{theo.}$  symbolisieren die zu den Übergängen gehörenden theoretischen Werte und  $p^{@713}$  bzw.  $p^{@644}$  deren Absorptionsbandenanteile bei 713 bzw. 644 nm. Die theoretisch erwarteten dichroitischen Verhältnisse  $D^{theo.}$  sind nicht bekannt. Es ist aber davon auszugehen, dass der Einfluss des Übergangs  $S_0 \rightarrow S_2$  im Maximum der Q-Bande bei 713 nm verschwindend gering sein wird, d. h. es gilt:

$$p_{S_0 \rightarrow S_1}^{@713} \gg p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@713} \quad (6.3)$$

$$D_{@713}^{exp.} = D_{S_0 \rightarrow S_1}^{theo.} \quad (6.4)$$

Mit  $p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@644} + p_{S_0 \rightarrow S_1}^{@644} = 1$  lässt sich der Signalanteil  $p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@644}$  der Anregung bei 644 nm ermitteln zu:

$$p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@644} = \frac{D_{@644}^{exp.} - D_{@713}^{exp.}}{D_{S_0 \rightarrow S_2}^{theo.} - D_{@713}^{exp.}} \quad (6.5)$$

Variiert man nun das unbekanntes dichroitische Verhältnis  $D_{S_0 \rightarrow S_2}^{theo.}$  innerhalb des Definitionsbereiches von 0,5 bis 3, so ergeben sich nur zulässige Lösungen im Bereich von  $D_{S_0 \rightarrow S_2}^{theo.} = 2,07 - 3$ . Demzufolge hat der Übergang  $S_0 \rightarrow S_2$  bei 644 nm einen Anteil ( $p_{S_0 \rightarrow S_2}^{@644}$ ) von 37 bis 100% und der Restanteil des  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergangs liegt zwischen 0 und 63%. Die Orientierung des elektronischen ÜDM des Übergangs  $S_0 \rightarrow S_2$  sollte demnach einen relativen Winkel von  $0^\circ$  bis  $29^\circ$  gegenüber dem Übergangsdipolmoment

der Streckschwingung des  $C_{19}=O$  im Grundzustand besitzen, da  $D_{S_0 \rightarrow S_2}^{theo.}$  zwischen 2,07 und 3 liegt. Demgegenüber beträgt der Winkel zwischen dem elektronischen ÜDM des Übergangs  $S_0 \rightarrow S_1$  und der Streckschwingung des  $C_{19}=O$  im Grundzustand  $(40 \pm 2)^\circ$ .

## 6.9. Konformation im Grundzustand

FS-Pol-PPS gewährt einen Zugang zu strukturgebundenen Informationen und Aussagen wie 3D-Orientierungen von Übergangsdipolmomenten oder Konformationen von Molekülen, wie in den vorangegangenen Kapiteln 4 und 5 gezeigt wurde. In diesem Abschnitt wird untersucht, ob Agp1-15Za im Grundzustand in der Konformation  $C_4=C_5$  *Z*,  $C_9=C_{10}$  *Z*,  $C_{15}=C_{16}$  *Z*,  $C_5-C_6$  *syn*,  $C_{10}-C_{11}$  *syn*,  $C_{14}-C_{15}$  *anti* (*ZZZssa*) oder *ZZZasa* vorliegt. Zu diesem Zweck wurden DFT-Berechnungen im Grundzustand an Agp1-15Za durchgeführt. Die Atomkoordinaten der Konformation *ZZZssa* bzw. *ZZZasa* sind im Anhang C in den Tab. C1 bzw. C2 enthalten. Die ermittelten und normierten Vektoren der Übergangsdipolmomente der Carbonylstreckschwingungen  $C_{19}=O$  und  $C_1=O$  sind in Tab. C3 für die jeweiligen Konformationen angegeben. Die experimentellen Ergebnisse (Winkel) zur Bestimmung der Konformation stammen aus den Anregungsexperimenten bei 713 nm *Pump*-Wellenlänge (Tab. 6.3), da nur hier die Carbonylschwingungen des Rings A und D aufgelöst werden konnten.

In Abb. 6.11 a) ist die geometrieoptimierte Struktur des Agp1-15Za in der Konformation *ZZZssa* dargestellt. Die vier Pyrrole sind durch rote Bereiche gekennzeichnet (Ring A,B,C,D von links nach rechts) und der Ring, der durch die zusätzliche Kohlenstoffkette entsteht durch den grünen Bereich. Die roten bzw. blauen Doppelvektoren repräsentieren die berechneten Orientierungen der Übergangsdipolmomente der Schwingungen von  $C_1=O$  bzw.  $C_{19}=O$ . Sie sind zur besseren Übersicht ebenfalls als kleine Vektoren direkt an den betreffenden Molekülgruppen angegeben. Abb. 6.11 b) enthält neben der Struktur und den Vektoren die Doppelkegel, die sich durch die experimentell ermittelten relativen Winkel ergeben.

---

### Zur Erinnerung:

Ein relativer Winkel wird durch die Orientierungen des angeregten und abgetasteten Übergangsdipolmoments aufgespannt. Die Lage des abgetasteten Übergangsdipolmoments wurde mit DFT berechnet und ist fixiert, die Lage des angeregten Übergangsdipolmoments ist demnach bis auf eine Rotation um das abgetastete Übergangsdipolmoment durch den relativen Winkel eingeschränkt, wodurch sich ein Kegel als Menge aller möglichen Orientierungen des angeregten Übergangsdipolmoments ergibt.

---

Die beiden blauen (blau, cyan) Doppelkegel stellen die  $1-\sigma$ -Bereichsgrenzen der Orientierung des angeregten elektronischen Übergangsdipolmoments bzgl. der  $C_{19}=O$  Schwingung dar, d. h. die Öffnungswinkel betragen  $38^\circ$  und  $42^\circ$  (siehe Tab. 6.3). Die beiden

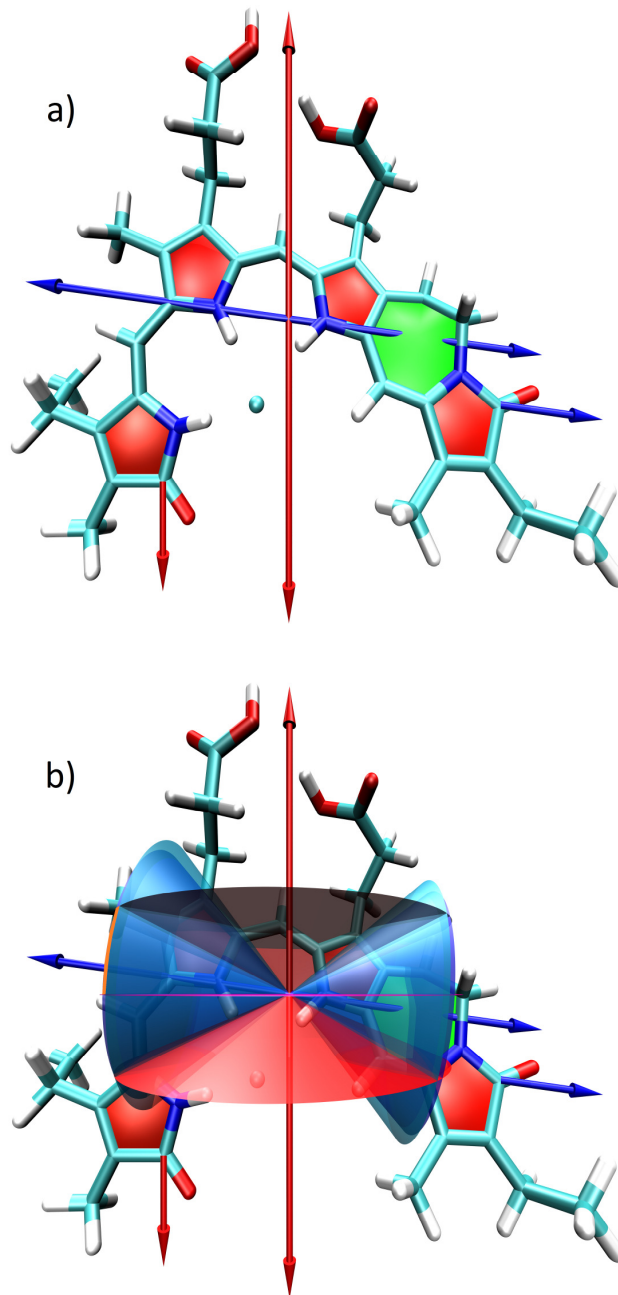


Abbildung 6.11.: Agp1-15Za in *ZZZssa* Konformation. Rote Flächen markieren die Pyrrolringe A-D, die grüne Fläche den zusätzlichen Ring, hervorgerufen durch die „blockierende“ Kohlenstoffkette. Orientierungen der Schwingungsübergangsdipolmomente der  $C_1=O$  bzw.  $C_{19}=O$  Mode durch rote bzw. blaue Pfeile angegeben. b) Rote, rosa bzw. blaue, cyan Kegel repräsentieren die  $1-\sigma$ -Bereichsgrenzen der Orientierung des angeregten elektronischen Übergangsdipolmoments bzgl. der  $C_1=O$  bzw.  $C_{19}=O$  Schwingung. Möglicher Schnittbereich und Lage des elektronischen ÜDM orange markiert.



roten Doppelkegel (rot, rosa) sind analog dazu die 1- $\sigma$ -Bereichsgrenzen bzgl. der C<sub>1</sub>=O Schwingung mit den Öffnungswinkeln von 71° und 90°. Da jeweils das gleiche elektronische Übergangsdipolmoment angeregt wurde, muss es eine gemeinsame Schnittmenge aller Kegel geben, die Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmomentes liegt sowohl zwischen den blauen als auch zwischen den roten Doppelkegeln. Diese Bedingung wird in der Konformation *ZZZssa* für acht Bereiche erfüllt, von denen einer in Abb. 6.11 b) orange kenntlich gemacht ist.<sup>†</sup>

Abb. 6.12 a) zeigt in analoger Farbgestaltung Agp1-15Za in der Konformation *ZZZa-sa* sowie die Orientierungen der Übergangsdipolmomente der Schwingungen C<sub>1</sub>=O und C<sub>19</sub>=O jeweils ohne a) und mit b) Kegel der Öffnungswinkel 38°, 42°, 71° und 90°. Diesmal besitzen die Schwingungsübergangsdipolmomente aufgrund der veränderten Konformation eine ähnliche Richtung mit einem kleineren Winkel zueinander im Vergleich zu Abb. 6.11. Dies führt dazu, dass innerhalb des 1- $\sigma$ -Bereiches keine Schnittmenge existiert (Abb. 6.12 b)). Agp1-15Za in der Konformation *ZZZasa* widerspricht dem Befund, d. h. der Kombination der experimentell ermittelten Winkel mit den theoretischen Berechnungen im Grundzustand, die Konformation *ZZZssa* hingegen nicht und wird somit favorisiert.

## 6.10. Messungen an natürlichem Agp1

Isotrope Absorptionsänderungsspektren des natürlichen Agp1 zu verschiedenen Verzögerungszeiten sind in Abb. 6.13 dargestellt. Sie sind im Vergleich zu den Spektren des Agp1-15Za von ähnlicher Form und weisen im Bereich von 1670 bis 1695 cm<sup>-1</sup> sowie bei ca. 1716 cm<sup>-1</sup> positive Signale auf und zwischen 1695 und 1713 cm<sup>-1</sup> negative Absorptionsänderungen nach Anregung mit 680 nm *Pump*-Licht. Die positiven Signale unterhalb von 1695 cm<sup>-1</sup> sind jedoch stärker ausgeprägt als bei Agp1-15Za und der Nulldurchgang ist um ca. 5 cm<sup>-1</sup> zu höheren Wellenzahlen verschoben.

Das Maximum der positiven Signale liegt bei ca. 1680 cm<sup>-1</sup> und wird hauptsächlich durch C<sub>19</sub>=O Streckschwingungen im elektronisch angeregten Zustand hervorgerufen. Die Lage der entsprechenden Agp1-15Za-Bande wurde bei ca. 1683 cm<sup>-1</sup> lokalisiert (siehe Tab. 6.2). C<sub>19</sub>=O Streckschwingungen im Grundzustand zeigen ein Minimum bei ca. 1702 cm<sup>-1</sup> für frühe Verzögerungszeiten und 1697 cm<sup>-1</sup> bei späten Verzögerungszeiten. Ein Vergleich mit Agp1-15Za zeigt eine Lage der entsprechenden Bande bei ca. 1697 cm<sup>-1</sup>. Die positiven Signale bei ca. 1716 cm<sup>-1</sup> werden C<sub>1</sub>=O Streckschwingungen im elektronisch angeregten Zustand zugeordnet.

Eine globale Simulation der Transienten ergab für ein bi- sowie ein tri-exponentielles Modell gute Resultate, deren  $\chi^2$  sich nicht signifikant unterschieden. Die Zeitkonstanten beider Modelle betragen  $\tau_1 = (1,0 \pm 0,4)$  ps und  $\tau_2 = (20 \pm 3)$  ps bzw.  $\tau_1 = (1,0 \pm 0,6)$  ps,  $\tau_2 = (9 \pm 3)$  ps und  $\tau_3 = (40 \pm 10)$  ps. Das tri-exponentielle Modell passt gut zu den Ergebnissen von Schuhmann et al. [123], repräsentiert die Daten aber nicht besser

<sup>†</sup>Aufgrund des großen Fehlerbereichs bzgl. der C<sub>1</sub>=O Schwingung grenzen jeweils zwei Bereiche unmittelbar aneinander, d. h. es gibt vier „größere“ Bereiche, zwei je Kegel und damit zwei „größere“ Bereiche, in denen die Orientierung des elektronischen Übergangsdipolmoments erwartet wird.

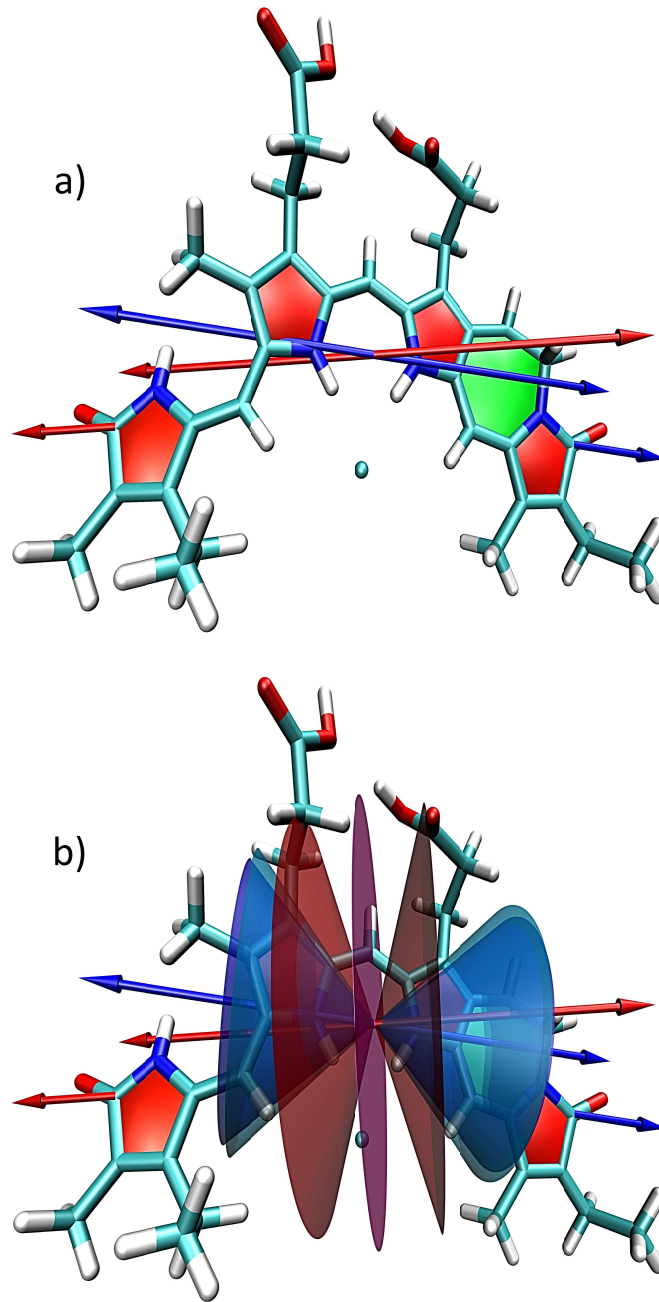


Abbildung 6.12.: Agp1-15Za in *ZZZasa* Konformation. Rote Flächen markieren die Pyrrolringe A-D, die grüne Fläche den zusätzlichen Ring, hervorgerufen durch die „blockierende“ Kohlenstoffkette. Orientierungen der Schwingungsübergangsdipolmomente der  $C_1=O$  bzw.  $C_{19}=O$  Mode durch rote bzw. blaue Pfeile angegeben. b) Rote, rosa bzw. blaue, cyan Kegel repräsentieren die  $1-\sigma$ -Bereichsgrenzen der Orientierung des angeregten elektronischen Übergangsdipolmoments bzgl. der  $C_1=O$  bzw.  $C_{19}=O$  Schwingung. Kein Schnittbereich existent.

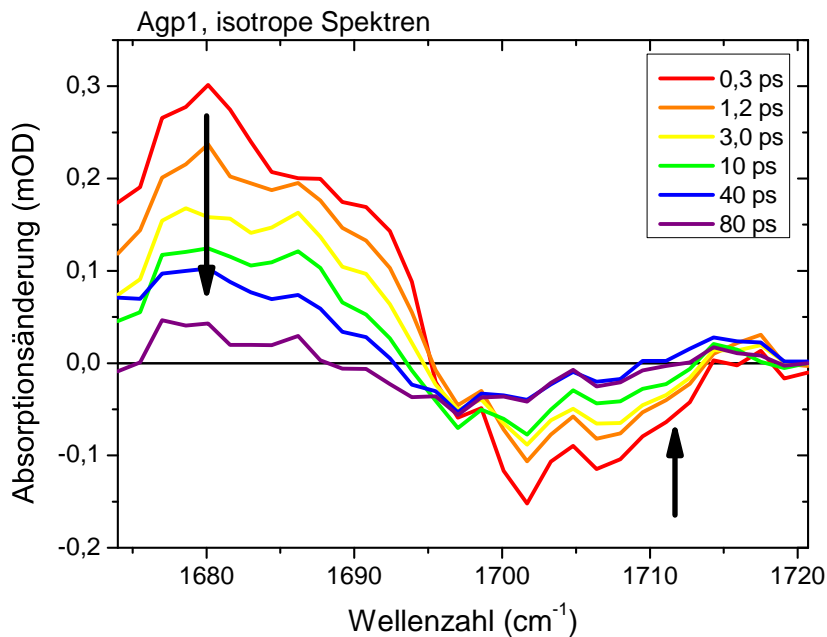


Abbildung 6.13.: Isotrope Absorptionsänderungsspektren des natürlichen Agp1 für verschiedene Verzögerungszeiten. Anregung erfolgte bei 680 nm.

als das bi-exponentielle Modell und wird deswegen nicht weiter in Betracht gezogen. Die polarisationsaufgelösten Transienten im Maximum bei  $1680\text{ cm}^{-1}$  und Minimum bei  $1702\text{ cm}^{-1}$  sind in Abb. 6.14 a) bzw. b) enthalten. Die durchgezogenen Linien zeigen die bi-exponentielle Simulation der Daten des positiven Zeitbereichs.

In Abb. 6.15 a) sind die zerfallsassoziierten Spektren, hervorgegangen aus der globalen Simulation der Transienten, des natürlichen Agp1 dargestellt. Simulationen der Spektren mit Lorentz-Profilen (oder anderen; nicht gezeigt) ergaben keine eindeutigen Ergebnisse. Es ist nicht klar, ob neben den Absorptionen des Wasserdampfes noch weitere Banden Teil der Spektren sind. Die positiven und negativen Signale sind breit genug, um mehrere Signale beherbergen zu können. Ein Anzeichen dafür ist das veränderte dichroitische Verhältnis  $D$  zwischen  $1690$  und  $1695\text{ cm}^{-1}$ .

Abb. 6.15 b) zeigt die berechneten relativen Winkel zugehörig zu den spektralen Positionen<sup>‡</sup>. Zwischen  $1674$  und  $1685\text{ cm}^{-1}$  liegt der Winkel bei ca.  $35^\circ$ , zwischen  $1685$  und  $1694\text{ cm}^{-1}$  bei ca.  $49^\circ$  und im Bereich von  $1700$  bis  $1713\text{ cm}^{-1}$  bei ca.  $20^\circ$ . Die Bleichbande der  $\text{C}_{19}=\text{O}$  Schwingung zeigt mit einem einzelnen Winkel bei ca.  $20^\circ$  keine Anzeichen einer Heterogenität. Messungen an Cph1 ergaben für die entsprechende Bande übereinstimmend einen Winkel von  $(17 \pm 7)^\circ$  [151], bei Agp1-15Za betrug er jedoch  $(40 \pm 2)^\circ$ . Die Absorptionsänderungen im angeregten Zustand hingegen deuten auf

<sup>‡</sup>Bei fehlenden Winkelangaben z. B. zwischen  $1695$  und  $1700\text{ cm}^{-1}$  lag das dichroitische Verhältnis  $D$  außerhalb des Definitionsbereiches von  $0,5$  bis  $3$ .

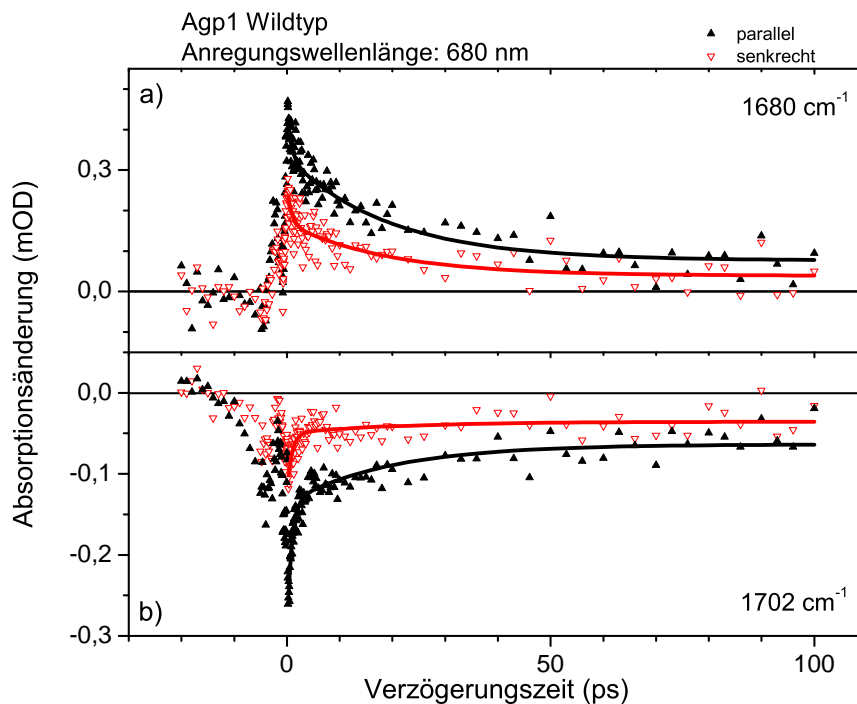


Abbildung 6.14.: Polarisationsaufgelöste Transienten des natürlichen Agp1 mit parallelen (schwarze volle Dreiecke) und senkrechten Signalanteilen (rote leere Dreiecke). Daten bi-exponentiell simuliert (durchgezogene Linien) mit  $\tau_1 = 1,0$  ps und  $\tau_2 = 20$  ps. Agp1-Anregung bei 680 nm. Abtastung bei a)  $1680\text{ cm}^{-1}$  und b)  $1702\text{ cm}^{-1}$ .

das Vorhandensein von zwei unterschiedlichen Schwingungsübergängen. Der Winkel der  $C_{19}=O$  Schwingung im elektronisch angeregten Zustand mit ca.  $35^\circ$  entspricht ebenfalls den Ergebnissen von Untersuchungen an Cph1 mit  $(32 \pm 3)^\circ$  [151] und der Winkel des sterisch gelockten Chromophors wurde ebenfalls in Übereinstimmung zu  $(36 \pm 2)^\circ$  bestimmt. Die Herkunft der Schwingungsbande mit dem Winkel um  $49^\circ$  ist nicht bekannt und sie wurde weder bei Cph1 noch bei Agp1-15Za beobachtet. Es könnte sich um Beiträge hochfrequenter Amid I Banden handeln.

Die Übereinstimmung der relativen Winkel zwischen dem elektronischen ÜDM und dem ÜDM der  $C_{19}=O$  Streckschwingung sowohl im Grundzustand als auch im elektronisch angeregten Zustand bei natürlichem Agp1 sowie Cph1 lässt eine ähnliche Konformation der Chromophore BV und PCB in P<sub>r</sub>-Form vermuten. Die Abweichung des entsprechenden relativen Winkels im Grundzustand des sterisch gelockten Agp1-15Za um ca.  $20^\circ$  gegenüber natürlichem Agp1 oder Cph1 resultiert vermutlich aus einer veränderten Wechselwirkung zwischen dem Chromophor und der umgebenden Proteintasche, die zu einer anderen Ausrichtung des Rings D und damit der Orientierung(en) der ÜDM führt. Die zusätzliche Kette zwischen den Ringen C und D könnte sich beispielsweise auf das Netzwerk der Wasserstoffbrückenbindungen auswirken und die Bindungsstärke beeinflussen.

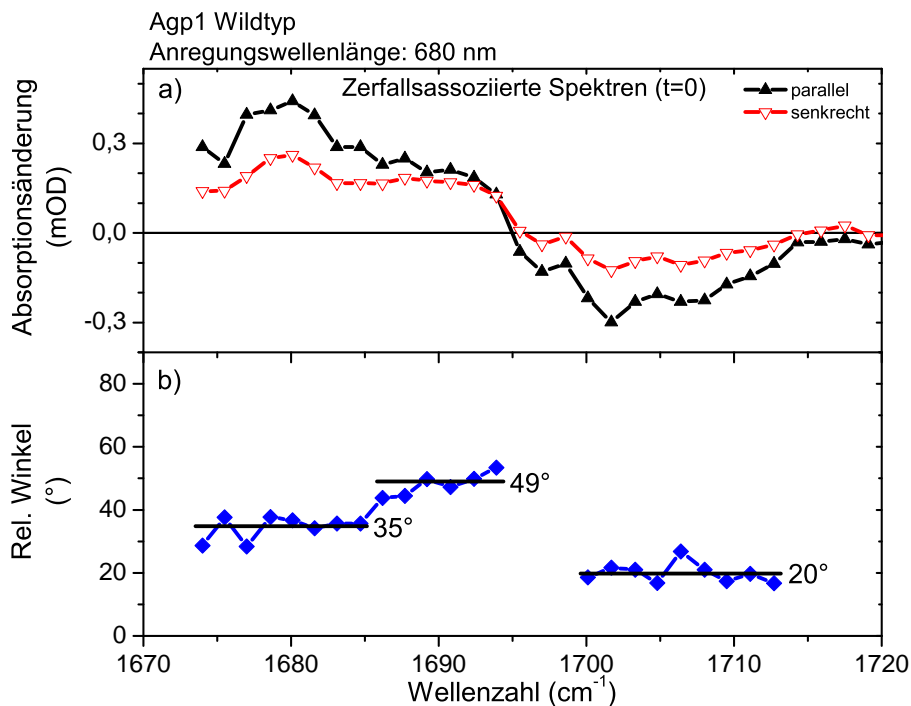


Abbildung 6.15.: a) Zerfallsassozierte Spektren (DAS) des natürlichen Agp1, parallel (schwarze volle Dreiecke) und senkrecht (rote leere Dreiecke). Anregung bei 680 nm. b) Relative Winkel direkt berechnet aus den DAS mit drei ausgewiesenen Plateaus.

## 6.11. Zusammenfassung und Ausblick

Die Methode der Femtosekunden polarisationsaufgelösten UV/Vis *Pump* – IR *Probe* Spektroskopie wurde auf Agp1-15Za und Agp1 angewendet und dabei die Proben in den drei Absorptionsbanden des sichtbaren Spektralbereichs bei 713, 644 und 400 nm sowie bei 680 nm angeregt.

Die zeitaufgelöste Abtastung der nahinfraroten Schwingungsbanden des Agp1-15Za ermöglichte die Beobachtung einer bi-exponentiellen Dynamik mit  $\tau_1 = 5,5$  ps (mit Fehlerbereich von 4 bis 8 ps) und  $\tau_2 = (540 \pm 30)$  ps. Der Beitrag der kurzen Zeitkonstante am Spektrum wuchs mit steigender Photonenenergie der *Pump*-Pulse und hatte sein Maximum bei Anregung mit Licht der Wellenlänge 400 nm. Die kurze Zeitkonstante lässt sich als Kühlungsprozess interpretieren und liegt in der Größenordnung der in [137] und [140] ermittelten Relaxationszeitkonstanten natürlicher Chromophore. Eine Photoisomerisation des Agp1-15Za findet nicht statt und so erfolgt die Umverteilung der Anregungsenergie über den Ring D, analog zu den Analysen in [137][153]. Die spektrale Lage sowie das dichroitische Verhältnis  $D$  der Signalbeiträge zugehörig zur kurzen Zeitkonstante belegen einen Relaxationsprozess im elektronisch angeregten Zustand d.h. heißer Schwingungszustände der Carbonylschwingung am Ring D. Ein entsprechender Prozess am Ring A ist wegen der geringen Signalstärke zu vernachlässigen. Die lange

Zeitkonstante stellt die Fluoreszenzlebensdauer des Agp1-15Za dar.

Die Winkelaufgelöste Abtastung der Carbonylstreckschwingungen am Ring A und D erlaubte die Bestätigung der Konformation *ZZZssa* für die P<sub>r</sub>-Form des untersuchten Phytochroms Agp1-15Za. Eine Struktur der Konformation *ZZZasa* hingegen widerspricht den ermittelten Ergebnissen. Somit wurden, mit einer optischer Spektroskopiemethode, die neueren Ergebnisse [27][42][57][146][148] dieser Fragestellung bekräftigt.

Die Anregung des Agp1-15Za bei verschiedenen Wellenlängen erlaubte die Untersuchung des Ursprungs der Schulter in der Q-Bande. Obwohl an dieser spektralen Position das Maximum der Q-Bande Beiträge haben kann, wurde dennoch ein Anteil eines anderen elektronischen Übergangs, S<sub>0</sub> → S<sub>2</sub>, von mindestens 37 % ermittelt. Das Übergangsdipolmoment dieses Übergangs hat einen relativen Winkel kleiner als 29° bzgl. des Übergangsdipolmoments der C<sub>19</sub>=O Schwingung im Grundzustand, wohingegen das Übergangsdipolmoment von S<sub>0</sub> → S<sub>1</sub> einen relativen Winkel von ca. (40 ± 2)° besitzt und für S<sub>0</sub> → S<sub>x</sub> mit x>2 ergab sich (63 ± 3)° (siehe auch Tab. 6.3).

Diese Heterogenität der Q-Banden hat zur Folge, dass eine Anregung der hochenergetischen Flanke zugehörig zum S<sub>0</sub> → S<sub>1</sub> Übergang zu einer zusätzlichen Anregung des S<sub>0</sub> → S<sub>2</sub> Übergangs führt und somit weitere Photoreaktionswege sowie Dynamiken initiiert werden. Untersuchungen an Cph1 [50] ermittelten beispielsweise unterschiedliche Dynamiken bei Anregung des Chromophors in der Schulter und im Maximum der Q-Bande. Dieses Verhalten geht auf die Anregung weiterer Übergänge zurück, weiterführende Experimente mit Anregung in der Flanke der Q-Bande sollten dieser Problematik Beachtung schenken. Dieser Aspekt muss auch bei der Interpretation der hier vorgestellten Ergebnisse zu natürlichem Agp1 beachtet werden sowie beispielsweise in den Untersuchungen [101] und [123].

Messungen an Agp1 ergaben eine bi-exponentielle Photoreaktion auf einer Pikosekundenzeitskala mit den Zeitkonstanten  $\tau_1 = (1,1 \pm 0,4)$  ps und  $\tau_2 = (20 \pm 3)$  ps. Eine tri-exponentielle Simulation mit der in [123] vorgestellten Dynamik war von ähnlicher Qualität. Anhand der globalen Anpassung der Transienten mit dem bi-exponentiellen Modell ließen sich die polarisationsaufgelösten zerfallsassoziierten Spektren erzeugen und die relativen Winkel der Banden analysieren. Die C<sub>19</sub>=O Schwingung im elektronisch angeregten Zustand besitzen einen Winkel von ca. 35° zum angeregten elektronischen ÜDM übereinstimmend mit Agp1-15Za und Cph1-PCB. Der entsprechende Winkel bzgl. der C<sub>19</sub>=O Schwingung im Grundzustand beträgt für Agp1 ca. 20° übereinstimmend mit Cph1-PCB, bei Agp1-15Za ergab sich jedoch der Wert (40 ± 2)°. Des Weiteren wurden ein positives Signal mit einem Winkel von ca. 49° bei Agp1 beobachtet.

Die identischen relativen Winkel der Carbonylstreckschwingung am Ring D bzgl. der elektronischen ÜDM bei den natürlichen Phytochromen Agp1 und Cph1 lassen eine ähnliche Orientierung des Rings D in der jeweiligen Proteintasche bzw. ähnliche Protein-Chromophor-Wechselwirkungen vermuten. Der sterisch blockierte Chromophor des Agp1-15Za zeigt mit einer Winkelabweichung von ca. 20° im Grundzustand der Carbonylstreckschwingung des Rings D andere oder veränderte Wechselwirkungen aufzuweisen. Die Wechselwirkungsmechanismen werden durch die geometrische Blockierung des Chromophors eingeschränkt, umgekehrt bedeutet dies aber auch, dass die Protein-Chromophor-Wechselwirkung selbst die Ausrichtung des Rings D bestimmt. Welcher Art

diese Wechselwirkungen sind und zwischen welchen Molekülgruppen des Proteins und des Chromophors diese Wechselwirkungen bestehen, bleibt in zukünftigen Experimenten zu bestimmen.





---

## 7. Zusammenfassung

---

In dieser Studie wurde eine gemischt experimentell–theoretische Vorgehensweise vorgestellt, mit der die Grundzustände sowie elektronisch angeregte und Produktzustände und deren Dynamiken von infrarotaktiven Molekülen analysiert werden können. Dies ermöglicht beispielsweise Änderungen der Molekülstruktur oder deren Orientierung zeitaufgelöst auf einer Femto- bis Pikosekundenzeitskala zu ermitteln.

Die experimentelle Methodik beruht auf einer optischen Spektroskopie, der ultraschnellen und polarisationsaufgelösten Infrarotspektroskopie (FS-Pol-PPS). Sie operiert analog zur üblichen Infrarot- oder Ramanspektroskopie mit Proben gelöster Moleküle. Die detektierten Signale sind in jeder der Methoden Mittelwerte des untersuchten Ensembles, jedoch ist der Informationsgehalt der FS-Pol-PPS höher. Durch das parallele Abfragen ausgewählter Schwingungsbanden mit horizontal sowie vertikal polarisierten Abtastpulsen lässt sich im Gegensatz zur Infrarotspektroskopie die mittlere momentane relative Lage des untersuchten Schwingungsübergangsdipolmomentes bestimmen.

Diese Dipolmomente sind mit der Molekülstruktur assoziiert. Durch unterstützende Berechnungen der untersuchten Moleküle mit Dichtefunktionaltheorie im Grundzustand erlangt man Zugriff auf eine Reihe strukturbezogener Informationen. Solche Erkenntnisse ließen sich in der Vergangenheit zwar mit strukturabbildenden Methoden wie beispielsweise Röntgenbeugung oder Kernspinresonanzspektroskopie untersuchen, allerdings ist dies nicht in nativer Umgebung von biologischen Molekülen möglich im Gegensatz zur FS-Pol-PPS.

Die Kombination beider Aspekte, des experimentellen und theoretischen, gewährt ein tieferes Verständnis der untersuchten Moleküle, im Besonderen bei der Analyse der biologisch bedeutsamen Antennenpigmenten und Photorezeptoren. Von diesen wurden in der vorliegenden Arbeit die Ergebnisse zum Chlorophyll *a* (Chl *a*) sowie zu verschiedenen Chromophoren (nativ und sterisch blockierte) eines *Agrobacterium*-Phytochroms (Agp1) vorgestellt sowie das Potenzial der FS-Pol-PPS mit Coumarin 314 (C314) weiter charakterisiert.

Bei Chl *a* gelang durch die Kombination erstmals die dreidimensionale (3D) Bestimmung der Orientierung des  $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes. Es wurde gezeigt, dass diese Lage sowohl von der Y-Achse als auch leicht von der Chlorinebene abweicht. Die Bedeutung dieses Übergangsdipolmomentes (ÜDM) liegt in seiner Funktion bei der Photosynthese und die genaue Kenntnis der Orientierung stellt einen wichtigen Eingangsparameter für theoretische Analysen dar. Sowohl Berechnungen der Absorptionsspektren, als auch von exzitonischen Kopplungen und Energietransferprozessen sind von ihm abhängig. Es lassen sich zudem Störungen, hervorgerufen durch Protein-Kofaktor-

Wechselwirkungen, untersuchen.

Die Vorgehensweise der 3D Bestimmung der Orientierung des elektronischen ÜDM ist sehr robust. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei Verwendung unterschiedlicher Schwingungs-ÜDM sowie die Genauigkeit beim Vorliegen einer isomeren Mischung der untersuchten Moleküle wurde mit C314 demonstriert. Ferner ließ sich die strukturelle Heterogenität des gelösten C314 nachweisen und das Mischungsverhältnis übereinstimmend mit theoretischen Vorhersagen ermitteln.

Der Nachweis der vorhandenen strukturellen Heterogenität erfolgte direkt aus den polarisationsaufgelösten Signalen der abgetasteten Moleküle. So besitzen die Isomere des C314 aufgrund einer veränderten Konformation eine unterschiedliche Orientierung des ÜDM einer bestimmten Carbonylstreckschwingung, die sich in veränderten Signalanteilen widerspiegelt. Durch die Abtastung geeigneter Schwingungen ist es demnach möglich verschiedene Konformationen zu unterscheiden.

Dieser Umstand wurde bei Agp1 genutzt und die Konformation des sterisch blockierten Chromophors in P<sub>r</sub>-Form im Grundzustand als *ZZZssa* Geometrie bestimmt. Neben der Ermittlung geometrischer Informationen ist auch die Untersuchung elektronischer Übergänge, ihrer Absorptionsbanden, ihrer Zuordnung und die Bestimmung der Mischungsverhältnisse sich überlagernder Absorptionsbanden durchführbar. So konnte bei Agp1 mit sterisch blockiertem Chromophor eine Heterogenität der Q-Banden bestimmt werden. Das Hauptmaximum der Q-Bande wird repräsentiert durch den Übergang S<sub>0</sub> → S<sub>1</sub>, wohingegen die Bande der hochenergetischen Flanke aus einer Mischung zweier unterschiedlicher elektronischer Übergänge (dem S<sub>0</sub> → S<sub>1</sub> und dem S<sub>0</sub> → S<sub>2</sub> Übergang) hervorgerufen wird. Diese Tatsache sollte bei der Wahl der Anregungswellenlänge sowie der Interpretation der Ergebnisse zu Untersuchungen dieser Moleküle beachtet werden und kann direkt als Grund für abweichende Phytochromdynamiken bei variierender Anregungswellenlänge herangezogen werden.

Des Weiteren bieten polarisationsaufgelöste Signale die Möglichkeit Aussagen über Dynamiken zu treffen. Abhängig von der Art, der zu Grunde liegenden Prozesse, unterscheiden sich die Signalanteile bzw. deren Orientierung. Eine Unterscheidung und Zuordnung verschiedener Prozesse wird dadurch zugänglich. Die bei allen Molekülen ermittelte bi-exponentielle Dynamik\* ließ sich somit hinsichtlich ihrer Prozesse trennen in Zeitkonstanten der Orientierungsrelaxation, beobachtet bei Chl *a* und C314, Zeitkonstanten der jeweiligen Fluoreszenzlebensdauern und Zeitkonstanten hervorgerufen durch Kühlungsprozesse bestimmt bei Agp1. Letztere konnten zurückgeführt werden auf Relaxationsprozesse im angeregten Zustand der Moleküle, die lokal begrenzt am Ring D der Chromophore in Erscheinung treten und über den der primäre Energieüberschuss nach der Anregung der Moleküle unverteilt wird.

Die hier vorliegende Arbeit und die weiteren Arbeiten, die im Rahmen meiner Dissertation entstanden, zeigen deutlich, dass mit der von mir entwickelten Methode strukturelle Informationen über Moleküle und Proteine gewonnen werden können, die essentiell für das Verständnis der funktionellen Dynamik dieser Moleküle sind.

---

\*Der untersuchte Zeitbereich erstreckte sich bis maximal 1,2 ns. Die Zeitauflösung war zu keiner Zeit schlechter als 400 fs.

---

# A. Anhang A

---

Tabelle A1:

Optimierte Atom-Koordinaten für Chl *a*, bestimmt mit *Gaussian 03*[36] B3LYP sowie 6-31G\* und entnommen aus der log-Datei.

Atom	X	Y	Z
C	0,729675765	0,332520958	-1,854756438
C	0,964035072	-0,609986002	-0,769736700
C	2,293207584	-0,448049008	-0,294329566
C	3,039030867	0,550073661	-0,964818984
C	2,070843603	1,202627313	-1,953412338
C	0,375445164	-1,620565497	-0,017742887
C	1,406872681	-2,036845961	0,911240615
N	2,567871759	-1,292990540	0,704003301
C	4,365886006	0,838068142	-0,702895560
N	5,079891332	0,170857125	0,268167172
C	6,369179391	0,594127641	0,286089033
C	6,643689619	1,601842272	-0,825992940
C	5,235912928	1,855965395	-1,430267697
C	7,362099212	0,189343918	1,171216022
C	7,291359093	-0,761505899	2,209718401
C	8,381184404	-1,116117628	3,101146427
C	7,895058775	-2,096500214	3,945881109
C	6,503008032	-2,322149173	3,565581458
N	6,181617539	-1,493146965	2,511013279
C	8,563816318	-2,784485863	5,045278975
C	9,875108899	-3,048806159	5,153372337
C	9,737292404	-0,479246013	3,102762020
Mg	4,375449208	-1,377540766	1,591642468
N	3,608272103	-2,870774762	2,813406331
C	4,293533969	-3,510099358	3,805821029
C	3,444772592	-4,496038754	4,446244467
C	2,224492183	-4,436599594	3,808772381
C	2,340750152	-3,411234510	2,786783106

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Atom	X	Y	Z
C	5,637411143	-3,243858899	4,145136422
C	7,658673953	1,069366468	-1,852339509
C	4,742917860	3,310425980	-1,285160014
C	5,568946952	4,287270599	-2,129266148
C	4,929348337	5,666353959	-2,206303048
O	3,902454372	5,955932499	-1,639417488
C	3,857556470	-5,383874481	5,583013727
C	1,326043615	-3,025738709	1,897000803
C	0,982358268	-5,227945536	4,111830706
C	0,005563630	-4,496644269	5,053451416
C	-1,014006958	-2,165602524	-0,134875619
C	2,519877161	1,299234417	-3,398124398
O	3,394299510	0,637516696	-3,923027613
O	-0,242676438	0,494651814	-2,564595022
O	1,785711876	2,224047129	-4,042728924
C	2,010323968	2,340483340	-5,455043413
O	5,542860726	6,624037027	-2,955759349
C	6,764899806	6,382675171	-3,687542887
C	6,529255004	5,631546186	-4,968888994
C	7,323388339	4,709651169	-5,538311250
C	6,947936134	4,090475908	-6,871259179
C	8,641653727	4,251016595	-4,958935941
C	6,564903324	2,596144730	-6,801778333
C	6,291083811	2,012235824	-8,196683870
C	5,870982914	0,524416879	-8,252732684
C	6,963248546	-0,409093667	-7,688839085
C	4,497611209	0,284668463	-7,603092466
C	6,763498699	-1,896854178	-8,015503870
C	7,922822336	-2,776440711	-7,524874166
C	7,818382199	-4,272010717	-7,893121774
C	9,149136904	-4,989174341	-7,581047403
C	6,625033992	-4,949075109	-7,199532142
C	9,250985074	-6,435445839	-8,087881413
C	10,639323002	-7,051281847	-7,859238580
C	10,835487406	-8,465432368	-8,441747114
C	12,306506916	-8,894255880	-8,329818356
C	9,921064671	-9,508986830	-7,781695329
H	8,327863224	0,665498788	1,032596327
H	6,045848960	-3,843904181	4,951933650
H	5,233307237	1,603074519	-2,498175907
H	0,377874858	-3,548354292	1,984502238

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
H	7,048267962	2,522678992	-0,384446869
H	7,914764344	-3,118286478	5,854551721
H	1,774149340	2,211149605	-1,638488359
H	7,294261991	0,144631589	-2,313671257
H	7,821398100	1,803447351	-2,650390907
H	8,626584229	0,855193961	-1,386513598
H	3,031099612	2,677764598	-5,656072194
H	1,288800707	3,079655069	-5,803588927
H	1,847648405	1,379871318	-5,949548387
H	9,687252760	0,569982670	2,792832579
H	10,435101789	-0,985395098	2,420994560
H	10,181428260	-0,512713147	4,102951485
H	3,698523226	3,389631480	-1,598176915
H	4,764316020	3,614399611	-0,231602287
H	5,689816267	3,905841041	-3,151325685
H	6,587659231	4,387386074	-1,730658383
H	-1,576909433	-2,041313258	0,799157359
H	-1,556033171	-1,648840601	-0,930819123
H	-1,008029074	-3,238274131	-0,366936808
H	7,506150994	5,902942447	-3,041673127
H	7,124386282	7,396270279	-3,898082369
H	4,034308324	-4,811771303	6,503636210
H	3,089406418	-6,129953784	5,807362897
H	4,785043566	-5,925504592	5,358656706
H	1,260309797	-6,188605383	4,561981294
H	0,463015998	-5,477609651	3,177715647
H	-0,887058185	-5,105096478	5,239729258
H	0,479234724	-4,281508484	6,017551688
H	-0,315662993	-3,541707728	4,623347823
H	10,269235334	-3,558716731	6,027658355
H	10,589597088	-2,795612419	4,376682761
H	5,619450025	5,933271691	-5,488106905
H	8,700348740	3,156776436	-4,919167137
H	9,471485887	4,582708107	-5,598351892
H	8,833037995	4,633915797	-3,953429119
H	6,114663129	4,650636145	-7,313648536
H	7,796418700	4,198525125	-7,564805542
H	7,371117645	2,028953812	-6,320792702
H	5,682633861	2,482980539	-6,158347334
H	5,507990039	2,612333000	-8,683518713
H	7,195439939	2,141629458	-8,809780093

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
H	5,769106396	0,286450353	-9,323371948
H	4,135167968	-0,730031231	-7,799514154
H	4,519942845	0,416223673	-6,515054269
H	3,751324644	0,978473217	-8,010994878
H	7,938818363	-0,090249530	-8,086798219
H	7,024094600	-0,289764378	-6,597465614
H	5,821283555	-2,243071409	-7,575060388
H	6,657145259	-2,015979761	-9,104583310
H	8,860448699	-2,379239958	-7,941320513
H	8,014411899	-2,682753987	-6,431621046
H	7,658460176	-4,334150538	-8,982074145
H	6,522419044	-5,997227118	-7,499174044
H	6,746155437	-4,924341741	-6,108113766
H	5,679657982	-4,451460656	-7,439588199
H	9,969923713	-4,406590057	-8,024831720
H	9,320429613	-4,971277374	-6,493414428
H	8,489438021	-7,054242132	-7,598898385
H	9,020221786	-6,456717157	-9,164056646
H	11,395085788	-6,385484228	-8,301594013
H	10,854854121	-7,077192284	-6,779574942
H	10,579600029	-8,421747924	-9,512163737
H	12,469271314	-9,882084499	-8,777328757
H	12,970509245	-8,182884013	-8,835557892
H	12,619064004	-8,951206630	-7,278725550
H	10,088968967	-10,504082165	-8,210784710
H	10,120123095	-9,575388148	-6,703603852
H	8,860164602	-9,269826642	-7,910998450

Tabelle A2:

Dipolmomentvektoren der abgetasteten Schwingungen des Chl *a*, bestimmt mit *Gaussian 03*[36] B3LYP/6-31G\*. Sie wurden aus der log-Datei entnommen und nachträglich normiert.

Mode	# log-Datei	X	Y	Z
$\vec{\mu}_{cc}^*$	251	0,4329	-0,4923	0,7551
$\vec{\mu}_{co}^{a*}$	331	0,8915	-0,3982	0,2158
$\vec{\mu}_{co}^{b*}$	332	0,5885	-0,0661	0,8058

**Tabelle A3:**

Festlegung eines neuen Koordinatensystems für die Atom-Koordinaten von Chl *a* (Tab. A1) sowie der Dipolmomente der Schwingungsmoden (Tab. A2). Die Definition erfolgt über die Verbindungsvektoren der Stickstoffatome im Chl *a* bzw. dem Vektorprodukt, die Vektoren sind normiert.

Bestimmung	Achse	X	Y	Z
N9⇒N23	X-Achse	-0,3479	-0,7190	0,6017
N18⇒N7	Y-Achse	-0,8933	0,0495	-0,4467
$\vec{x} \times \vec{y}$	Z-Achse	0,2914	-0,6929	-0,6596

**Tabelle A4:**

**Berechnete Drehmatrizen zur Koordinatentransformation der Chl *a*-Analyse.**

Beispiel:  $\vec{\mu}_{cc} = D_x \cdot D_y \cdot D_z \cdot \vec{\mu}_{cc}^*$ .

$$D_z = \begin{pmatrix} -0,43553 & -0,90018 & 0 \\ 0,90018 & -0,43553 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

$$D_y = \begin{pmatrix} 0,79875 & 0 & 0,60167 \\ 0 & 1 & 0 \\ -0,60167 & 0 & 0,79875 \end{pmatrix}$$

$$D_x = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & -0,82569 & -0,56412 \\ 0 & 0,56412 & -0,82569 \end{pmatrix}$$

**Tabelle A5:**

Normierte Dipolmomentvektoren der abgetasteten Schwingungen des Chl *a* aus Tab. A2 bezüglich des Koordinatensystems definiert in Tab. A3.

Mode	# log-Datei	X	Y	Z
$\vec{\mu}_{cc}$	251	0,66	-0,75	-0,03
$\vec{\mu}_{co}^a$	331	0,11	-0,91	0,39
$\vec{\mu}_{co}^b$	332	0,33	-0,89	-0,31

Tabelle A6:

Winkelbereiche  $\theta_{min} - \theta_{max}$  in Abhängigkeit des Vertrauensbereiches VB für die relativen Winkel zwischen dem  $Q_y$ -Übergangsdipolmoment von Chl  $a$  und den Übergangsdipolmomenten der Schwingungsmoden  $\nu_{cc}$ ,  $\nu_{co}^a$  und  $\nu_{co}^b$ , alle Winkelangaben in  $^\circ$ .

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,990	35,231	60,326	29,842	36,712	26,287	65,844
0,989	35,285	60,233	29,859	36,695	26,362	65,682
0,988	35,339	60,139	29,875	36,677	26,437	65,519
0,987	35,392	60,045	29,892	36,659	26,512	65,356
0,986	35,446	59,951	29,909	36,641	26,587	65,193
0,985	35,500	59,857	29,926	36,624	26,662	65,031
0,984	35,554	59,763	29,942	36,606	26,737	64,868
0,983	35,607	59,669	29,959	36,588	26,811	64,705
0,982	35,661	59,576	29,976	36,570	26,886	64,543
0,981	35,715	59,482	29,993	36,553	26,961	64,380
0,980	35,768	59,388	30,009	36,535	27,036	64,217
0,979	35,822	59,294	30,026	36,517	27,111	64,054
0,978	35,876	59,200	30,043	36,499	27,186	63,892
0,977	35,930	59,106	30,060	36,482	27,260	63,729
0,976	35,983	59,012	30,076	36,464	27,335	63,566
0,975	36,037	58,919	30,093	36,446	27,410	63,403
0,974	36,091	58,825	30,110	36,428	27,485	63,241
0,973	36,144	58,731	30,127	36,411	27,560	63,078
0,972	36,198	58,637	30,143	36,393	27,635	62,915
0,971	36,252	58,543	30,160	36,375	27,710	62,752
0,970	36,306	58,449	30,177	36,358	27,784	62,590
0,969	36,359	58,355	30,194	36,340	27,859	62,427
0,968	36,413	58,262	30,210	36,322	27,934	62,264
0,967	36,467	58,168	30,227	36,304	28,009	62,101
0,966	36,520	58,074	30,244	36,287	28,084	61,939
0,965	36,574	57,980	30,261	36,269	28,159	61,776
0,964	36,628	57,886	30,277	36,251	28,233	61,613
0,963	36,682	57,792	30,294	36,233	28,308	61,451
0,962	36,735	57,698	30,311	36,216	28,383	61,288
0,961	36,789	57,605	30,328	36,198	28,458	61,125
0,960	36,843	57,511	30,344	36,180	28,533	60,962
0,959	36,896	57,417	30,361	36,162	28,608	60,800
0,958	36,950	57,323	30,378	36,145	28,682	60,637
0,957	37,004	57,229	30,395	36,127	28,757	60,474

Fortsetzung auf der nächsten Seite



VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,956	37,057	57,135	30,411	36,109	28,832	60,311
0,955	37,111	57,041	30,428	36,091	28,907	60,149
0,954	37,165	56,948	30,445	36,074	28,982	59,986
0,953	37,219	56,854	30,462	36,056	29,057	59,823
0,952	37,272	56,760	30,478	36,038	29,132	59,660
0,951	37,326	56,666	30,495	36,020	29,206	59,498
0,950	37,380	56,572	30,512	36,003	29,281	59,335
0,949	37,403	56,536	30,519	35,995	29,314	59,275
0,948	37,427	56,499	30,527	35,987	29,347	59,215
0,947	37,451	56,462	30,534	35,979	29,380	59,155
0,946	37,474	56,426	30,542	35,971	29,413	59,096
0,945	37,498	56,389	30,549	35,964	29,446	59,036
0,944	37,522	56,352	30,556	35,956	29,479	58,976
0,943	37,545	56,316	30,564	35,948	29,512	58,916
0,942	37,569	56,279	30,571	35,940	29,546	58,856
0,941	37,592	56,243	30,579	35,932	29,579	58,797
0,940	37,616	56,206	30,586	35,925	29,612	58,737
0,939	37,640	56,169	30,594	35,917	29,645	58,677
0,938	37,663	56,133	30,601	35,909	29,678	58,617
0,937	37,687	56,096	30,609	35,901	29,711	58,557
0,936	37,711	56,059	30,616	35,894	29,744	58,497
0,935	37,734	56,023	30,623	35,886	29,777	58,438
0,934	37,758	55,986	30,631	35,878	29,810	58,378
0,933	37,782	55,950	30,638	35,870	29,843	58,318
0,932	37,805	55,913	30,646	35,862	29,876	58,258
0,931	37,829	55,876	30,653	35,855	29,909	58,198
0,930	37,852	55,840	30,661	35,847	29,942	58,139
0,929	37,876	55,803	30,668	35,839	29,975	58,079
0,928	37,900	55,766	30,675	35,831	30,008	58,019
0,927	37,923	55,730	30,683	35,823	30,041	57,959
0,926	37,947	55,693	30,690	35,816	30,074	57,899
0,925	37,971	55,657	30,698	35,808	30,107	57,839
0,924	37,994	55,620	30,705	35,800	30,140	57,780
0,923	38,018	55,583	30,713	35,792	30,173	57,720
0,922	38,042	55,547	30,720	35,784	30,206	57,660
0,921	38,065	55,510	30,727	35,777	30,239	57,600
0,920	38,089	55,473	30,735	35,769	30,272	57,540
0,919	38,112	55,437	30,742	35,761	30,305	57,481
0,918	38,136	55,400	30,750	35,753	30,338	57,421
0,917	38,160	55,364	30,757	35,745	30,371	57,361

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,916	38,183	55,327	30,765	35,738	30,404	57,301
0,915	38,207	55,290	30,772	35,730	30,437	57,241
0,914	38,231	55,254	30,779	35,722	30,470	57,181
0,913	38,254	55,217	30,787	35,714	30,503	57,122
0,912	38,278	55,180	30,794	35,706	30,536	57,062
0,911	38,302	55,144	30,802	35,699	30,569	57,002
0,910	38,325	55,107	30,809	35,691	30,603	56,942
0,909	38,349	55,071	30,817	35,683	30,636	56,882
0,908	38,372	55,034	30,824	35,675	30,669	56,822
0,907	38,396	54,997	30,831	35,667	30,702	56,763
0,906	38,420	54,961	30,839	35,660	30,735	56,703
0,905	38,443	54,924	30,846	35,652	30,768	56,643
0,904	38,467	54,887	30,854	35,644	30,801	56,583
0,903	38,491	54,851	30,861	35,636	30,834	56,523
0,902	38,514	54,814	30,869	35,628	30,867	56,464
0,901	38,538	54,778	30,876	35,621	30,900	56,404
0,900	38,562	54,741	30,884	35,613	30,933	56,344
0,899	38,578	54,717	30,889	35,607	30,957	56,304
0,898	38,594	54,694	30,894	35,602	30,981	56,265
0,897	38,610	54,670	30,900	35,596	31,005	56,225
0,896	38,626	54,647	30,905	35,591	31,029	56,185
0,895	38,642	54,623	30,910	35,585	31,053	56,146
0,894	38,659	54,600	30,916	35,579	31,077	56,106
0,893	38,675	54,576	30,921	35,574	31,101	56,066
0,892	38,691	54,553	30,926	35,568	31,125	56,027
0,891	38,707	54,529	30,932	35,563	31,149	55,987
0,890	38,723	54,506	30,937	35,557	31,173	55,947
0,889	38,740	54,482	30,942	35,552	31,197	55,908
0,888	38,756	54,459	30,948	35,546	31,221	55,868
0,887	38,772	54,435	30,953	35,540	31,245	55,828
0,886	38,788	54,412	30,958	35,535	31,269	55,789
0,885	38,804	54,388	30,964	35,529	31,293	55,749
0,884	38,820	54,365	30,969	35,524	31,317	55,710
0,883	38,837	54,341	30,974	35,518	31,341	55,670
0,882	38,853	54,318	30,980	35,513	31,365	55,630
0,881	38,869	54,294	30,985	35,507	31,389	55,591
0,880	38,885	54,271	30,990	35,501	31,413	55,551
0,879	38,901	54,247	30,996	35,496	31,437	55,511
0,878	38,917	54,224	31,001	35,490	31,461	55,472
0,877	38,934	54,200	31,006	35,485	31,485	55,432

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,876	38,950	54,177	31,012	35,479	31,509	55,392
0,875	38,966	54,153	31,017	35,474	31,533	55,353
0,874	38,982	54,130	31,022	35,468	31,557	55,313
0,873	38,998	54,106	31,028	35,463	31,581	55,273
0,872	39,015	54,083	31,033	35,457	31,605	55,234
0,871	39,031	54,059	31,038	35,451	31,629	55,194
0,870	39,047	54,036	31,044	35,446	31,653	55,154
0,869	39,063	54,012	31,049	35,440	31,677	55,115
0,868	39,079	53,989	31,054	35,435	31,701	55,075
0,867	39,095	53,965	31,060	35,429	31,725	55,035
0,866	39,112	53,942	31,065	35,424	31,749	54,996
0,865	39,128	53,918	31,070	35,418	31,773	54,956
0,864	39,144	53,895	31,076	35,412	31,797	54,917
0,863	39,160	53,871	31,081	35,407	31,821	54,877
0,862	39,176	53,848	31,086	35,401	31,845	54,837
0,861	39,193	53,824	31,092	35,396	31,869	54,798
0,860	39,209	53,801	31,097	35,390	31,893	54,758
0,859	39,225	53,777	31,102	35,385	31,917	54,718
0,858	39,241	53,754	31,108	35,379	31,941	54,679
0,857	39,257	53,730	31,113	35,373	31,965	54,639
0,856	39,273	53,707	31,118	35,368	31,989	54,599
0,855	39,290	53,683	31,124	35,362	32,013	54,560
0,854	39,306	53,660	31,129	35,357	32,037	54,520
0,853	39,322	53,636	31,134	35,351	32,061	54,480
0,852	39,338	53,613	31,140	35,346	32,085	54,441
0,851	39,354	53,589	31,145	35,340	32,109	54,401
0,850	39,371	53,566	31,151	35,334	32,133	54,361
0,849	39,383	53,549	31,155	35,330	32,152	54,332
0,848	39,394	53,533	31,159	35,326	32,171	54,303
0,847	39,406	53,516	31,163	35,321	32,190	54,273
0,846	39,418	53,499	31,167	35,317	32,209	54,244
0,845	39,430	53,483	31,171	35,313	32,228	54,214
0,844	39,442	53,466	31,176	35,308	32,247	54,185
0,843	39,454	53,450	31,180	35,304	32,266	54,155
0,842	39,466	53,433	31,184	35,300	32,285	54,126
0,841	39,478	53,416	31,188	35,295	32,304	54,097
0,840	39,490	53,400	31,192	35,291	32,323	54,067
0,839	39,502	53,383	31,197	35,287	32,341	54,038
0,838	39,514	53,367	31,201	35,282	32,360	54,008
0,837	39,526	53,350	31,205	35,278	32,379	53,979

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,836	39,538	53,333	31,209	35,274	32,398	53,950
0,835	39,550	53,317	31,213	35,269	32,417	53,920
0,834	39,562	53,300	31,218	35,265	32,436	53,891
0,833	39,574	53,284	31,222	35,261	32,455	53,861
0,832	39,586	53,267	31,226	35,256	32,474	53,832
0,831	39,598	53,250	31,230	35,252	32,493	53,802
0,830	39,609	53,234	31,234	35,247	32,512	53,773
0,829	39,621	53,217	31,239	35,243	32,531	53,744
0,828	39,633	53,200	31,243	35,239	32,550	53,714
0,827	39,645	53,184	31,247	35,234	32,569	53,685
0,826	39,657	53,167	31,251	35,230	32,588	53,655
0,825	39,669	53,151	31,255	35,226	32,607	53,626
0,824	39,681	53,134	31,259	35,221	32,626	53,596
0,823	39,693	53,117	31,264	35,217	32,645	53,567
0,822	39,705	53,101	31,268	35,213	32,664	53,538
0,821	39,717	53,084	31,272	35,208	32,683	53,508
0,820	39,729	53,068	31,276	35,204	32,702	53,479
0,819	39,741	53,051	31,280	35,200	32,721	53,449
0,818	39,753	53,034	31,285	35,195	32,740	53,420
0,817	39,765	53,018	31,289	35,191	32,759	53,390
0,816	39,777	53,001	31,293	35,187	32,778	53,361
0,815	39,789	52,984	31,297	35,182	32,797	53,332
0,814	39,801	52,968	31,301	35,178	32,816	53,302
0,813	39,813	52,951	31,306	35,174	32,835	53,273
0,812	39,825	52,935	31,310	35,169	32,854	53,243
0,811	39,836	52,918	31,314	35,165	32,873	53,214
0,810	39,848	52,901	31,318	35,161	32,892	53,184
0,809	39,860	52,885	31,322	35,156	32,911	53,155
0,808	39,872	52,868	31,326	35,152	32,930	53,126
0,807	39,884	52,852	31,331	35,147	32,949	53,096
0,806	39,896	52,835	31,335	35,143	32,968	53,067
0,805	39,908	52,818	31,339	35,139	32,986	53,037
0,804	39,920	52,802	31,343	35,134	33,005	53,008
0,803	39,932	52,785	31,347	35,130	33,024	52,979
0,802	39,944	52,768	31,352	35,126	33,043	52,949
0,801	39,956	52,752	31,356	35,121	33,062	52,920
0,800	39,968	52,735	31,360	35,117	33,081	52,890
0,799	39,980	52,718	31,364	35,113	33,100	52,863
0,798	39,993	52,702	31,368	35,109	33,118	52,837
0,797	40,005	52,685	31,372	35,105	33,136	52,810

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,796	40,018	52,668	31,376	35,100	33,154	52,783
0,795	40,030	52,651	31,380	35,096	33,172	52,756
0,794	40,043	52,635	31,384	35,092	33,191	52,729
0,793	40,055	52,618	31,388	35,088	33,209	52,702
0,792	40,068	52,601	31,392	35,084	33,227	52,676
0,791	40,080	52,584	31,396	35,080	33,245	52,649
0,790	40,093	52,567	31,400	35,076	33,263	52,622
0,789	40,106	52,551	31,404	35,071	33,282	52,595
0,788	40,118	52,534	31,408	35,067	33,300	52,568
0,787	40,131	52,517	31,412	35,063	33,318	52,542
0,786	40,143	52,500	31,416	35,059	33,336	52,515
0,785	40,156	52,484	31,420	35,055	33,354	52,488
0,784	40,168	52,467	31,424	35,051	33,373	52,461
0,783	40,181	52,450	31,428	35,047	33,391	52,434
0,782	40,193	52,433	31,432	35,042	33,409	52,407
0,781	40,206	52,416	31,436	35,038	33,427	52,381
0,780	40,218	52,400	31,440	35,034	33,445	52,354
0,779	40,231	52,383	31,444	35,030	33,464	52,327
0,778	40,243	52,366	31,448	35,026	33,482	52,300
0,777	40,256	52,349	31,452	35,022	33,500	52,273
0,776	40,268	52,333	31,456	35,017	33,518	52,246
0,775	40,281	52,316	31,460	35,013	33,536	52,220
0,774	40,293	52,299	31,464	35,009	33,555	52,193
0,773	40,306	52,282	31,468	35,005	33,573	52,166
0,772	40,318	52,265	31,472	35,001	33,591	52,139
0,771	40,331	52,249	31,476	34,997	33,609	52,112
0,770	40,343	52,232	31,480	34,993	33,628	52,085
0,769	40,356	52,215	31,484	34,988	33,646	52,059
0,768	40,368	52,198	31,488	34,984	33,664	52,032
0,767	40,381	52,182	31,492	34,980	33,682	52,005
0,766	40,393	52,165	31,496	34,976	33,700	51,978
0,765	40,406	52,148	31,500	34,972	33,719	51,951
0,764	40,418	52,131	31,504	34,968	33,737	51,925
0,763	40,431	52,114	31,508	34,964	33,755	51,898
0,762	40,443	52,098	31,512	34,959	33,773	51,871
0,761	40,456	52,081	31,516	34,955	33,791	51,844
0,760	40,468	52,064	31,521	34,951	33,810	51,817
0,759	40,481	52,047	31,525	34,947	33,828	51,790
0,758	40,493	52,031	31,529	34,943	33,846	51,764
0,757	40,506	52,014	31,533	34,939	33,864	51,737

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,756	40,518	51,997	31,537	34,935	33,882	51,710
0,755	40,531	51,980	31,541	34,930	33,901	51,683
0,754	40,543	51,963	31,545	34,926	33,919	51,656
0,753	40,556	51,947	31,549	34,922	33,937	51,629
0,752	40,568	51,930	31,553	34,918	33,955	51,603
0,751	40,581	51,913	31,557	34,914	33,973	51,576
0,750	40,593	51,896	31,561	34,910	33,992	51,549
0,749	40,606	51,880	31,564	34,907	34,005	51,530
0,748	40,619	51,863	31,566	34,904	34,018	51,511
0,747	40,632	51,846	31,569	34,901	34,032	51,492
0,746	40,645	51,829	31,572	34,898	34,045	51,473
0,745	40,658	51,812	31,575	34,894	34,059	51,453
0,744	40,671	51,796	31,578	34,891	34,072	51,434
0,743	40,684	51,779	31,581	34,888	34,085	51,415
0,742	40,696	51,762	31,584	34,885	34,099	51,396
0,741	40,709	51,745	31,587	34,882	34,112	51,377
0,740	40,722	51,728	31,590	34,879	34,126	51,358
0,739	40,735	51,712	31,593	34,876	34,139	51,339
0,738	40,748	51,695	31,596	34,873	34,152	51,320
0,737	40,761	51,678	31,599	34,870	34,166	51,301
0,736	40,774	51,661	31,602	34,867	34,179	51,281
0,735	40,787	51,644	31,605	34,864	34,193	51,262
0,734	40,799	51,628	31,608	34,861	34,206	51,243
0,733	40,812	51,611	31,610	34,858	34,220	51,224
0,732	40,825	51,594	31,613	34,855	34,233	51,205
0,731	40,838	51,577	31,616	34,852	34,246	51,186
0,730	40,851	51,560	31,619	34,849	34,260	51,167
0,729	40,864	51,544	31,622	34,846	34,273	51,148
0,728	40,877	51,527	31,625	34,843	34,287	51,129
0,727	40,890	51,510	31,628	34,840	34,300	51,109
0,726	40,902	51,493	31,631	34,837	34,313	51,090
0,725	40,915	51,476	31,634	34,834	34,327	51,071
0,724	40,924	51,465	31,639	34,829	34,348	51,041
0,723	40,933	51,453	31,643	34,824	34,370	51,011
0,722	40,942	51,442	31,648	34,820	34,391	50,981
0,721	40,951	51,430	31,652	34,815	34,413	50,952
0,720	40,960	51,419	31,657	34,810	34,434	50,922
0,719	40,969	51,407	31,662	34,805	34,456	50,892
0,718	40,978	51,396	31,666	34,801	34,477	50,862
0,717	40,987	51,385	31,671	34,796	34,499	50,832

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,716	40,996	51,373	31,676	34,791	34,520	50,802
0,715	41,005	51,362	31,680	34,786	34,542	50,772
0,714	41,014	51,350	31,685	34,782	34,563	50,742
0,713	41,023	51,339	31,690	34,777	34,584	50,712
0,712	41,032	51,327	31,694	34,772	34,606	50,682
0,711	41,040	51,316	31,699	34,767	34,627	50,652
0,710	41,049	51,304	31,703	34,763	34,649	50,622
0,709	41,058	51,293	31,708	34,758	34,670	50,592
0,708	41,067	51,281	31,713	34,753	34,692	50,562
0,707	41,076	51,270	31,717	34,748	34,713	50,532
0,706	41,085	51,258	31,722	34,743	34,735	50,503
0,705	41,094	51,247	31,727	34,739	34,756	50,473
0,704	41,103	51,235	31,731	34,734	34,778	50,443
0,703	41,112	51,224	31,736	34,729	34,799	50,413
0,702	41,121	51,212	31,740	34,724	34,821	50,383
0,701	41,130	51,201	31,745	34,720	34,842	50,353
0,700	41,139	51,189	31,750	34,715	34,864	50,323
0,699	41,153	51,171	31,753	34,711	34,879	50,302
0,698	41,167	51,153	31,756	34,708	34,894	50,281
0,697	41,182	51,135	31,760	34,705	34,910	50,260
0,696	41,196	51,117	31,763	34,701	34,925	50,239
0,695	41,210	51,099	31,766	34,698	34,941	50,218
0,694	41,224	51,081	31,770	34,694	34,956	50,197
0,693	41,239	51,063	31,773	34,691	34,972	50,176
0,692	41,253	51,045	31,776	34,688	34,987	50,155
0,691	41,267	51,027	31,780	34,684	35,002	50,134
0,690	41,281	51,009	31,783	34,681	35,018	50,113
0,689	41,296	50,991	31,786	34,677	35,033	50,092
0,688	41,310	50,973	31,790	34,674	35,049	50,071
0,687	41,324	50,955	31,793	34,671	35,064	50,050
0,686	41,338	50,937	31,796	34,667	35,080	50,029
0,685	41,353	50,919	31,800	34,664	35,095	50,008
0,684	41,367	50,901	31,803	34,660	35,111	49,987
0,683	41,381	50,883	31,806	34,657	35,126	49,966
0,682	41,395	50,865	31,809	34,653	35,141	49,945
0,681	41,410	50,847	31,813	34,650	35,157	49,924
0,680	41,424	50,829	31,816	34,647	35,172	49,903
0,679	41,438	50,811	31,819	34,643	35,188	49,882
0,678	41,452	50,793	31,823	34,640	35,203	49,861
0,677	41,467	50,775	31,826	34,636	35,219	49,840

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,676	41,481	50,757	31,829	34,633	35,234	49,819
0,675	41,495	50,739	31,833	34,630	35,249	49,798
0,674	41,506	50,726	31,836	34,626	35,266	49,776
0,673	41,516	50,713	31,840	34,622	35,282	49,754
0,672	41,526	50,700	31,843	34,619	35,298	49,733
0,671	41,536	50,688	31,847	34,615	35,314	49,711
0,670	41,547	50,675	31,850	34,611	35,330	49,690
0,669	41,557	50,662	31,854	34,608	35,346	49,668
0,668	41,567	50,649	31,857	34,604	35,363	49,646
0,667	41,578	50,637	31,861	34,601	35,379	49,625
0,666	41,588	50,624	31,865	34,597	35,395	49,603
0,665	41,598	50,611	31,868	34,593	35,411	49,582
0,664	41,608	50,598	31,872	34,590	35,427	49,560
0,663	41,619	50,585	31,875	34,586	35,443	49,538
0,662	41,629	50,573	31,879	34,582	35,460	49,517
0,661	41,639	50,560	31,882	34,579	35,476	49,495
0,660	41,650	50,547	31,886	34,575	35,492	49,474
0,659	41,660	50,534	31,889	34,572	35,508	49,452
0,658	41,670	50,522	31,893	34,568	35,524	49,430
0,657	41,680	50,509	31,896	34,564	35,541	49,409
0,656	41,691	50,496	31,900	34,561	35,557	49,387
0,655	41,701	50,483	31,903	34,557	35,573	49,366
0,654	41,711	50,470	31,907	34,553	35,589	49,344
0,653	41,722	50,458	31,910	34,550	35,605	49,323
0,652	41,732	50,445	31,914	34,546	35,621	49,301
0,651	41,742	50,432	31,918	34,543	35,638	49,279
0,650	41,752	50,419	31,921	34,539	35,654	49,258
0,649	41,766	50,403	31,927	34,533	35,681	49,223
0,648	41,779	50,386	31,933	34,527	35,708	49,187
0,647	41,793	50,370	31,938	34,521	35,735	49,152
0,646	41,806	50,353	31,944	34,515	35,762	49,117
0,645	41,820	50,337	31,950	34,509	35,789	49,082
0,644	41,833	50,320	31,956	34,504	35,816	49,047
0,643	41,847	50,304	31,961	34,498	35,843	49,012
0,642	41,860	50,287	31,967	34,492	35,870	48,977
0,641	41,874	50,271	31,973	34,486	35,897	48,941
0,640	41,887	50,254	31,979	34,480	35,924	48,906
0,639	41,901	50,238	31,984	34,474	35,951	48,871
0,638	41,914	50,221	31,990	34,468	35,978	48,836
0,637	41,928	50,205	31,996	34,462	36,005	48,801

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*



VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,636	41,941	50,188	32,002	34,456	36,032	48,766
0,635	41,955	50,172	32,007	34,450	36,059	48,731
0,634	41,968	50,155	32,013	34,445	36,086	48,695
0,633	41,982	50,139	32,019	34,439	36,113	48,660
0,632	41,995	50,122	32,025	34,433	36,140	48,625
0,631	42,009	50,106	32,031	34,427	36,167	48,590
0,630	42,022	50,089	32,036	34,421	36,194	48,555
0,629	42,036	50,073	32,042	34,415	36,221	48,520
0,628	42,049	50,057	32,048	34,409	36,248	48,485
0,627	42,063	50,040	32,054	34,403	36,275	48,449
0,626	42,076	50,024	32,059	34,397	36,302	48,414
0,625	42,090	50,007	32,065	34,392	36,329	48,379
0,624	42,103	49,991	32,069	34,387	36,350	48,353
0,623	42,117	49,975	32,074	34,383	36,370	48,328
0,622	42,130	49,959	32,078	34,378	36,390	48,302
0,621	42,144	49,942	32,082	34,374	36,411	48,276
0,620	42,157	49,926	32,087	34,369	36,431	48,250
0,619	42,171	49,910	32,091	34,365	36,451	48,225
0,618	42,184	49,894	32,096	34,360	36,472	48,199
0,617	42,198	49,878	32,100	34,356	36,492	48,173
0,616	42,211	49,861	32,104	34,352	36,513	48,147
0,615	42,224	49,845	32,109	34,347	36,533	48,121
0,614	42,238	49,829	32,113	34,343	36,553	48,096
0,613	42,251	49,813	32,117	34,338	36,574	48,070
0,612	42,265	49,797	32,122	34,334	36,594	48,044
0,611	42,278	49,781	32,126	34,329	36,615	48,018
0,610	42,292	49,764	32,130	34,325	36,635	47,993
0,609	42,305	49,748	32,135	34,321	36,655	47,967
0,608	42,319	49,732	32,139	34,316	36,676	47,941
0,607	42,332	49,716	32,143	34,312	36,696	47,915
0,606	42,346	49,700	32,148	34,307	36,716	47,889
0,605	42,359	49,683	32,152	34,303	36,737	47,864
0,604	42,373	49,667	32,156	34,298	36,757	47,838
0,603	42,386	49,651	32,161	34,294	36,778	47,812
0,602	42,400	49,635	32,165	34,289	36,798	47,786
0,601	42,413	49,619	32,169	34,285	36,818	47,761
0,600	42,427	49,603	32,174	34,281	36,839	47,735
0,599	42,436	49,591	32,176	34,278	36,850	47,721
0,598	42,445	49,580	32,178	34,276	36,861	47,707
0,597	42,455	49,569	32,181	34,274	36,872	47,693

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,596	42,464	49,558	32,183	34,271	36,883	47,679
0,595	42,474	49,547	32,185	34,269	36,895	47,665
0,594	42,483	49,536	32,188	34,267	36,906	47,652
0,593	42,492	49,525	32,190	34,264	36,917	47,638
0,592	42,502	49,514	32,192	34,262	36,928	47,624
0,591	42,511	49,503	32,194	34,260	36,939	47,610
0,590	42,520	49,492	32,197	34,257	36,950	47,596
0,589	42,530	49,481	32,199	34,255	36,962	47,582
0,588	42,539	49,470	32,201	34,252	36,973	47,568
0,587	42,549	49,458	32,204	34,250	36,984	47,555
0,586	42,558	49,447	32,206	34,248	36,995	47,541
0,585	42,567	49,436	32,208	34,245	37,006	47,527
0,584	42,577	49,425	32,211	34,243	37,017	47,513
0,583	42,586	49,414	32,213	34,241	37,029	47,499
0,582	42,595	49,403	32,215	34,238	37,040	47,485
0,581	42,605	49,392	32,217	34,236	37,051	47,472
0,580	42,614	49,381	32,220	34,234	37,062	47,458
0,579	42,624	49,370	32,222	34,231	37,073	47,444
0,578	42,633	49,359	32,224	34,229	37,084	47,430
0,577	42,642	49,348	32,227	34,227	37,095	47,416
0,576	42,652	49,337	32,229	34,224	37,107	47,402
0,575	42,661	49,326	32,231	34,222	37,118	47,388
0,574	42,678	49,306	32,236	34,217	37,142	47,358
0,573	42,695	49,286	32,242	34,212	37,167	47,328
0,572	42,712	49,267	32,247	34,206	37,192	47,298
0,571	42,729	49,247	32,252	34,201	37,216	47,268
0,570	42,746	49,227	32,257	34,196	37,241	47,238
0,569	42,762	49,208	32,262	34,190	37,266	47,209
0,568	42,779	49,188	32,267	34,185	37,290	47,179
0,567	42,796	49,168	32,273	34,180	37,315	47,149
0,566	42,813	49,149	32,278	34,175	37,340	47,119
0,565	42,830	49,129	32,283	34,169	37,364	47,089
0,564	42,847	49,109	32,288	34,164	37,389	47,059
0,563	42,864	49,090	32,293	34,159	37,414	47,029
0,562	42,881	49,070	32,298	34,154	37,438	46,999
0,561	42,898	49,051	32,304	34,148	37,463	46,969
0,560	42,915	49,031	32,309	34,143	37,488	46,939
0,559	42,931	49,011	32,314	34,138	37,512	46,909
0,558	42,948	48,992	32,319	34,132	37,537	46,879
0,557	42,965	48,972	32,324	34,127	37,562	46,849

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$\nu_{cc}$		$\nu_{co}^a$		$\nu_{co}^b$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,556	42,982	48,952	32,330	34,122	37,586	46,819
0,555	42,999	48,933	32,335	34,117	37,611	46,789
0,554	43,016	48,913	32,340	34,111	37,635	46,759
0,553	43,033	48,893	32,345	34,106	37,660	46,729
0,552	43,050	48,874	32,350	34,101	37,685	46,699
0,551	43,067	48,854	32,355	34,096	37,709	46,669
0,550	43,084	48,835	32,361	34,090	37,734	46,639
0,549	43,097	48,820	32,367	34,084	37,763	46,605
0,548	43,110	48,805	32,373	34,078	37,792	46,571
0,547	43,123	48,790	32,379	34,072	37,821	46,537
0,546	43,136	48,775	32,385	34,066	37,849	46,503
0,545	43,149	48,760	32,391	34,059	37,878	46,469
0,544	43,162	48,746	32,397	34,053	37,907	46,435
0,543	43,175	48,731	32,403	34,047	37,936	46,401
0,542	43,188	48,716	32,409	34,041	37,965	46,367
0,541	43,201	48,701	32,415	34,035	37,994	46,333
0,540	43,214	48,686	32,421	34,029	38,023	46,299
0,539	43,227	48,672	32,427	34,022	38,051	46,265
0,538	43,240	48,657	32,434	34,016	38,080	46,230
0,537	43,253	48,642	32,440	34,010	38,109	46,196
0,536	43,266	48,627	32,446	34,004	38,138	46,162
0,535	43,279	48,612	32,452	33,998	38,167	46,128
0,534	43,292	48,597	32,458	33,992	38,196	46,094
0,533	43,305	48,583	32,464	33,985	38,225	46,060
0,532	43,318	48,568	32,470	33,979	38,253	46,026
0,531	43,331	48,553	32,476	33,973	38,282	45,992
0,530	43,344	48,538	32,482	33,967	38,311	45,958
0,529	43,357	48,523	32,488	33,961	38,340	45,924
0,528	43,370	48,509	32,494	33,955	38,369	45,890
0,527	43,383	48,494	32,500	33,948	38,398	45,856
0,526	43,396	48,479	32,507	33,942	38,426	45,822
0,525	43,409	48,464	32,513	33,936	38,455	45,788

Tabelle A7:

Normierte Vektoren der 3D-Lage des  $Q_y$ -Übergangsdipolmomentes in Chl  $a$  mit der höchsten Wahrscheinlichkeit jeweils vor (\*) und nach der Koordinatentransformation mit den Achsen und Drehmatrizen aus Tab. A3 und A4.

Vektor	X	Y	Z
$\vec{\mu}_{el}^*$	0,92	0,13	0,37
$\vec{\mu}_{el}$	0,19	0,98	0,07

---

## B. Anhang B

---

Tabelle B1:

Optimierte Atom-Koordinaten für E-C314, bestimmt mit *Gaussian 03*[36] und entnommen aus der log-Datei.

Atom	X	Y	Z
O	-0,3592894383	1,8801634553	0,1152996844
C	-1,7740431599	1,8854174889	0,0535688651
C	-2,3913262408	0,5698320888	-0,1239735921
C	-1,6036582877	-0,5492423733	-0,2249537980
C	0,6593057928	-1,6200038126	-0,2675324570
C	2,0312641940	-1,5059731660	-0,2122784087
C	2,6199352643	-0,2127466262	-0,0144941794
C	1,7932703543	0,9351325445	0,0922860218
C	0,4135242031	0,7654409474	0,0100473219
C	-0,1900520625	-0,4980884646	-0,1643785314
O	-2,2959139253	2,9664071382	0,1556040991
C	2,9306622245	-2,7129651379	-0,3447181552
C	4,1810846556	-2,5277075594	0,5183923833
C	4,8910388797	-1,2390937278	0,1153727771
N	3,9886362755	-0,0885935117	0,0694555151
C	4,6503481068	1,2119180059	0,1740732439
C	3,7892852259	2,3451837090	-0,3735678428
C	2,4005640991	2,3069936791	0,2680356956
C	-3,8629776013	0,3593402063	-0,2099198106
O	-4,3600733483	-0,7472257338	-0,3531585594
O	-4,5810334634	1,4905129673	-0,1119997781
C	-6,0174772209	1,3515905668	-0,1912695970
C	-6,4932816957	1,3273866923	-1,6366735088
H	-2,1045676623	-1,5046971383	-0,3582886328
H	0,2110904942	-2,6022751035	-0,4017155282
H	2,3866959173	-3,6200808953	-0,0587980523
H	3,2369506919	-2,8497800331	-1,3932276144
H	4,8737547268	-3,3687689814	0,4039339729

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
H	3,8959225937	-2,4774525320	1,5765756755
H	5,3760114161	-1,3674486632	-0,8664074492
H	5,6894876069	-1,0105156324	0,8337498118
H	4,9141148752	1,4098868051	1,2262879541
H	5,5943426893	1,1512723739	-0,3830860587
H	3,6968870314	2,2400260437	-1,4617608790
H	4,2876050235	3,3010598792	-0,1784989476
H	2,4802177501	2,5567375808	1,3366491647
H	1,7435126625	3,0622840762	-0,1715915614
H	-6,3174087039	0,4445490687	0,3394716775
H	-6,3974515539	2,2280767426	0,3391409801
H	-7,5890722709	1,3093983910	-1,6679273329
H	-6,1197724806	0,4364839022	-2,1490915674
H	-6,1472720382	2,2172498540	-2,1724432672

**Tabelle B2:**

**Optimierte Atom-Koordinaten für Z-C314, bestimmt mit *Gaussian 03*[36] und entnommen aus der log-Datei.**

Atom	X	Y	Z
O	-0,4233630825	1,7503259110	0,1118732983
C	-1,8378685915	1,7031669962	0,0528843551
C	-2,4101721345	0,3653259446	-0,1283883841
C	-1,5835260662	-0,7256064966	-0,2288313679
C	0,7173383039	-1,7108289139	-0,2739318860
C	2,0845311041	-1,5490952077	-0,2184580901
C	2,6272865665	-0,2363865189	-0,0189387820
C	1,7607238602	0,8815093170	0,0869988560
C	0,3876077325	0,6638391956	0,0049383036
C	-0,1711540891	-0,6198717772	-0,1697041200
O	-2,4032127336	2,7589788737	0,1632589105
C	3,0265840675	-2,7229603298	-0,3506487232
C	4,2650459296	-2,4957096565	0,5195521081
C	4,9325255771	-1,1826501380	0,1221802608
N	3,9906483774	-0,0646224889	0,0670756173
C	4,6064889254	1,2583257532	0,1717257095
C	3,7066177915	2,3605486817	-0,3769436984

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
C	2,3195306870	2,2737838932	0,2634214145
C	-3,8874030853	0,2249397564	-0,2036945403
O	-4,6945138660	1,1289249290	-0,1928490839
O	-4,2475109377	-1,0906908603	-0,2970744319
C	-5,6641309534	-1,3554693933	-0,3840104292
C	-6,3080269484	-1,4102622712	0,9940188044
H	-2,0295877295	-1,7062099693	-0,3614442325
H	0,3045405448	-2,7085875633	-0,4087308814
H	2,5140164560	-3,6498972958	-0,0701074744
H	3,3428653924	-2,8455105197	-1,3979915684
H	4,9871311465	-3,3121032700	0,4082433974
H	3,9721601981	-2,4568334660	1,5761071718
H	5,4306264380	-1,2938175437	-0,8550679038
H	5,7160350004	-0,9258276948	0,8475619330
H	4,8623328916	1,4655871688	1,2240980077
H	5,5524961554	1,2301351156	-0,3846631883
H	3,6190208933	2,2522533314	-1,4652162763
H	4,1707338771	3,3333602306	-0,1814607500
H	2,3892302096	2,5260230459	1,3321173299
H	1,6367845935	3,0055998249	-0,1767083898
H	-6,1303237673	-0,5861711784	-1,0044589798
H	-5,7286059495	-2,3207851043	-0,8936963690
H	-7,3645843500	-1,6880615470	0,9014881825
H	-6,2507682592	-0,4333786190	1,4817023803
H	-5,8111591757	-2,1530191455	1,6272285100

Tabelle B3:

Dipolmomentvektoren der abgetasteten Schwingungen des C314, bestimmt mit *Gaussian 03*[36]. Sie wurden aus den log-Dateien entnommen und nachtraglich normiert.

Mode	# log-Datei	X	Y	Z
$E \vec{\nu}_1^{cc}$	96	-0,9966	0,0653	-0,0512
$Z \vec{\nu}_1^{cc}$	96	-0,9981	0,0414	-0,0460
$E \vec{\nu}_4^{cc}$	99	0,9900	-0,1375	0,0316
$Z \vec{\nu}_4^{cc}$	99	0,9889	-0,1468	0,0233
$E \vec{\nu}_5^{co}$	100	0,4797	0,8723	0,0950
$Z \vec{\nu}_5^{co}$	100	-0,9665	0,2320	-0,1095

$E\vec{V}_6^{co}$	120	-0,5673	0,8204	0,0713
$Z\vec{V}_6^{co}$	120	-0,6482	0,7596	0,0527

Tabelle B4:

Winkelbereiche  $\theta_{min} - \theta_{max}$  in Abhängigkeit des Vertrauensbereiches VB für die relativen Winkel zwischen dem elektronischen Übergangsdipolmoment von C314 und den Übergangsdipolmomenten der Schwingungsmoden  $E\vec{V}_1^{cc}$ ,  $E\vec{V}_4^{cc}$ ,  $E\vec{V}_5^{co}$  und  $E\vec{V}_6^{co}$ , alle Winkelangaben in  $^\circ$ .

VB	$E\vec{V}_1^{cc}$		$E\vec{V}_4^{cc}$		$E\vec{V}_5^{co}$		$E\vec{V}_6^{co}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,950	0	32,020	0	32,066	42,503	90	34,933	61,014
0,949	0	31,964	0	32,011	42,539	90	34,961	60,962
0,948	0	31,908	0	31,956	42,575	90	34,989	60,910
0,947	0	31,852	0	31,900	42,611	90	35,017	60,858
0,946	0	31,796	0	31,845	42,647	90	35,045	60,807
0,945	0	31,740	0	31,790	42,683	90	35,073	60,755
0,944	0	31,684	0	31,735	42,720	90	35,101	60,703
0,943	0	31,628	0	31,680	42,756	90	35,130	60,651
0,942	0	31,572	0	31,624	42,792	90	35,158	60,599
0,941	0	31,516	0	31,569	42,828	90	35,186	60,547
0,940	0	31,460	0	31,514	42,864	90	35,214	60,496
0,939	0	31,403	0	31,459	42,900	90	35,242	60,444
0,938	0	31,347	0	31,404	42,936	90	35,270	60,392
0,937	0	31,291	0	31,348	42,972	90	35,298	60,340
0,936	0	31,235	0	31,293	43,008	90	35,326	60,288
0,935	0	31,179	0	31,238	43,045	90	35,354	60,236
0,934	0	31,123	0	31,183	43,081	90	35,382	60,185
0,933	0	31,067	0	31,127	43,117	90	35,410	60,133
0,932	0	31,011	0	31,072	43,153	90	35,438	60,081
0,931	0	30,955	0	31,017	43,189	90	35,466	60,029
0,930	0	30,899	0	30,962	43,225	90	35,494	59,977
0,929	0	30,843	0	30,907	43,261	90	35,522	59,926
0,928	0	30,787	0	30,851	43,297	90	35,550	59,874
0,927	0	30,731	0	30,796	43,334	90	35,579	59,822
0,926	0	30,675	0	30,741	43,370	90	35,607	59,770
0,925	0	30,619	0	30,686	43,406	90	35,635	59,718
0,924	0	30,563	0	30,631	43,442	90	35,663	59,666

Fortsetzung auf der nächsten Seite



VB	$E_{\vec{V}_1^{cc}}$		$E_{\vec{V}_4^{cc}}$		$E_{\vec{V}_5^{co}}$		$E_{\vec{V}_6^{co}}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,923	0	30,507	0	30,575	43,478	90	35,691	59,615
0,922	0	30,451	0	30,520	43,514	90	35,719	59,563
0,921	0	30,395	0	30,465	43,550	90	35,747	59,511
0,920	0	30,338	0	30,410	43,586	90	35,775	59,459
0,919	0	30,282	0	30,355	43,622	90	35,803	59,407
0,918	0	30,226	0	30,299	43,659	90	35,831	59,355
0,917	0	30,170	0	30,244	43,695	90	35,859	59,304
0,916	0	30,114	0	30,189	43,731	90	35,887	59,252
0,915	0	30,058	0	30,134	43,767	90	35,915	59,200
0,914	0	30,002	0	30,078	43,803	90	35,943	59,148
0,913	0	29,946	0	30,023	43,839	90	35,971	59,096
0,912	0	29,890	0	29,968	43,875	90	35,999	59,045
0,911	0	29,834	0	29,913	43,911	90	36,027	58,993
0,910	0	29,778	0	29,858	43,948	90	36,056	58,941
0,909	0	29,722	0	29,802	43,984	90	36,084	58,889
0,908	0	29,666	0	29,747	44,020	90	36,112	58,837
0,907	0	29,610	0	29,692	44,056	90	36,140	58,785
0,906	0	29,554	0	29,637	44,092	90	36,168	58,734
0,905	0	29,498	0	29,582	44,128	90	36,196	58,682
0,904	0	29,442	0	29,526	44,164	90	36,224	58,630
0,903	0	29,386	0	29,471	44,200	90	36,252	58,578
0,902	0	29,329	0	29,416	44,237	90	36,280	58,526
0,901	0	29,273	0	29,361	44,273	90	36,308	58,475
0,900	0	29,217	0	29,306	44,309	90	36,336	58,423
0,899	0	29,182	0	29,258	44,336	89,893	36,357	58,388
0,898	0	29,147	0	29,210	44,362	89,786	36,377	58,354
0,897	0	29,112	0	29,162	44,389	89,679	36,397	58,320
0,896	0	29,077	0	29,115	44,416	89,573	36,418	58,285
0,895	0	29,042	0	29,067	44,443	89,466	36,438	58,251
0,894	0	29,007	0	29,019	44,470	89,359	36,459	58,216
0,893	0	28,972	0	28,971	44,496	89,252	36,479	58,182
0,892	0	28,936	0	28,924	44,523	89,145	36,500	58,148
0,891	0	28,901	0	28,876	44,550	89,038	36,520	58,113
0,890	0	28,866	0	28,828	44,577	88,932	36,541	58,079
0,889	0	28,831	0	28,780	44,604	88,825	36,561	58,044
0,888	0	28,796	0	28,733	44,630	88,718	36,582	58,010
0,887	0	28,761	0	28,685	44,657	88,611	36,602	57,976
0,886	0	28,726	0	28,637	44,684	88,504	36,622	57,941
0,885	0	28,691	0	28,589	44,711	88,397	36,643	57,907
0,884	0	28,655	0	28,542	44,738	88,291	36,663	57,873

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E\vec{U}_1^{cc}$		$E\vec{U}_4^{cc}$		$E\vec{U}_5^{co}$		$E\vec{U}_6^{co}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,883	0	28,620	0	28,494	44,764	88,184	36,684	57,838
0,882	0	28,585	0	28,446	44,791	88,077	36,704	57,804
0,881	0	28,550	0	28,398	44,818	87,970	36,725	57,769
0,880	0	28,515	0	28,351	44,845	87,863	36,745	57,735
0,879	0	28,480	0	28,303	44,872	87,756	36,766	57,701
0,878	0	28,445	0	28,255	44,899	87,650	36,786	57,666
0,877	0	28,410	0	28,207	44,925	87,543	36,807	57,632
0,876	0	28,374	0	28,160	44,952	87,436	36,827	57,597
0,875	0	28,339	0	28,112	44,979	87,329	36,847	57,563
0,874	0	28,304	0	28,064	45,006	87,222	36,868	57,529
0,873	0	28,269	0	28,017	45,033	87,115	36,888	57,494
0,872	0	28,234	0	27,969	45,059	87,008	36,909	57,460
0,871	0	28,199	0	27,921	45,086	86,902	36,929	57,426
0,870	0	28,164	0	27,873	45,113	86,795	36,950	57,391
0,869	0	28,129	0	27,826	45,140	86,688	36,970	57,357
0,868	0	28,093	0	27,778	45,167	86,581	36,991	57,322
0,867	0	28,058	0	27,730	45,193	86,474	37,011	57,288
0,866	0	28,023	0	27,682	45,220	86,367	37,031	57,254
0,865	0	27,988	0	27,635	45,247	86,261	37,052	57,219
0,864	0	27,953	0	27,587	45,274	86,154	37,072	57,185
0,863	0	27,918	0	27,539	45,301	86,047	37,093	57,150
0,862	0	27,883	0	27,491	45,327	85,940	37,113	57,116
0,861	0	27,848	0	27,444	45,354	85,833	37,134	57,082
0,860	0	27,812	0	27,396	45,381	85,726	37,154	57,047
0,859	0	27,777	0	27,348	45,408	85,620	37,175	57,013
0,858	0	27,742	0	27,300	45,435	85,513	37,195	56,979
0,857	0	27,707	0	27,253	45,461	85,406	37,216	56,944
0,856	0	27,672	0	27,205	45,488	85,299	37,236	56,910
0,855	0	27,637	0	27,157	45,515	85,192	37,256	56,875
0,854	0	27,602	0	27,109	45,542	85,085	37,277	56,841
0,853	0	27,567	0	27,062	45,569	84,979	37,297	56,807
0,852	0	27,531	0	27,014	45,595	84,872	37,318	56,772
0,851	0	27,496	0	26,966	45,622	84,765	37,338	56,738
0,850	0	27,461	0	26,918	45,649	84,658	37,359	56,703
0,849	0	27,422	0	26,865	45,671	84,533	37,375	56,678
0,848	0	27,383	0	26,811	45,692	84,408	37,391	56,652
0,847	0	27,344	0	26,757	45,714	84,282	37,408	56,626
0,846	0	27,304	0	26,703	45,736	84,157	37,424	56,601
0,845	0	27,265	0	26,649	45,757	84,032	37,440	56,575
0,844	0	27,226	0	26,595	45,779	83,907	37,457	56,549

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

VB	$E_{\vec{V}_1^{cc}}$		$E_{\vec{V}_4^{cc}}$		$E_{\vec{V}_5^{co}}$		$E_{\vec{V}_6^{co}}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,843	0	27,187	0	26,541	45,800	83,781	37,473	56,524
0,842	0	27,147	0	26,487	45,822	83,656	37,489	56,498
0,841	0	27,108	0	26,433	45,844	83,531	37,505	56,472
0,840	0	27,069	0	26,379	45,865	83,406	37,522	56,447
0,839	0	27,030	0	26,325	45,887	83,280	37,538	56,421
0,838	0	26,990	0	26,271	45,908	83,155	37,554	56,395
0,837	0	26,951	0	26,217	45,930	83,030	37,571	56,370
0,836	0	26,912	0	26,163	45,952	82,904	37,587	56,344
0,835	0	26,873	0	26,109	45,973	82,779	37,603	56,318
0,834	0	26,834	0	26,055	45,995	82,654	37,620	56,292
0,833	0	26,794	0	26,001	46,017	82,529	37,636	56,267
0,832	0	26,755	0	25,947	46,038	82,403	37,652	56,241
0,831	0	26,716	0	25,893	46,060	82,278	37,668	56,215
0,830	0	26,677	0	25,839	46,081	82,153	37,685	56,190
0,829	0	26,637	0	25,785	46,103	82,028	37,701	56,164
0,828	0	26,598	0	25,731	46,125	81,902	37,717	56,138
0,827	0	26,559	0	25,677	46,146	81,777	37,734	56,113
0,826	0	26,520	0	25,623	46,168	81,652	37,750	56,087
0,825	0	26,480	0	25,569	46,189	81,527	37,766	56,061
0,824	0	26,441	0	25,515	46,211	81,401	37,783	56,036
0,823	0	26,402	0	25,461	46,233	81,276	37,799	56,010
0,822	0	26,363	0	25,407	46,254	81,151	37,815	55,984
0,821	0	26,323	0	25,354	46,276	81,026	37,831	55,959
0,820	0	26,284	0	25,300	46,298	80,900	37,848	55,933
0,819	0	26,245	0	25,246	46,319	80,775	37,864	55,907
0,818	0	26,206	0	25,192	46,341	80,650	37,880	55,881
0,817	0	26,167	0	25,138	46,362	80,525	37,897	55,856
0,816	0	26,127	0	25,084	46,384	80,399	37,913	55,830
0,815	0	26,088	0	25,030	46,406	80,274	37,929	55,804
0,814	0	26,049	0	24,976	46,427	80,149	37,946	55,779
0,813	0	26,010	0	24,922	46,449	80,024	37,962	55,753
0,812	0	25,970	0	24,868	46,470	79,898	37,978	55,727
0,811	0	25,931	0	24,814	46,492	79,773	37,995	55,702
0,810	0	25,892	0	24,760	46,514	79,648	38,011	55,676
0,809	0	25,853	0	24,706	46,535	79,523	38,027	55,650
0,808	0	25,813	0	24,652	46,557	79,397	38,043	55,625
0,807	0	25,774	0	24,598	46,578	79,272	38,060	55,599
0,806	0	25,735	0	24,544	46,600	79,147	38,076	55,573
0,805	0	25,696	0	24,490	46,622	79,022	38,092	55,548
0,804	0	25,656	0	24,436	46,643	78,896	38,109	55,522

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E\vec{U}_1^{cc}$		$E\vec{U}_4^{cc}$		$E\vec{U}_5^{co}$		$E\vec{U}_6^{co}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,803	0	25,617	0	24,382	46,665	78,771	38,125	55,496
0,802	0	25,578	0	24,328	46,687	78,646	38,141	55,471
0,801	0	25,539	0	24,274	46,708	78,521	38,158	55,445
0,800	0	25,500	0	24,220	46,730	78,395	38,174	55,419
0,799	0	25,473	0	24,183	46,751	78,321	38,190	55,396
0,798	0	25,446	0	24,147	46,772	78,246	38,205	55,372
0,797	0	25,419	0	24,110	46,794	78,171	38,221	55,348
0,796	0	25,393	0	24,073	46,815	78,096	38,237	55,325
0,795	0	25,366	0	24,036	46,836	78,022	38,253	55,301
0,794	0	25,339	0	23,999	46,857	77,947	38,269	55,277
0,793	0	25,313	0	23,962	46,879	77,872	38,285	55,254
0,792	0	25,286	0	23,925	46,900	77,797	38,300	55,230
0,791	0	25,259	0	23,888	46,921	77,723	38,316	55,206
0,790	0	25,232	0	23,852	46,943	77,648	38,332	55,183
0,789	0	25,206	0	23,815	46,964	77,573	38,348	55,159
0,788	0	25,179	0	23,778	46,985	77,498	38,364	55,135
0,787	0	25,152	0	23,741	47,006	77,423	38,380	55,112
0,786	0	25,126	0	23,704	47,028	77,349	38,395	55,088
0,785	0	25,099	0	23,667	47,049	77,274	38,411	55,064
0,784	0	25,072	0	23,630	47,070	77,199	38,427	55,041
0,783	0	25,045	0	23,593	47,092	77,124	38,443	55,017
0,782	0	25,019	0	23,557	47,113	77,050	38,459	54,993
0,781	0	24,992	0	23,520	47,134	76,975	38,475	54,970
0,780	0	24,965	0	23,483	47,155	76,900	38,490	54,946
0,779	0	24,939	0	23,446	47,177	76,825	38,506	54,923
0,778	0	24,912	0	23,409	47,198	76,751	38,522	54,899
0,777	0	24,885	0	23,372	47,219	76,676	38,538	54,875
0,776	0	24,858	0	23,335	47,241	76,601	38,554	54,852
0,775	0	24,832	0	23,299	47,262	76,526	38,570	54,828
0,774	0	24,805	0	23,262	47,283	76,452	38,585	54,804
0,773	0	24,778	0	23,225	47,304	76,377	38,601	54,781
0,772	0	24,752	0	23,188	47,326	76,302	38,617	54,757
0,771	0	24,725	0	23,151	47,347	76,227	38,633	54,733
0,770	0	24,698	0	23,114	47,368	76,152	38,649	54,710
0,769	0	24,671	0	23,077	47,390	76,078	38,665	54,686
0,768	0	24,645	0	23,040	47,411	76,003	38,680	54,662
0,767	0	24,618	0	23,004	47,432	75,928	38,696	54,639
0,766	0	24,591	0	22,967	47,453	75,853	38,712	54,615
0,765	0	24,565	0	22,930	47,475	75,779	38,728	54,591
0,764	0	24,538	0	22,893	47,496	75,704	38,744	54,568

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E_{\vec{V}_1^{cc}}$		$E_{\vec{V}_4^{cc}}$		$E_{\vec{V}_5^{co}}$		$E_{\vec{V}_6^{co}}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,763	0	24,511	0	22,856	47,517	75,629	38,760	54,544
0,762	0	24,484	0	22,819	47,539	75,554	38,775	54,520
0,761	0	24,458	0	22,782	47,560	75,480	38,791	54,497
0,760	0	24,431	0	22,745	47,581	75,405	38,807	54,473
0,759	0	24,404	0	22,709	47,602	75,330	38,823	54,450
0,758	0	24,378	0	22,672	47,624	75,255	38,839	54,426
0,757	0	24,351	0	22,635	47,645	75,181	38,855	54,402
0,756	0	24,324	0	22,598	47,666	75,106	38,870	54,379
0,755	0	24,297	0	22,561	47,688	75,031	38,886	54,355
0,754	0	24,271	0	22,524	47,709	74,956	38,902	54,331
0,753	0	24,244	0	22,487	47,730	74,881	38,918	54,308
0,752	0	24,217	0	22,451	47,751	74,807	38,934	54,284
0,751	0	24,191	0	22,414	47,773	74,732	38,950	54,260
0,750	0	24,164	0	22,377	47,794	74,657	38,965	54,237
0,749	0	24,125	0	22,322	47,810	74,611	38,977	54,220
0,748	0	24,085	0	22,267	47,826	74,565	38,988	54,203
0,747	0	24,046	0	22,212	47,842	74,519	39,000	54,187
0,746	0	24,007	0	22,157	47,857	74,473	39,011	54,170
0,745	0	23,967	0	22,102	47,873	74,427	39,023	54,154
0,744	0	23,928	0	22,047	47,889	74,381	39,035	54,137
0,743	0	23,889	0	21,992	47,905	74,335	39,046	54,120
0,742	0	23,849	0	21,937	47,921	74,289	39,058	54,104
0,741	0	23,810	0	21,882	47,937	74,243	39,069	54,087
0,740	0	23,771	0	21,827	47,953	74,197	39,081	54,070
0,739	0	23,732	0	21,772	47,968	74,151	39,092	54,054
0,738	0	23,692	0	21,717	47,984	74,105	39,104	54,037
0,737	0	23,653	0	21,662	48,000	74,059	39,115	54,021
0,736	0	23,614	0	21,606	48,016	74,013	39,127	54,004
0,735	0	23,574	0	21,551	48,032	73,967	39,138	53,987
0,734	0	23,535	0	21,496	48,048	73,921	39,150	53,971
0,733	0	23,496	0	21,441	48,064	73,875	39,161	53,954
0,732	0	23,457	0	21,386	48,080	73,829	39,173	53,937
0,731	0	23,417	0	21,331	48,095	73,783	39,184	53,921
0,730	0	23,378	0	21,276	48,111	73,737	39,196	53,904
0,729	0	23,339	0	21,221	48,127	73,691	39,207	53,888
0,728	0	23,299	0	21,166	48,143	73,645	39,219	53,871
0,727	0	23,260	0	21,111	48,159	73,599	39,230	53,854
0,726	0	23,221	0	21,056	48,175	73,553	39,242	53,838
0,725	0	23,181	0	21,001	48,191	73,507	39,253	53,821
0,724	0	23,138	0	20,940	48,216	73,440	39,272	53,795

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E\vec{U}_1^{cc}$		$E\vec{U}_4^{cc}$		$E\vec{U}_5^{co}$		$E\vec{U}_6^{co}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,723	0	23,095	0	20,879	48,242	73,374	39,291	53,769
0,722	0	23,052	0	20,817	48,267	73,307	39,309	53,743
0,721	0	23,009	0	20,756	48,292	73,241	39,328	53,716
0,720	0	22,965	0	20,695	48,318	73,174	39,346	53,690
0,719	0	22,922	0	20,633	48,343	73,107	39,365	53,664
0,718	0	22,879	0	20,572	48,369	73,041	39,383	53,638
0,717	0	22,836	0	20,511	48,394	72,974	39,402	53,612
0,716	0	22,793	0	20,449	48,420	72,908	39,420	53,586
0,715	0	22,750	0	20,388	48,445	72,841	39,439	53,559
0,714	0	22,706	0	20,327	48,471	72,775	39,458	53,533
0,713	0	22,663	0	20,266	48,496	72,708	39,476	53,507
0,712	0	22,620	0	20,204	48,521	72,641	39,495	53,481
0,711	0	22,577	0	20,143	48,547	72,575	39,513	53,455
0,710	0	22,534	0	20,082	48,572	72,508	39,532	53,428
0,709	0	22,490	0	20,020	48,598	72,442	39,550	53,402
0,708	0	22,447	0	19,959	48,623	72,375	39,569	53,376
0,707	0	22,404	0	19,898	48,649	72,309	39,588	53,350
0,706	0	22,361	0	19,836	48,674	72,242	39,606	53,324
0,705	0	22,318	0	19,775	48,699	72,175	39,625	53,298
0,704	0	22,274	0	19,714	48,725	72,109	39,643	53,271
0,703	0	22,231	0	19,652	48,750	72,042	39,662	53,245
0,702	0	22,188	0	19,591	48,776	71,976	39,680	53,219
0,701	0	22,145	0	19,530	48,801	71,909	39,699	53,193
0,700	0	22,102	0	19,468	48,827	71,843	39,717	53,167
0,699	0	22,078	0	19,435	48,845	71,799	39,731	53,148
0,698	0	22,055	0	19,401	48,864	71,755	39,744	53,130
0,697	0	22,032	0	19,367	48,882	71,711	39,757	53,112
0,696	0	22,008	0	19,334	48,901	71,667	39,771	53,093
0,695	0	21,985	0	19,300	48,919	71,623	39,784	53,075
0,694	0	21,961	0	19,266	48,937	71,579	39,797	53,057
0,693	0	21,938	0	19,233	48,956	71,535	39,811	53,038
0,692	0	21,915	0	19,199	48,974	71,491	39,824	53,020
0,691	0	21,891	0	19,166	48,993	71,448	39,837	53,002
0,690	0	21,868	0	19,132	49,011	71,404	39,851	52,983
0,689	0	21,845	0	19,098	49,030	71,360	39,864	52,965
0,688	0	21,821	0	19,065	49,048	71,316	39,877	52,947
0,687	0	21,798	0	19,031	49,067	71,272	39,891	52,928
0,686	0	21,775	0	18,997	49,085	71,228	39,904	52,910
0,685	0	21,751	0	18,964	49,104	71,184	39,917	52,892
0,684	0	21,728	0	18,930	49,122	71,140	39,931	52,873

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E_{\vec{V}_1^{cc}}$		$E_{\vec{V}_4^{cc}}$		$E_{\vec{V}_5^{co}}$		$E_{\vec{V}_6^{co}}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,683	0	21,705	0	18,896	49,141	71,096	39,944	52,855
0,682	0	21,681	0	18,863	49,159	71,052	39,957	52,837
0,681	0	21,658	0	18,829	49,178	71,009	39,971	52,818
0,680	0	21,635	0	18,795	49,196	70,965	39,984	52,800
0,679	0	21,611	0	18,762	49,214	70,921	39,997	52,782
0,678	0	21,588	0	18,728	49,233	70,877	40,011	52,763
0,677	0	21,565	0	18,694	49,251	70,833	40,024	52,745
0,676	0	21,541	0	18,661	49,270	70,789	40,037	52,727
0,675	0	21,518	0	18,627	49,288	70,745	40,051	52,708
0,674	0	21,493	0	18,590	49,308	70,701	40,065	52,689
0,673	0	21,468	0	18,553	49,328	70,658	40,079	52,670
0,672	0	21,442	0	18,516	49,348	70,614	40,094	52,650
0,671	0	21,417	0	18,479	49,367	70,570	40,108	52,631
0,670	0	21,392	0	18,442	49,387	70,527	40,122	52,612
0,669	0	21,367	0	18,405	49,407	70,483	40,137	52,592
0,668	0	21,342	0	18,368	49,427	70,439	40,151	52,573
0,667	0	21,317	0	18,331	49,447	70,395	40,165	52,554
0,666	0	21,292	0	18,294	49,466	70,352	40,180	52,534
0,665	0	21,267	0	18,257	49,486	70,308	40,194	52,515
0,664	0	21,241	0	18,220	49,506	70,264	40,208	52,496
0,663	0	21,216	0	18,184	49,526	70,221	40,223	52,476
0,662	0	21,191	0	18,147	49,546	70,177	40,237	52,457
0,661	0	21,166	0	18,110	49,565	70,133	40,251	52,438
0,660	0	21,141	0	18,073	49,585	70,089	40,266	52,418
0,659	0	21,116	0	18,036	49,605	70,046	40,280	52,399
0,658	0	21,091	0	17,999	49,625	70,002	40,294	52,380
0,657	0	21,066	0	17,962	49,645	69,958	40,309	52,360
0,656	0	21,041	0	17,925	49,664	69,915	40,323	52,341
0,655	0	21,015	0	17,888	49,684	69,871	40,337	52,322
0,654	0	20,990	0	17,851	49,704	69,827	40,352	52,302
0,653	0	20,965	0	17,814	49,724	69,783	40,366	52,283
0,652	0	20,940	0	17,777	49,743	69,740	40,380	52,264
0,651	0	20,915	0	17,740	49,763	69,696	40,394	52,245
0,650	0	20,890	0	17,703	49,783	69,652	40,409	52,225
0,649	0	20,833	0	17,618	49,816	69,585	40,432	52,194
0,648	0	20,777	0	17,534	49,850	69,518	40,456	52,163
0,647	0	20,720	0	17,449	49,883	69,451	40,480	52,132
0,646	0	20,664	0	17,364	49,916	69,383	40,503	52,101
0,645	0	20,607	0	17,280	49,950	69,316	40,527	52,070
0,644	0	20,551	0	17,195	49,983	69,249	40,551	52,039

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E\vec{V}_1^{cc}$		$E\vec{V}_4^{cc}$		$E\vec{V}_5^{co}$		$E\vec{V}_6^{co}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,643	0	20,494	0	17,110	50,017	69,182	40,574	52,008
0,642	0	20,437	0	17,025	50,050	69,114	40,598	51,977
0,641	0	20,381	0	16,941	50,083	69,047	40,622	51,946
0,640	0	20,324	0	16,856	50,117	68,980	40,645	51,915
0,639	0	20,268	0	16,771	50,150	68,913	40,669	51,884
0,638	0	20,211	0	16,687	50,183	68,845	40,692	51,853
0,637	0	20,155	0	16,602	50,217	68,778	40,716	51,822
0,636	0	20,098	0	16,517	50,250	68,711	40,740	51,791
0,635	0	20,042	0	16,432	50,283	68,644	40,763	51,760
0,634	0	19,985	0	16,348	50,317	68,576	40,787	51,729
0,633	0	19,929	0	16,263	50,350	68,509	40,811	51,698
0,632	0	19,872	0	16,178	50,383	68,442	40,834	51,667
0,631	0	19,815	0	16,094	50,417	68,375	40,858	51,636
0,630	0	19,759	0	16,009	50,450	68,307	40,882	51,605
0,629	0	19,702	0	15,924	50,483	68,240	40,905	51,574
0,628	0	19,646	0	15,839	50,517	68,173	40,929	51,543
0,627	0	19,589	0	15,755	50,550	68,106	40,952	51,512
0,626	0	19,533	0	15,670	50,584	68,038	40,976	51,481
0,625	0	19,476	0	15,585	50,617	67,971	41,000	51,450
0,624	0	19,444	0	15,534	50,642	67,925	41,018	51,427
0,623	0	19,411	0	15,483	50,667	67,878	41,035	51,405
0,622	0	19,379	0	15,432	50,693	67,832	41,053	51,382
0,621	0	19,346	0	15,381	50,718	67,785	41,071	51,359
0,620	0	19,314	0	15,329	50,743	67,739	41,089	51,337
0,619	0	19,281	0	15,278	50,768	67,692	41,107	51,314
0,618	0	19,249	0	15,227	50,794	67,646	41,124	51,291
0,617	0	19,217	0	15,176	50,819	67,599	41,142	51,269
0,616	0	19,184	0	15,125	50,844	67,553	41,160	51,246
0,615	0	19,152	0	15,073	50,870	67,506	41,178	51,223
0,614	0	19,119	0	15,022	50,895	67,459	41,196	51,201
0,613	0	19,087	0	14,971	50,920	67,413	41,214	51,178
0,612	0	19,054	0	14,920	50,945	67,366	41,231	51,155
0,611	0	19,022	0	14,869	50,971	67,320	41,249	51,132
0,610	0	18,989	0	14,818	50,996	67,273	41,267	51,110
0,609	0	18,957	0	14,766	51,021	67,227	41,285	51,087
0,608	0	18,925	0	14,715	51,046	67,180	41,303	51,064
0,607	0	18,892	0	14,664	51,072	67,134	41,320	51,042
0,606	0	18,860	0	14,613	51,097	67,087	41,338	51,019
0,605	0	18,827	0	14,562	51,122	67,041	41,356	50,996
0,604	0	18,795	0	14,510	51,147	66,994	41,374	50,974

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*



VB	$E_{\vec{V}_1^{cc}}$		$E_{\vec{V}_4^{cc}}$		$E_{\vec{V}_5^{co}}$		$E_{\vec{V}_6^{co}}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,603	0	18,762	0	14,459	51,173	66,948	41,392	50,951
0,602	0	18,730	0	14,408	51,198	66,901	41,410	50,928
0,601	0	18,697	0	14,357	51,223	66,855	41,427	50,906
0,600	0	18,665	0	14,306	51,248	66,808	41,445	50,883
0,599	0	18,628	0	14,245	51,262	66,784	41,455	50,871
0,598	0	18,591	0	14,184	51,276	66,760	41,465	50,858
0,597	0	18,554	0	14,124	51,290	66,736	41,474	50,846
0,596	0	18,517	0	14,063	51,304	66,712	41,484	50,834
0,595	0	18,480	0	14,002	51,318	66,687	41,494	50,822
0,594	0	18,443	0	13,942	51,332	66,663	41,504	50,810
0,593	0	18,407	0	13,881	51,346	66,639	41,514	50,797
0,592	0	18,370	0	13,820	51,360	66,615	41,523	50,785
0,591	0	18,333	0	13,760	51,374	66,591	41,533	50,773
0,590	0	18,296	0	13,699	51,387	66,566	41,543	50,761
0,589	0	18,259	0	13,638	51,401	66,542	41,553	50,749
0,588	0	18,222	0	13,578	51,415	66,518	41,562	50,736
0,587	0	18,185	0	13,517	51,429	66,494	41,572	50,724
0,586	0	18,148	0	13,456	51,443	66,470	41,582	50,712
0,585	0	18,111	0	13,396	51,457	66,445	41,592	50,700
0,584	0	18,074	0	13,335	51,471	66,421	41,602	50,688
0,583	0	18,037	0	13,274	51,485	66,397	41,611	50,675
0,582	0	18,000	0	13,214	51,499	66,373	41,621	50,663
0,581	0	17,963	0	13,153	51,513	66,349	41,631	50,651
0,580	0	17,927	0	13,092	51,526	66,324	41,641	50,639
0,579	0	17,890	0	13,032	51,540	66,300	41,650	50,626
0,578	0	17,853	0	12,971	51,554	66,276	41,660	50,614
0,577	0	17,816	0	12,910	51,568	66,252	41,670	50,602
0,576	0	17,779	0	12,850	51,582	66,228	41,680	50,590
0,575	0	17,742	0	12,789	51,596	66,203	41,689	50,578
0,574	0	17,645	0	12,605	51,627	66,152	41,711	50,551
0,573	0	17,548	0	12,420	51,658	66,101	41,733	50,525
0,572	0	17,451	0	12,235	51,689	66,050	41,754	50,498
0,571	0	17,354	0	12,051	51,721	65,999	41,776	50,472
0,570	0	17,257	0	11,866	51,752	65,948	41,798	50,445
0,569	0	17,160	0	11,682	51,783	65,897	41,820	50,419
0,568	0	17,063	0	11,497	51,814	65,845	41,841	50,392
0,567	0	16,966	0	11,313	51,845	65,794	41,863	50,366
0,566	0	16,869	0	11,128	51,876	65,743	41,885	50,339
0,565	0	16,773	0	10,943	51,908	65,692	41,906	50,313
0,564	0	16,676	0	10,759	51,939	65,641	41,928	50,286

Fortsetzung auf der nächsten Seite

VB	$E\vec{V}_1^{cc}$		$E\vec{V}_4^{cc}$		$E\vec{V}_5^{co}$		$E\vec{V}_6^{co}$	
	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$	$\theta_{min}$	$\theta_{max}$
0,563	0	16,579	0	10,574	51,970	65,590	41,950	50,260
0,562	0	16,482	0	10,390	52,001	65,539	41,971	50,233
0,561	0	16,385	0	10,205	52,032	65,487	41,993	50,207
0,560	0	16,288	0	10,021	52,064	65,436	42,015	50,180
0,559	0	16,191	0	9,836	52,095	65,385	42,036	50,154
0,558	0	16,094	0	9,652	52,126	65,334	42,058	50,127
0,557	0	15,997	0	9,467	52,157	65,283	42,080	50,101
0,556	0	15,900	0	9,282	52,188	65,232	42,101	50,074
0,555	0	15,803	0	9,098	52,219	65,181	42,123	50,048
0,554	0	15,706	0	8,913	52,251	65,129	42,145	50,021
0,553	0	15,609	0	8,728	52,282	65,078	42,166	49,995
0,552	0	15,512	0	8,544	52,313	65,027	42,188	49,968
0,551	0	15,415	0	8,360	52,344	64,976	42,210	49,942
0,550	0	15,319	0	8,175	52,375	64,925	42,231	49,915
0,549	0	15,244	0	7,916	52,413	64,867	42,257	49,884
0,548	0	15,170	0	7,656	52,452	64,810	42,283	49,854
0,547	0	15,095	0	7,397	52,490	64,752	42,309	49,823
0,546	0	15,021	0	7,138	52,528	64,695	42,335	49,792
0,545	0	14,946	0	6,878	52,566	64,638	42,361	49,761
0,544	0	14,872	0	6,619	52,604	64,580	42,387	49,731
0,543	0	14,797	0	6,360	52,642	64,523	42,413	49,700
0,542	0	14,723	0	6,101	52,680	64,465	42,439	49,669
0,541	0	14,648	0	5,842	52,719	64,408	42,465	49,638
0,540	0	14,574	0	5,582	52,757	64,350	42,491	49,608
0,539	0	14,499	0	5,323	52,795	64,293	42,517	49,577
0,538	0	14,425	0	5,064	52,833	64,235	42,543	49,546
0,537	0	14,350	0	4,805	52,871	64,178	42,569	49,515
0,536	0	14,276	0	4,545	52,909	64,121	42,595	49,485
0,535	0	14,201	0	4,286	52,947	64,063	42,621	49,454
0,534	0	14,127	0	4,027	52,986	64,006	42,647	49,423
0,533	0	14,052	0	3,768	53,024	63,948	42,673	49,392
0,532	0	13,978	0	3,508	53,062	63,891	42,699	49,362
0,531	0	13,903	0	3,249	53,100	63,833	42,725	49,331
0,530	0	13,829	0	2,990	53,138	63,776	42,751	49,300
0,529	0	13,754	0	2,731	53,176	63,718	42,777	49,269
0,528	0	13,680	0	2,471	53,214	63,661	42,803	49,239
0,527	0	13,605	0	2,212	53,253	63,603	42,829	49,208
0,526	0	13,531	0	1,953	53,291	63,546	42,855	49,177
0,525	0	13,456	0	1,694	53,329	63,489	42,881	49,147

Tabelle B5:

Normierte Vektoren des elektronischen Übergangsdipolmomentes des C314 für die Anregung  $S_0 \rightarrow S_1$ .  ${}^E\vec{\mu}_{el}$  und  ${}^Z\vec{\mu}_{el}$  sind mit **Gaussian 03**[36] theoretisch berechnet.  $\vec{\mu}_{el,3}$  ist die experimentelle Lösung unter Verwendung der Schwingungen  ${}^E\vec{\nu}_{1}^{cc}$ ,  ${}^E\vec{\nu}_{4}^{cc}$  und  ${}^E\vec{\nu}_{6}^{co}$ .  $\vec{\mu}_{el,4}$  ist die experimentelle Lösung unter Verwendung der Schwingungen  ${}^E\vec{\nu}_{1}^{cc}$ ,  ${}^E\vec{\nu}_{4}^{cc}$ ,  ${}^E\vec{\nu}_{6}^{co}$  und  ${}^E\vec{\nu}_{5}^{co}$ .  ${}^b\vec{\mu}_{el}$  ist die experimentelle Lösung unter Verwendung der Schwingungen  ${}^E\vec{\nu}_{1}^{cc}$ ,  ${}^E\vec{\nu}_{5}^{co}$  und  ${}^E\vec{\nu}_{6}^{co}$ .

Vektor	X	Y	Z
${}^E\vec{\mu}_{el}$	-0,9822	0,1854	-0,0298
${}^Z\vec{\mu}_{el}$	-0,9900	0,1400	-0,0164
$\vec{\mu}_{el,3}$	-0,987	0,159	-0,029
$\vec{\mu}_{el,4}$	-0,994	0,107	-0,020
${}^b\vec{\mu}_{el}$	-0,99	0,11	0,01



---

## C. Anhang C

---

Tabelle C1:

Optimierte Atom-Koordinaten für Agp1 18-Et-BV in der Konformation *ZZZ-ssa*, bestimmt mit *Gaussian 09*[37] und entnommen aus der log-Datei.

Atom	X	Y	Z
C	-2,049	1,1217	-0,2605
N	-2,2931	-0,2372	-0,0784
C	-3,6362	-0,466	-0,0164
C	-4,3059	0,7968	-0,1464
C	-3,3319	1,7691	-0,3041
C	-4,3388	-1,706	0,0589
C	-3,9567	-3,0212	-0,0482
N	-2,6972	-3,5671	-0,0877
C	-2,7681	-4,9713	-0,0973
C	-4,2157	-5,311	-0,1568
C	-4,9223	-4,1494	-0,1492
O	-1,8201	-5,7328	-0,0632
C	-4,6747	-6,7257	-0,2707
C	-6,3807	-4,0534	-0,2493
C	-7,0886	-3,1629	-0,9579
C	-5,7956	0,9783	-0,1346
C	-3,548	3,2499	-0,4298
C	-3,3813	3,9683	0,932
C	-3,6458	5,4507	0,8039
O	-2,6121	6,2033	1,2967
C	-0,835	1,7782	-0,4778
C	0,507	1,3846	-0,4936
N	1,0208	0,1657	-0,1038
C	2,3693	0,1456	-0,2552
C	2,7717	1,404	-0,7949
C	1,622	2,1753	-0,9441
C	1,5677	3,5608	-1,5303
C	1,9887	4,6973	-0,5674

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
C	0,9589	5,0958	0,4719
O	-0,271	5,2734	-0,079
C	4,1891	1,7816	-1,1179
C	5,0162	0,6284	-1,7055
N	5,3499	-0,4058	-0,7387
C	4,4643	-1,1967	-0,0182
C	5,2372	-2,3096	0,5641
C	6,5353	-2,1674	0,1958
C	6,6395	-0,9664	-0,6743
C	3,1268	-0,9923	0,1593
C	4,619	-3,3569	1,4382
C	7,75	-2,9749	0,5326
C	8,6751	-2,27	1,5441
O	7,6187	-0,5232	-1,2543
O	1,186	5,2943	1,6429
O	-4,6295	5,9579	0,3217
Cl	-0,2657	-2,1844	1,3972
H	-6,9244	-4,8396	0,2747
H	-0,9627	2,8316	-0,704
H	2,5697	-1,7567	0,6932
H	-5,4098	-1,5728	0,1391
H	0,5183	-0,6019	0,3818
H	0,5722	3,7793	-1,9254
H	2,245	3,5958	-2,3925
H	2,1849	5,5983	-1,1646
H	2,9091	4,4488	-0,0343
H	4,2066	-2,9177	2,3547
H	3,7917	-3,8667	0,9305
H	5,3541	-4,1117	1,728
H	7,4529	-3,9557	0,9201
H	9,5622	-2,8815	1,7423
H	8,1606	-2,096	2,4957
H	-1,8439	-3,113	0,2688
H	-5,6175	-6,897	0,2602
H	-4,835	-7,008	-1,3201
H	-3,9087	-7,3944	0,1325
H	-6,6189	-2,3909	-1,5596
H	-8,1734	-3,2085	-0,9821
H	-1,5895	-0,9181	0,2483
H	-6,0711	2,0283	-0,2638
H	-6,2806	0,4128	-0,94

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
H	-6,2385	0,6384	0,8098
H	-4,5497	3,4631	-0,8125
H	-2,8462	3,685	-1,1509
H	-2,3874	3,7911	1,3486
H	-4,1107	3,5662	1,6452
H	-0,8701	5,6141	0,6212
H	-2,8665	7,1396	1,1795
H	4,1937	2,6031	-1,8452
H	4,478	0,1831	-2,5536
H	5,977	0,997	-2,073
H	4,7052	2,1603	-0,2245
H	8,314	-3,1518	-0,3921
H	9,0074	-1,3044	1,1508

Tabelle C2:

Optimierte Atom-Koordinaten für Agp1 18-Et-BV in der Konformation *ZZZ-asa*, bestimmt mit *Gaussian 09*[37] und entnommen aus der log-Datei.

Atom	X	Y	Z
H	-4,3181	-5,7736	0,6364
Cl	0,0691	-2,6901	0,1105
C	-0,2992	1,7888	-0,6587
H	-0,3894	2,8472	-0,8793
C	3,4859	-1,2476	-0,1881
H	2,8431	-2,1179	-0,0877
C	-3,5079	-1,7904	0,1291
H	-2,7121	-2,4344	0,4934
N	1,4582	0,053	-0,3544
H	0,8995	-0,7969	-0,1412
C	1,0186	1,3305	-0,6507
C	2,1978	2,1147	-0,9225
C	3,3011	1,2831	-0,775
C	2,8104	-0,0105	-0,4151
C	4,7537	1,6128	-0,9763
C	2,2459	3,5661	-1,3202
H	1,4188	3,8183	-1,9914
H	3,1589	3,7313	-1,9002

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*

Atom	X	Y	Z
C	2,2522	4,5721	-0,1321
H	2,679	5,5184	-0,485
H	2,8631	4,2004	0,6931
C	0,8692	4,8766	0,4039
O	0,4677	4,6183	1,5196
O	0,1066	5,4788	-0,5375
N	5,834	-0,4823	-0,1294
C	4,8346	-1,4448	-0,1138
C	5,4912	-2,7636	-0,031
C	6,834	-2,5728	-0,0095
C	7,092	-1,1085	-0,0427
C	4,7231	-4,0491	-0,0185
H	4,0363	-4,0945	0,8352
H	4,1109	-4,157	-0,9217
H	5,394	-4,9095	0,0418
C	7,966	-3,5507	0,0556
H	7,6092	-4,5538	-0,2032
C	8,6525	-3,5781	1,4356
H	9,4868	-4,2881	1,4333
H	7,9493	-3,8799	2,2197
O	8,1591	-0,5165	0,0006
N	-5,8094	-1,8806	-0,7815
H	-5,8356	-1,0037	-1,2789
C	-6,7762	-2,8717	-0,9962
C	-6,2376	-4,0983	-0,3478
C	-4,9996	-3,8229	0,1376
C	-4,6913	-2,405	-0,1501
C	-7,0414	-5,3559	-0,3169
H	-7,8516	-5,2865	0,421
H	-7,5185	-5,5243	-1,2885
H	-6,4304	-6,2271	-0,065
C	-4,0706	-4,7359	0,8866
H	-3,0387	-4,5769	0,551
C	-4,1406	-4,5526	2,4158
H	-3,8738	-3,5309	2,7048
H	-5,1494	-4,7579	2,7909
H	-3,4435	-5,2361	2,9116
O	-7,8209	-2,7153	-1,604
N	-1,7671	-0,1878	-0,2491
H	-1,0864	-0,9707	-0,24
C	-3,096	-0,4289	-0,0896

*Fortsetzung auf der nächsten Seite*



Atom	X	Y	Z
C	-3,7752	0,8296	-0,1231
C	-2,8068	1,8069	-0,3448
C	-1,529	1,1601	-0,4294
C	-5,234	1,0815	0,1409
H	-5,8261	1,1641	-0,7822
H	-5,675	0,286	0,7464
H	-5,3777	2,0219	0,6823
C	-3,0494	3,2898	-0,3651
H	-4,0456	3,488	-0,7765
H	-2,339	3,7945	-1,0276
C	-2,955	3,912	1,0572
H	-1,9274	3,8302	1,4307
H	-3,6158	3,3869	1,75
C	-3,3577	5,3655	1,079
O	-4,2966	5,8549	1,6551
O	-2,5131	6,1405	0,3153
H	-0,767	5,7009	-0,1411
H	-2,8365	7,059	0,3855
C	5,6816	0,9523	0,0551
H	5,0847	1,3156	-1,9813
H	6,6923	1,3596	-0,0261
H	5,3141	1,159	1,0695
H	4,9001	2,6967	-0,9103
H	8,711	-3,2709	-0,7002
H	9,0455	-2,5886	1,6871

Tabelle C3:

Dipolmomentvektoren der Carbonylstreckschwingungen  $C_{19}=O$  sowie  $C_1=O$  des Agp1 18-Et-BV in den Konformationen  $ZZZssa$  sowie  $ZZZasa$ , bestimmt mit *Gaussian 09*[37]. Sie wurden aus den log-Dateien entnommen und nachträglich normiert.

Mode	# log-Datei	X	Y	Z
$ssa\vec{\nu}_{C_{19}=O}$	200	0,973700	0,064337	-0,218550
$ssa\vec{\nu}_{C_1=O}$	201	0,250350	-0,967900	-0,022173
$asa\vec{\nu}_{C_{19}=O}$	204	0,996570	0,061379	0,055428
$asa\vec{\nu}_{C_1=O}$	205	0,921910	0,211120	0,324820



---

# Literaturverzeichnis

---

- [1] Jaguar 5.5, Schrödinger, L.L.C., Portland, OR, 1991-2003
- [2] ALBRECHT, Andreas C.: Polarizations and Assignments of Transitions: The Method of Photoselection. In: *Journal of Molecular Spectroscopy* 6 (1961), S. 84–108
- [3] ANDEL, Frank III ; LAGARIAS, J. C. ; MATHIES, Richard A.: Resonance Raman Analysis of Chromophore Structure in the Lumi-R Photoproduct of Phytochrome. In: *Biochemistry* 35 (1996), Dezember, Nr. 50, S. 15997–16008
- [4] ANDERSSON, Laura A. ; LOEHR, Thomas M. ; COTTON, Therese M. ; SIMPSON, Daniel J. ; SMITH, Kevin M.: Spectroscopic Analysis of Chlorophyll Model Complexes: Methyl Ester ClFe(III)Pheophorbides. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 974 (1989), S. 163–179
- [5] ANDREWS, David L. ; DEMIDOV, Andrey A.: *An Introduction to Laser Spectroscopy*. Springer, 2002
- [6] ANSARI, Anjum ; SZABO, Attila: Theory of Photoselection by Intense Light Pulses - Influence of Reorientational Dynamics and Chemical Kinetics on Absorbance Measurements. In: *Biophysical Journal* 64 (1993), März, S. 838–851
- [7] BASS, M. ; FRANKEN, P. A. ; HILL, A. E. ; PETERS, C. W. ; WEINREICH, G.: Optical Mixing. In: *Physical Review Letters* 8 (1962), Januar, Nr. 1, S. 18
- [8] BECKE, Axel D.: Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. In: *J. Chem. Phys.* 98 (1993), April, Nr. 7, S. 5648–5652
- [9] BENDERSKII, Alexander V. ; EISENTHAL, Kenneth B.: Aqueous Solvation Dynamics at the Anionic Surfactant Air/Water Interface. In: *J. Phys. Chem. B* 105 (2001), Mai, Nr. 28, S. 6698–6703
- [10] BITTL, Robert ; ZECH, Stephan G. ; FROMME, Petra ; WITT, Horst T. ; LUBITZ, Wolfgang: Pulsed EPR Structure Analysis of Photosystem I Single Crystals: Localization of the Phylloquinone Acceptor. In: *Biochemistry* 36 (1997), Oktober, Nr. 40, S. 12001–12004
- [11] BORUCKI, Berthold ; OTTO, Harald ; HEYN, Maarten P.: Linear Dichroism Measurements on Oriented Purple Membranes between Parallel Polarizers: Contribution

- of Linear Birefringence and Applications to Chromophore Isomerization. In: *J. Phys. Chem. B* 102 (1998), Februar, S. 3821–3829
- [12] BORUCKI, Berthold ; VON STETTEN, David ; SEIBECK, Sven ; LAMPARTER, Tilman ; MICHAEL, Norbert ; MROGINSKI, Maria A. ; OTTO, Harald ; MURGIDA, Daniel H. ; HEYN, Maarten P. ; HILDEBRANDT, Peter: Light-induced Proton Release of Phytochrome Is Coupled to the Transient Deprotonation of the Tetrapyrrole Chromophore. In: *Journal of Biological Chemistry* 280 (2005), Oktober, Nr. 40, S. 34358–34364
- [13] BOXER, Steven G.: Stark Realities. In: *J. Phys. Chem. B* 113 (2009), Januar, Nr. 10, S. 2972–2983
- [14] BOXER, Steven G. ; KUKI, Atsuo ; WRIGHT, Karen A. ; KATZ, Bradley A. ; XUONG, Nguyen H.: Oriented Properties of the Chlorophylls: Electronic Absorption Spectroscopy of Orthorhombic Pyrochlorophyllide *a*-Apomyoglobin Single Crystals. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (1982), Februar, S. 1121–1125
- [15] BOXER, Steven G. ; ROELOFS, Mark G.: Chromophore Organization in Photosynthetic Reaction Centers: High-Resolution Magnetophotoselection. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979), November, Nr. 11, S. 5636–5640
- [16] BRETON, Jacques: Fourier Transform Infrared Spectroscopy of Primary Electron Donors in Type I Photosynthetic Reaction Centers. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 1507 (2001), S. 180–193
- [17] BUBLITZ, Gerold ; KING, Brett A. ; BOXER, Steven G.: Electronic Structure of the Chromophore in Green Fluorescent Protein (GFP). In: *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998), August, Nr. 36, S. 9370–9371
- [18] BUTLER, W. L. ; NORRIS, K. H. ; SIEGELMAN, H. W. ; HENDRICKS, S. B.: Detection, Assay, and Preliminary Purification of the Pigment Controlling Photoresponsive Development of Plants. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 45 (1959), Dezember, Nr. 12, S. 1703–1708
- [19] CERULLO, Giulio ; DE SILVESTRI, Sandro: Ultrafast Optical Parametric Amplifiers. In: *Rev. Sci. Instrum.* 74 (2003), Januar, Nr. 1, S. 1–18
- [20] CHUANG, T. J. ; EISENTHAL, K. B.: Theory of Fluorescence Depolarization by Anisotropic Rotational Diffusion. In: *J. Chem. Phys.* 57 (1972), Dezember, Nr. 12, S. 5094–5097
- [21] CLARK, Noel A. ; ROTHSCHILD, Kenneth J. ; LUIPPOLD, David A. ; SIMON, Brett A.: Surface-Induces Lamellar Orientation of Multilayer Membrane Arrays - Theoretical Analysis and a New Method with Application to Purple Membrane Fragments. In: *Biophysical Journal* 31 (1980), Juli, S. 65–96

- [22] COTTON, T. M. ; LOACH, P. A. ; KATZ, J. J. ; BALLSCHMITER, K.: Studies of Chlorophyll-Chlorophyll and Chlorophyll-Ligand Interactions by Visible Absorption and Infrared Spectroscopy at Low Temperatures. In: *Photochemistry and Photobiology* 27 (1978), Juni, Nr. 6, S. 735–749
- [23] DEMTRÖDER: *Laserspektroskopie, Grundlagen und Techniken*. 5. Springer, 2007
- [24] DÜX, Petra ; RUBINSTENN, Gilles ; VUISTER, Geerten W. ; BOELENS, Rolf ; MULDER, Frans A. A. ; HÄRD, Karl ; HOFF, Wouter D. ; KROON, Arthur R. ; CRIELAARD, Wim ; HELLINGWERF, Klaas J. ; KAPTEIN, Robert: Solution Structure and Backbone Dynamics of the Photoactive Yellow Protein. In: *Biochemistry* 37 (1998), August, Nr. 37, S. 12689–12699
- [25] EARNEST, Thomas N. ; ROEPE, Paul ; BRAIMAN, Mark S. ; GILLESPIE, John ; ROTHSCHILD, Kenneth J.: Orientation of the Bacteriorhodopsin Chromophore Probed by Polarized Fourier Transform Infrared Difference Spectroscopy. In: *Biochemistry* 25 (1986), Oktober, S. 7793–7798
- [26] EHRENBERG, M. ; RIGLER, R.: Polarized Fluorescence and Rotational Brownian Motion. In: *Chemical Physics Letters* 14 (1972), Juli, Nr. 5, S. 539–544
- [27] ESSEN, Lars-Oliver ; MAILLIET, Jo ; HUGHES, Jon: The Structure of a Complete Phytochrome Sensory Module in the Pr Ground State. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105 (2008), September, Nr. 38, S. 14709–14714
- [28] FARRENS, David L. ; HOLT, Randall E. ; ROSPENDOWSKI, Bernard N. ; SONG, Pill S. ; COTTON, Therese M.: Surface-enhanced Resonance Raman Scattering (SERRS) Spectroscopy Applied to Phytochrome and its Model Compounds. 2. Phytochrome and Phycocyanin Chromophores. In: *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989), Dezember, Nr. 26, S. 9162–9169
- [29] FLUEGEL, B. ; PEYGHAMBARIAN, N. ; OLBRIGHT, G. ; LINDBERG, M. ; KOCH, S. W. ; JOFFRE, M. ; HULIN, D. ; MIGUS, A. ; ANTONETTI, A.: Femtosecond Studies of Coherent Transients in Semiconductors. In: *Physical Review Letters* 59 (1987), November, Nr. 22, S. 2588–2591
- [30] FOERSTENDORF, Harald ; BENDA, Christian ; GÄRTNER, Wolfgang ; STORF, Max ; SCHEER, Hugo ; SIEBERT, Friedrich: FTIR Studies of Phytochrome Photoreactions Reveal the C=O Bands of the Chromophore: Consequences for Its Protonation States, Conformation, and Protein Interaction. In: *Biochemistry* 40 (2001), November, Nr. 49, S. 14952–14959
- [31] FORESMAN, James B. ; FRISCH, Aileen: *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*. Second Edition. Pittsburgh, PA : Gaussian, Inc., 1996
- [32] FORK, R. L. ; SHANK, C. V. ; HIRLIMANN, C. ; YEN, R.: Femtosecond White-Light Continuum Pulses. In: *Optics Letters* 8 (1983), Januar, Nr. 1, S. 1–3

- [33] FRAGATA, M. ; NORDÉN, B. ; KURUCSEV, T.: Linear Dichroism (250-700 nm) of Chlorophyll *a* and Pheophytin *a* Oriented in a Lamellar Phase of Glycerolmono-octanoate/H<sub>2</sub>O. Characterization of Electronic Transitions. In: *Photochemistry and Photobiology* 47 (1988), Januar, Nr. 1, S. 133–143
- [34] FRANK, Harry A. ; BOLT, John ; FRIESNER, Richard ; SAUER, Kenneth: Magneto-photoselection of the Triplet State of Reaction Centers from Rhodospseudomonas Sphaeroides R-26. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 547 (1979), S. 502–511
- [35] FRANKEN, P. A. ; HILL, A. E. ; PETERS, C. W. ; WEINREICH, G.: Generation of Optical Harmonics. In: *Physical Review Letters* 7 (1961), August, Nr. 4, S. 118–119
- [36] FRISCH, M. J. ; TRUCKS, G. W. ; SCHLEGEL, H. B. ; SCUSERIA, G. E. ; ROBB, M. A. ; CHEESEMAN, J. R. ; MONTGOMERY, J. A. Jr. ; VREVEN, T. ; KUDIN, K. N. ; BURANT, J. C. ; MILLAM, J. M. ; IYENGAR, S. S. ; TOMASI, J. ; BARONE, V. ; MENNUCCI, B. ; COSSI, M. ; SCALMANI, G. ; REGA, N. ; PETERSSON, G. A. ; NAKATSUJI, H. ; HADA, M. ; EHARA, M. ; TOYOTA, K. ; FUKUDA, R. ; HASEGAWA, J. ; ISHIDA, M. ; NAKAJIMA, T. ; HONDA, Y. ; KITAO, O. ; NAKAI, H. ; KLENE, M. ; LI, X. ; KNOX, J. E. ; HRATCHIAN, H. P. ; CROSS, J. B. ; BAKKEN, V. ; ADAMO, C. ; JARAMILLO, J. ; GOMPERTS, R. ; STRATMANN, R. E. ; YAZYEV, O. ; AUSTIN, A. J. ; CAMMI, R. ; POMELLI, C. ; OCHTERSKI, J. W. ; AYALA, P. Y. ; MOROKUMA, K. ; VOTH, G. A. ; SALVADOR, P. ; DANNENBERG, J. J. ; ZAKRZEWSKI, V. G. ; DAPPRICH, S. ; DANIELS, A. D. ; STRAIN, M. C. ; FARKAS, O. ; MALICK, D. K. ; RABUCK, A. D. ; RAGHAVACHARI, K. ; FORESMAN, J. B. ; ORTIZ, J. V. ; CUI, Q. ; BABOUL, A. G. ; CLIFFORD, S. ; CIOSLOWSKI, J. ; STEFANOV, B. B. ; LIU, G. ; LIASHENKO, A. ; PISKORZ, P. ; KOMAROMI, I. ; MARTIN, R. L. ; FOX, D. J. ; KEITH, T. ; AL-LAHAM, M. A. ; PENG, C. Y. ; NANAYAKKARA, A. ; CHALLACOMBE, M. ; GILL, P. M. W. ; JOHNSON, B. ; CHEN, W. ; WONG, M. W. ; GONZALEZ, C. ; POPLE, J. A.: *Gaussian 03, Revision B.04*. – Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004
- [37] FRISCH, M. J. ; TRUCKS, G. W. ; SCHLEGEL, H. B. ; SCUSERIA, G. E. ; ROBB, M. A. ; CHEESEMAN, J. R. ; SCALMANI, G. ; BARONE, V. ; MENNUCCI, B. ; PETERSSON, G. A. ; NAKATSUJI, H. ; CARICATO, M. ; LI, X. ; HRATCHIAN, H. P. ; IZMAYLOV, A. F. ; BLOINO, J. ; ZHENG, G. ; SONNENBERG, J. L. ; HADA, M. ; EHARA, M. ; TOYOTA, K. ; FUKUDA, R. ; HASEGAWA, J. ; ISHIDA, M. ; NAKAJIMA, T. ; HONDA, Y. ; KITAO, O. ; NAKAI, H. ; VREVEN, T. ; MONTGOMERY, J. A. Jr. ; PERALTA, J. E. ; OGLIARO, F. ; BEARPARK, M. ; HEYD, J. J. ; BROTHERS, E. ; KUDIN, K. N. ; STAROVEROV, V. N. ; KOBAYASHI, R. ; NORMAND, J. ; RAGHAVACHARI, K. ; RENDELL, A. ; BURANT, J. C. ; IYENGAR, S. S. ; TOMASI, J. ; COSSI, M. ; REGA, N. ; MILLAM, J. M. ; KLENE, M. ; KNOX, J. E. ; CROSS, J. B. ; BAKKEN, V. ; ADAMO, C. ; JARAMILLO, J. ; GOMPERTS, R. ; STRATMANN, R. E. ; YAZYEV, O. ; AUSTIN, A. J. ; CAMMI, R. ; POMELLI, C. ; OCHTERSKI, J. W. ; MARTIN, R. L. ; MOROKUMA, K. ; ZAKRZEWSKI, V. G. ; VOTH, G. A. ; SALVADOR, P. ; DANNENBERG, J. J. ; DAPPRICH, S. ; DANIELS, A. D. ; FARKAS,

- Ö. ; FORESMAN, J. B. ; ORTIZ, J. V. ; CIOSLOWSKI, J. ; FOX, D. J.: *Gaussian 09, Revision A.1.* – Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2009
- [38] FUCALORO, Anthony F. ; FORSTER, Leslie S.: Stretched-Film Spectra and Transition Moments of Nucleic Acid Bases. In: *J. Am. Chem. Soc.* 93 (1971), Dezember, Nr. 24, S. 6443–6448
- [39] GREEN, Beverley R. ; PARSON, William W.: *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis.* P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands : Kluwer Academic Publishers, 2003
- [40] GROOT, Marie L. ; BRETON, Jacques ; VAN WILDEREN, Luuk J. G. W. ; DEKKER, Jan P. ; VAN GRONDELLE, Rienk: Femtosecond Visible/Visible and Visible/Mid-IR Pump-Probe Study of the Photosystem II Core Antenna Complex CP47. In: *J. Phys. Chem. B* 108 (2004), S. 8001–8006
- [41] GUENTHER, Tobias ; LIENAU, Christoph ; ELSAESSER, Thomas ; GLANEMANN, Markus ; AXT, Vollrath M. ; KUHN, Tilmann ; ESHLAGHI, Soheyla ; WIECK, Andreas D.: Coherent Nonlinear Optical Response of Single Quantum Dots Studied by Ultrafast Near-Field Spectroscopy. In: *Physical Review Letters* 89 (2002), Juli, Nr. 5, S. 057401
- [42] HAHN, Janina ; STRAUSS, Holger M. ; SCHMIEDER, Peter: Heteronuclear NMR Investigation on the Structure and Dynamics of the Chromophore Binding Pocket of the Cyanobacterial Phytochrome Cph1. In: *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008), Juli, Nr. 33, S. 11170–11178
- [43] HAMACHER, E. ; KRUIP, J. ; RÖGNER, M. ; MÄNTELE, W.: Characterization of the Primary Electron Donor of Photosystem I, P700, by Electrochemistry and Fourier Transform Infrared (FTIR) Difference Spectroscopy. In: *Spectrochimica Acta Part A* 52 (1996), S. 107–121
- [44] HAMM, P.: Coherent Effects in Femtosecond Infrared Spectroscopy. In: *Chemical Physics* 200 (1995), Juni, S. 415–429
- [45] HAMM, Peter ; LIM, Manho ; DEGRADO, William F. ; HOCHSTRASSER, Robin M.: The Two-Dimensional IR Nonlinear Spectroscopy of a Cyclic Penta-Peptide in Relation to its Three-Dimensional Structure. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999), März, Nr. 5, S. 2036–2041
- [46] HAMM, Peter ; LIM, Manho ; HOCHSTRASSER, Robin M.: Structure of the Amide I Band of Peptides Measured by Femtosecond Nonlinear-Infrared Spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. B* 102 (1998), Juni, Nr. 31, S. 6123–6138
- [47] HAMMAM, Mostafa A. S. ; MURATA, Yaue ; KINOSHITA, Hideki ; INOMATA, Katsuhiko: Synthesis of the Sterically Fixed Biliverdin Derivative Bearing the Z-anti C/D-Ring Component. In: *Chemistry Letters* 33 (2004), September, Nr. 10, S. 1258–1259

- [48] HAMMAM, Mostafa A. S. ; NAKAMURA, Hiroshi ; HIRATA, Yukari ; KHAWN, Htoi ; MURATA, Yasue ; KINOSHITA, Hideki ; INOMATA, Katsuhiko: Syntheses of Biliverdin Derivatives Sterically Locked at the CD-Ring Components. In: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 79 (2006), Oktober, Nr. 10, S. 1561–1572
- [49] HARIHARAN, P. C. ; POPLE, J. A.: The Influence of Polarization Functions on Molecular Orbital Hydrogenation Energies. In: *Theoret. chim. Acta (Berl.)* 28 (1973), S. 213–222
- [50] HEYNE, Karsten ; HERBST, Johannes ; STEHLIK, Dietmar ; ESTEBAN, Berta ; LAMPARTER, Tilman ; HUGHES, Jon ; DILLER, Rolf: Ultrafast Dynamics of Phytochrome from the Cyanobacterium *Synechocystis*, Reconstituted with Phycocyanobilin and Phycoerythrobilin. In: *Biophysical Journal* 82 (2002), Februar, Nr. 2, S. 1004–1016
- [51] HEYNE, Karsten ; MOHAMMED, Omar F. ; USMAN, Anwar ; DREYER, Jens ; NIBBERING, Erik T. J. ; CUSANOVICH, Michael A.: Structural Evolution of the Chromophore in the Primary Stages of Trans/Cis Isomerization in Photoactive Yellow Protein. In: *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005), Dezember, Nr. 51, S. 18100–18106
- [52] HOLMÉN, Anders: Vibrational Transition Moments of Aminopurines: Stretched Film IR Linear Dichroism Measurements and DFT Calculations. In: *J. Phys. Chem. A* 101 (1997), April, S. 4361–4374
- [53] HOLZWARTH, Alfred R. ; MÜLLER, Marc G. ; NIKLAS, Jens ; LUBITZ, Wolfgang: Ultrafast Transient Absorption Studies on Photosystem I Reaction Centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. 2: Mutations near the P700 Reaction Center Chlorophylls Provide New Insight into the Nature of the Primary Electron Donor. In: *Biophysical Journal* 90 (2006), Januar, Nr. 2, S. 552–565
- [54] HONDA, Teruyuki ; FUJII, Isao ; HIRAYAMA, Noriaki ; AOYAMA, Norihito ; MIIKE, Akira: An Orange Form of Coumarin 314. In: *Acta Cryst. C* 52 (1996), S. 395–397
- [55] HOUSSIER, Claude ; SAUER, Kenneth: Circular Dichroism and Magnetic Circular Dichroism of the Chlorophyll and Protochlorophyll Pigments. In: *J. Am. Chem. Soc.* 92 (1970), Februar, Nr. 4, S. 779–791
- [56] INOMATA, Katsuhiko ; HAMMAM, Mostafa A. S. ; KINOSHITA, Hideki ; MURATA, Yasue ; KHAWN, Htoi ; NOACK, Steffi ; MICHAEL, Norbert ; LAMPARTER, Tilman: Sterically Locked Synthetic Bilin Derivatives and Phytochrome Agp1 from *Agrobacterium tumefaciens* Form Photoinsensitive Pr- and Pfr-like Adducts. In: *Journal of Biological Chemistry* 280 (2005), Juli, Nr. 26, S. 24491–24497
- [57] INOMATA, Katsuhiko ; NOACK, Steffi ; HAMMAM, Mostafa A. S. ; KHAWN, Htoi ; KINOSHITA, Hideki ; MURATA, Yasue ; MICHAEL, Norbert ; SCHEERER, Patrick ; KRAUSS, Norbert ; LAMPARTER, Tilman: Assembly of Synthetic Locked



Chromophores with Agrobacterium Phytochromes Agp1 and Agp2. In: *Journal of Biological Chemistry* 281 (2006), September, Nr. 38, S. 28162–28173

- [58] ISAIENKO, Oleksandr ; BORGUET, Eric: Generation of Ultra-Broadband Pulses in the Near-IR by Non-Collinear Optical Parametric Amplification in Potassium Titanyl Phosphate. In: *Optics Express* 16 (2008), März, Nr. 6, S. 3949–3954
- [59] JOFFRE, M. ; HULIN, D. ; MIGUS, A. ; ANTONETTI, A. ; GUILLAUME, C. Benoit à ; PEYGHAMBARIAN, N. ; LINDBERG, M. ; KOCH, S. W.: Coherent Effects in Pump-Probe Spectroscopy of Excitons. In: *Optics Letters* 13 (1988), April, Nr. 4, S. 276–278
- [60] JOHNSON, J. R. ; JORDAN, K. D. ; PLUSQUELLIC, D. F. ; PRATT, D. W.: High Resolution  $S_1 \leftarrow S_0$  Fluorescence Excitation Spectra of the 1- and 2-Hydroxynaphthalenes. Distinguishing the *cis* and *trans* Rotamers. In: *J. Chem. Phys.* 93 (1990), Mai, Nr. 4, S. 2258
- [61] JOHNSON, Michael L.: Evaluation and Propagation of Confidence Intervals in Non-linear, Asymmetrical Variance Spaces. In: *Biophysical Journal* 44 (1983), Oktober, S. 101–106
- [62] JONAS, David M. ; LANG, Matthew J. ; NAGASAWA, Yutaka ; JOO, Taiha ; FLEMING, Graham R.: Pump-Probe Polarization Anisotropy Study of Femtosecond Energy Transfer within the Photosynthetic Reaction Center of Rhodospirillum rubrum R26. In: *J. Phys. Chem.* 100 (1996), Mai, S. 12660–12673
- [63] JONAS, I. ; FONTELL, K. ; LINDBLOM, G. ; NORDÉN, B.: Orientation Studies of Probe Molecules in Lamellar Liquid Crystalline Lipid Systems by Linear Dichroism. In: *Spectroscopy Letters* 10 (1977), Nr. 6, S. 501–506
- [64] KAINDL, Robert A. ; WURM, Matthias ; REIMANN, Klaus ; HAMM, Peter ; WEINER, Andrew M. ; WOERNER, Michael: Generation, Shaping, and Characterization of Intense Femtosecond Pulses Tunable from 3 to 20  $\mu\text{m}$ . In: *Journal of the Optical Society of America B Optical Physics* 17 (2000), Dezember, Nr. 12, S. 2086–2094
- [65] KARKI, Khadga ; ROCCATANO, Danilo: Molecular Dynamics Simulation Study of Chlorophyll a in Different Organic Solvents. In: *J. Chem. Theory Comput.* 7 (2011), Februar, S. 1131–1140
- [66] KÜHLBRANDT, Werner ; WANG, Da N. ; FUJIYOSHI, Yoshinori: Atomic Model of Plant Light-Harvesting Complex by Electron Crystallography. In: *Nature* 367 (1994), Februar, S. 614–621
- [67] KING, Brett A. ; DE WINTER, Alex ; MCANANEY, Tim B. ; BOXER, Steven G.: Excited State Energy Transfer Pathways in Photosynthetic Reaction Centers. 4. Asymmetric Energy Transfer in the Heterodimer Mutant. In: *J. Phys. Chem. B* 105 (2001), Februar, Nr. 9, S. 1856–1862

- [68] KLEIMA, Foske J. ; HOFMANN, Eckhard ; GOBETS, Bas ; VAN STOKKUM, Ivo H. M. ; VAN GRONDELLE, Rienk ; DIEDERICHS, Kay ; VAN AMERONGEN, Herbert: Förster Excitation Energy Transfer in Peridinin-Chlorophyll-*a*-Protein. In: *Biophysical Journal* 78 (2000), Januar, S. 344–353
- [69] KLENINA, I. B. ; BOROVYKH, I. V. ; SHKUROPATOV, A. Y. ; GAST, P. ; PROSKURYAKOV, I. I.: Orientation of the Q<sub>y</sub> Optical Transition Moment of Bacterio-*phytyl* in Rhodobacter sphaeroides Reaction Centers. In: *Chemical Physics* 294 (2003), November, Nr. 3, S. 451–458
- [70] KNEIP, Christa ; HILDEBRANDT, Peter ; SCHLAMANN, Willi ; BRASLAVSKY, Silvia E. ; MARK, Franz ; SCHAFFNER, Kurt: Protonation State and Structural Changes of the Tetrapyrrole Chromophore during the P<sub>r</sub>→P<sub>fr</sub> Phototransformation of Phytochrome: A Resonance Raman Spectroscopic Study. In: *Biochemistry* 38 (1999), Oktober, Nr. 46, S. 15185–15192
- [71] KOEFOD, Robert S. ; MANN, Kent R.: Common Emissive Intermediates in the Thermal and Photochemical Reactions of Nonemissive Cyclopentadienylruthenium(II) Complexes of Coumarin Laser Dyes. In: *Inorg. Chem.* 30 (1991), Mai, Nr. 9, S. 2221–2228
- [72] KOHN, W. ; SHAM, L. J.: Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. In: *Phys. Rev.* 140 (1965), November, Nr. 4A, S. A1133–A1138
- [73] KOKA, Prasad ; SONG, Pill-Soon: The Chromophore Topography and Binding Environment of Peridinin-Chlorophyll *a*-Protein Complexes from Marine Dinoflagellate Algae. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure* 495 (1977), Dezember, Nr. 2, S. 220–231
- [74] KONG, J. ; WHITE, C. A. ; KRYLOV, A. I. ; SHERRILL, D. ; ADAMSON, R. D. ; FURLANI, T. R. ; LEE, M. S. ; LEE, A. M. ; GWALTNEY, S. R. ; ADAMS, T. R. ; OCHSENFELD, C. ; GILBERT, A. T. B. ; KEDZIORA, G. S. ; RASSOLOV, V. A. ; MAURICE, D. R. ; NAIR, N. ; SHAO, Y. ; BESLEY, N. A. ; MASLEN, P. E. ; DOMBROSKI, J. P. ; DASCHEL, H. ; ZHANG, W. ; KORAMBATH, P. P. ; BAKER, J. ; BYRD, E. F. C. ; VAN VOORHIS, T. ; OUMI, M. ; HIRATA, S. ; HSU, C.-P. ; ISHIKAWA, N. ; FLORIAN, J. ; WARSHEL, A. ; JOHNSON, B. G. ; GILL, P. M. W. ; HEAD-GORDON, M. ; POPLE, J. A.: Q-Chem 2.0: A High-Performance *Ab Initio* Electronic Structure Program Package. In: *Journal of Computational Chemistry* 21 (2000), S. 1532–1548
- [75] LAKOWICZ, Joseph R.: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd. Springer, 2006
- [76] LAMPARTER, Tilman: Evolution of Cyanobacterial and Plant Phytochromes. In: *FEBS Letters* 573 (2004), Dezember, Nr. 1-3, S. 1–5

- [77] LAMPARTER, Tilman ; MICHAEL, Norbert ; MITTMANN, Franz ; ESTEBAN, Berta: Phytochrome from *Agrobacterium tumefaciens* Has Unusual Spectral Properties and Reveals an N-terminal Chromophore Attachment Site. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (2002), September, Nr. 18, S. 11628–11633
- [78] LAUER, Alexandra: *The Dual Photochemistry of Anthracene-9,10-endoperoxide: Exploring the Competing Ultrafast Photoinduced Reactions of a Model Aromatic Endoperoxide*, Freie Universität Berlin, Fachbereich Physik, Diss., 2010
- [79] LEE, Chengteh ; YANG, Weitao ; PARR, Robert G.: Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. In: *Phys. Rev. B* 37 (1988), Januar, Nr. 2, S. 785–789
- [80] LIM, M. ; JACKSON, T. A. ; ANFINRUD, P. A.: Binding of CO to Myoglobin from a Heme Pocket Docking Site to Form Nearly Linear Fe-C-O. In: *Science* 269 (1995), August, Nr. 5226, S. 962–966
- [81] LIM, Manho ; JACKSON, Timothy A. ; ANFINRUD, Philip A.: Orientational Distribution of CO before and after Photolysis of MbCO and HbCO: A Determination Using Time-Resolved Polarized Mid-IR Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), Nr. 25, S. 7946–7957
- [82] LINKE, Martin ; LAUER, Alexandra ; VON HAIMBERGER, Theodore ; ZACARIAS, Angelica ; HEYNE, Karsten: Three-Dimensional Orientation of the Q<sub>y</sub> Electronic Transition Dipole Moment within the Chlorophyll *a* Molecule Determined by Femtosecond Polarization Resolved VIS Pump-IR Probe Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008), Oktober, Nr. 45, S. 14904–14905
- [83] LINKE, Martin ; THEISEN, Moritz ; VON HAIMBERGER, Theodore ; MADJET, Mohamed El-Amine ; ZACARIAS, Angelica ; FIDDER, Henk ; HEYNE, Karsten: Determining the Three-Dimensional Electronic Transition Dipole Moment Orientation: Influence of an Isomeric Mixture. In: *ChemPhysChem* 11 (2010), April, Nr. 6, S. 1283–1288
- [84] LINKE, Martin ; YANG, Yang ; ZIENICKE, Benjamin ; HAMMAM, Mostafa A. S. ; VON HAIMBERGER, Theodore ; ZACARIAS, Angelica ; INOMATA, Katsuhiko ; LAMPARTER, Tilman ; HEYNE, Karsten: Electronic Transition and Heterogeneity of the Phytochrome Pr Absorption Band: An Angle Balanced Polarization Resolved Femtosecond VIS Pump - IR Probe Study. In: *Bearbeitung*
- [85] MADJET, M. E. ; ABDURAHMAN, A. ; RENGER, T.: Intermolecular Coulomb Couplings from *Ab Initio* Electrostatic Potentials: Application to Optical Transitions of Strongly Coupled Pigments in Photosynthetic Antennae and Reaction Centers. In: *J. Phys. Chem. B* 110 (2006), August, Nr. 34, S. 17268–17281
- [86] MAGAR, M. E.: *Data Analysis in Biochemistry and Biophysics*. New York and London : Academic Press, 1972

- [87] MAGDE, Douglas: Photoselection with Intense Laser Pulses. In: *J. Chem. Phys.* 68 (1978), April, Nr. 8, S. 3717–3733
- [88] MAIRESSE, Y ; HAESSLER, S ; FABRE, B ; HIGUET, J ; BOUTU, W ; BREGER, P ; CONSTANT, E ; DESCAMPS, D ; MÉVEL, E ; PETIT, S ; SALIÈRES, P: Polarization-Resolved Pump-Probe Spectroscopy with High Harmonics. In: *New Journal of Physics* 10 (2008), Februar, S. 025028
- [89] MAKER, P. D. ; TERHUNE, R. W. ; NISENOFF, M. ; SAVAGE, C. M.: Effects of Dispersion and Focusing on the Production of Optical Harmonics. In: *Physical Review Letters* 8 (1962), Januar, Nr. 1, S. 21–22
- [90] MATYSIK, Joerg ; HILDEBRANDT, Peter ; SCHLAMANN, Willi ; BRASLAVSKY, Silvia E. ; SCHAFFNER, Kurt: Fourier-Transform Resonance Raman Spectroscopy of Intermediates of the Phytochrome Photocycle. In: *Biochemistry* 34 (1995), August, Nr. 33, S. 10497–10507
- [91] MÜH, Frank ; RENGER, Thomas ; ZOUNI, Athina: Crystal Structure of Cyanobacterial Photosystem II at 3.0 Å resolution: A Closer Look at the Antenna System and the Small Membrane-Intrinsic Subunits. In: *Plant Physiology and Biochemistry* 46 (2008), März, Nr. 3, S. 238–264
- [92] MIEHLICH, Burkhard ; SAVIN, Andreas ; STOLL, Hermann ; PREUSS, Heinzwerner: Results Obtained with the Correlation Energy Density Functionals of Becke and Lee, Yang and Parr. In: *Chemical Physics Letters* 157 (1989), Mai, Nr. 3, S. 200–206
- [93] MITCHELL, D. M. ; MORGAN, P. J. ; PRATT, D. W.: Push-Pull Molecules in the Gas Phase: Stark-Effect Measurements of the Permanent Dipole Moments of *p*-Aminobenzoic Acid in Its Ground and Electronically Excited States. In: *J. Phys. Chem. A* 112 (2008), November, Nr. 49, S. 12597–12601
- [94] MOOG, Richard S. ; KUKI, Atsuo ; FAYER, M. D. ; BOXER, Steven G.: Excitation Transport and Trapping in a Synthetic Chlorophyllide Substituted Hemoglobin: Orientation of the Chlorophyll S<sub>1</sub> Transition Dipole. In: *Biochemistry* 23 (1984), Nr. 7, S. 1564–1571
- [95] MOORE, John N. ; HANSEN, Patricia A. ; HOCHSTRASSER, Robin M.: Iron-Carbonyl Bond Geometries of Carboxymyoglobin and Carboxyhemoglobin in Solution Determined by Picosecond Time-Resolved Infrared Spectroscopy. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 (1988), Juli, S. 5062–5066
- [96] MROGINSKI, Maria A. ; MURGIDA, Daniel H. ; VON STETTEN, David ; KNEIP, Christa ; MARK, Franz ; HILDEBRANDT, Peter: Determination of the Chromophore Structures in the Photoinduced Reaction Cycle of Phytochrome. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), Dezember, Nr. 51, S. 16734–16735

- [97] MUKAMEL, Shaul: *Principles of Nonlinear Optical Spectroscopy*. New York, Oxford : Oxford University Press, 1995
- [98] NAKAMURA, Keiji ; KOWAKI, Takashi ; SCULLY, Andrew D. ; HIRAYAMA, Satoshi: Quenching of Chlorophyll *a* Fluorescence by Oxygen in Highly Concentrated Solutions and Microdroplets. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 104 (1997), April, Nr. 1-3, S. 141–149
- [99] NEUTZE, Richard ; WOUTS, Remco ; VAN DER SPOEL, David ; WECKERT, Edgar ; HAJDU, Janos: Potential for Biomolecular Imaging with Femtosecond X-ray Pulses. In: *Nature* 406 (2000), Juni, S. 752–757
- [100] NGUYEN, Kim T. ; SHANG, Xiaoming ; EISENTHAL, Kenneth B.: Molecular Rotation at Negatively Charged Surfactant/Aqueous Interfaces. In: *J. Phys. Chem. B* 110 (2006), April, Nr. 40, S. 19788–19792
- [101] NIEDER, Jana B. ; BRECHT, Marc ; BITTL, Robert: Dynamic Intracomplex Heterogeneity of Phytochrome. In: *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009), Dezember, Nr. 1, S. 69–71
- [102] NIR, Eyal ; KLEINERMANN, Karl ; DE VRIES, Mattanjah S.: Pairing of Isolated Nucleic-Acid Bases in the Absence of the DNA Backbone. In: *Nature* 408 (2000), Dezember, S. 949–951
- [103] NJIMONA, Ibrahim ; LAMPARTER, Tilman: Temperature Effects on Agrobacterium Phytochrome Agp1. In: *PLoS ONE* 6 (2011), Oktober, Nr. 10, S. e25977
- [104] NUERNBERGER, Patrick ; LEE, Kevin F. ; BONVALET, Adeline ; POLACK, Thomas ; VOS, Marten H. ; ALEXANDROU, Antigoni ; JOFFRE, Manuel: Suppression of Perturbed Free-Induction Decay and Noise in Experimental Ultrafast Pump-Probe Data. In: *Optics Letters* 34 (2009), Oktober, Nr. 20, S. 3226–3228
- [105] OTTO, Harald ; HEYN, Maarten P.: Between the Ground- and M-State of Bacteriorhodopsin the Retinal Transition Dipole Moment Tilts out of the Plane of the Membrane by only 3°. In: *FEBS lett.* 293 (1991), November, Nr. 1,2, S. 111–114
- [106] OVIEDO, M. B. ; SÁNCHEZ, Cristián G.: Transition Dipole Moments of the Q<sub>y</sub> Band in Photosynthetic Pigments. In: *J. Phys. Chem. A* 115 (2011), Oktober, S. 12280–12285
- [107] PARR, Robert G. ; YANG, Weitao: *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. New York : Oxford University Press, 1989
- [108] PASCHOTTA, Rüdiger: *Encyclopedia of Laser Physics and Technology*. 1 edition. Wiley-VCH, 2008

- [109] PETERS, John W. ; LANZILOTTA, William N. ; LEMON, Brian J. ; SEEFELDT, Lance C.: X-ray Crystal Structure of the Fe-Only Hydrogenase (CpI) from *Clostridium Pasteurianum* to 1.8 Angstrom Resolution. In: *Science* 282 (1998), Dezember, Nr. 5395, S. 1853–1858
- [110] QUAIL, Peter H.: Phytochrome Photosensory Signaling Networks. In: *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3 (2002), Februar, S. 85–93
- [111] RAFFERTY, Charles N. ; CLAYTON, Roderick K.: The Orientations of Reaction Center Transition Moments in the Chromatophore Membrane of Rhodospseudomonas Sphaeroides, Based on New Linear Dichroism and Photoselection Measurements. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 546 (1979), S. 189–206
- [112] RASZEWSKI, Grzegorz ; RENGER, Thomas: Light Harvesting in Photosystem II Core Complexes Is Limited by the Transfer to the Trap: Can the Core Complex Turn into a Photoprotective Mode? In: *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008), März, Nr. 13, S. 4431–4446
- [113] RÜDIGER, W. ; THÜMMLER, F. ; CMIEL, E. ; SCHNEIDER, S.: Chromophore Structure of the Physiologically Active Form (Pfr) of Phytochrome. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80 (1983), Oktober, Nr. 20, S. 6244–6248
- [114] RENGER, Thomas ; MAY, Volkhard ; KÜHN, Oliver: Ultrafast Excitation Energy Transfer Dynamics in Photosynthetic Pigment-Protein Complexes. In: *Physics Reports* 343 (2001), März, Nr. 3, S. 137–254
- [115] REYNOLDS, G. A. ; DREXHAGE, K. H.: New Coumarin Dyes with Rigidized Structure for Flashlamp-Pumped Dye Lasers. In: *Optics Communications* 13 (1975), März, Nr. 3, S. 222–225
- [116] ROCKWELL, Nathan C. ; SU, Yi-Shin ; LAGARIAS, J. C.: Phytochrome Structure and Signaling Mechanisms. In: *Annu. Rev. Plant Biol.* 57 (2006), S. 837–858
- [117] ROELOFS, Theo A. ; LEE, Choon-Hwan ; HOLZWARTH, Alfred R.: Global Target Analysis of Picosecond Chlorophyll Fluorescence Kinetics from Pea Chloroplasts. In: *Biophysical Journal* 61 (1992), Mai, Nr. 5, S. 1147–1163
- [118] ROGL, Hans ; KÜHLBRANDT, Werner ; BARTH, Andreas: Light-Induced Changes in the Chemical Bond Structure of Light-Harvesting Complex II Probed by FTIR Spectroscopy. In: *Biochemistry* 42 (2003), S. 10223–10228
- [119] SAHYUN, M. R. V. ; SHARMA, D. K.: Photophysics of Rigidized 7-Aminocoumarin Laser Dyes: Efficient Intersystem Crossing from Higher Excited State. In: *Chemical Physics Letters* 189 (1992), Februar, Nr. 6, S. 571–576
- [120] SAZANOVICH, Igor V. ; GANZHA, Victor A. ; DZHAGAROV, Boris M. ; CHIRVONY, Vladimir S.: Dichroism of the Triplet-Triplet Transient Absorption of Copper(II)

Porphyrins in Liquid Solution. New Interpretation of the Subnanosecond Relaxation Component. In: *Chemical Physics Letters* 382 (2003), November, S. 57–64

- [121] SCHMIDT, Peter ; GENSCHE, Thomas ; REMBERG, Anja ; GÄRTNER, Wolfgang ; BRASLAVSKY, Silvia E. ; SCHAFFNER, Kurt: The Complexity of the P<sub>r</sub> to P<sub>fr</sub> Phototransformation Kinetics Is an Intrinsic Property of Native Phytochrome. In: *Photochemistry and Photobiology* 68 (1998), November, Nr. 5, S. 754–761
- [122] SCHOTTE, Friedrich ; LIM, Manho ; JACKSON, Timothy A. ; SMIRNOV, Aleksandr V. ; SOMAN, Jayashree ; OLSON, John S. ; PHILLIPS, JR., George N. ; WULFF, Michael ; ANFINRUD, Philip A.: Watching a Protein as it Functions with 150-ps Time-Resolved X-ray Crystallography. In: *Science* 300 (2003), Juni, Nr. 5627, S. 1944–1947
- [123] SCHUHMANN, Christian ; GROSS, Ruth ; MICHAEL, Norbert ; LAMPARTER, Tilman ; DILLER, Rolf: Sub-Picosecond Mid-Infrared Spectroscopy of Phytochrome Agp1 from *Agrobacterium tumefaciens*. In: *ChemPhysChem* 8 (2007), August, Nr. 11, S. 1657–1663
- [124] SÖDERMAN, Olle ; LINDBLOM, Göran ; JOHANSSON, Lennart B.-Å. ; FONTELL, Krister: The Structure of a Lyotropic Liquid Crystalline Phase that Orients in a Magnetic Field. In: *Mol. Cryst. Liq. Cryst* 59 (1980), August, S. 121–136
- [125] SHUVALOV, V. A. ; ASADOV, A. A.: Arrangement and Interaction of Pigment Molecules in Reaction Centers of *Rhodospseudomonas Viridis* – Photodichroism and Circular Dichroism of Reaction Centers at 100 K. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 545 (1979), S. 296–308
- [126] SINCLAIR, Wayne E. ; PRATT, David W.: Structure and Vibrational Dynamics of Aniline and Aniline-Ar from High Resolution Electronic Spectroscopy in the Gas Phase. In: *J. Chem. Phys.* 105 (1996), August, Nr. 18, S. 7942
- [127] SONG, Chen ; PSAKIS, Georgios ; LANG, Christina ; MAILLIET, Jo ; GÄRTNER, Wolfgang ; HUGHES, Jon ; MATYSIK, Jörg: Two Ground State Isoforms and a Chromophore D-ring Photoflip Triggering Extensive Intramolecular Changes in a Canonical Phytochrome. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108 (2011), März, Nr. 10, S. 3842–3847
- [128] SONG, Li ; EL-SAYED, M. A. ; LANYI, J. K.: Protein Catalysis of the Retinal Subpicosecond Photoisomerization in the Primary Process of Bacteriorhodopsin Photosynthesis. In: *Science* 261 (1993), August, Nr. 5123, S. 891–894
- [129] SPILLANE, Katelyn M. ; DASGUPTA, Jyotishman ; LAGARIAS, J. C. ; MATHIES, Richard A.: Homogeneity of Phytochrome Cph1 Vibronic Absorption Revealed by Resonance Raman Intensity Analysis. In: *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009), September, Nr. 39, S. 13946–13948

- [130] STEFFEN, Martin A. ; LAO, Kaiqin ; BOXER, Steven G.: Dielectric Asymmetry in the Photosynthetic Reaction Center. In: *Science* 264 (1994), Mai, Nr. 5160, S. 810–816
- [131] STEPHENS, P. J. ; DEVLIN, F. J. ; CHABALOWSKI, C. F. ; FRISCH, M. J.: *Ab Initio* Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. In: *J. Phys. Chem.* 98 (1994), November, Nr. 45, S. 11623–11627
- [132] SUNDSTRÖM, Villy ; PULLERITS, Tõnu ; VAN GRONDELLE, Rien: Photosynthetic Light-Harvesting: Reconciling Dynamics and Structure of Purple Bacterial LH2 Reveals Function of Photosynthetic Unit. In: *J. Phys. Chem. B* 103 (1999), März, Nr. 13, S. 2327–2346
- [133] SUYDAM, Ian T. ; SNOW, Christopher D. ; PANDE, Vijay S. ; BOXER, Steven G.: Electric Fields at the Active Site of an Enzyme: Direct Comparison of Experiment with Theory. In: *Science* 313 (2006), Juli, Nr. 5784, S. 200–204
- [134] SVERGUN, D. I. ; RICHARD, S. ; KOCH, M. H. J. ; SAYERS, Z. ; KUPRIN, S. ; ZACCAI, G.: Protein Hydration in Solution: Experimental Observation by X-ray and Neutron Scattering. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 (1998), März, Nr. 5, S. 2267–2272
- [135] THEISEN, Moritz: *Bestimmung des elektronischen Übergangsdipolmoments und der Konformation von Coumarin 314 in Acetonitril mit polarisationsaufgelöster fs-UV-Pump / IR-Probe Spektroskopie*, Freie Universität Berlin, Diplomarbeit, 2008
- [136] THEISEN, Moritz ; LINKE, Martin ; KERBS, Max ; FIDDER, Henk ; MADJET, Mohamed El-Amine ; ZACARIAS, Angelica ; HEYNE, Karsten: Femtosecond Polarization Resolved Spectroscopy: A Tool for Determination of the Three-Dimensional Orientation of Electronic Transition Dipole Moments and Identification of Configurational Isomers. In: *J. Chem. Phys.* 131 (2009), September, Nr. 12, S. 124511
- [137] TOH, K. C. ; STOJKOVIC, Emina A. ; VAN STOKKUM, Ivo H. M. ; MOFFAT, Keith ; KENNIS, John T. M.: Proton-transfer and Hydrogen-bond Interactions Determine Fluorescence Quantum Yield and Photochemical Efficiency of Bacteriophytochrome. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107 (2010), Mai, Nr. 20, S. 9170–9175
- [138] TSIEN, Roger Y.: The Green Fluorescent Protein. In: *Annual Review of Biochemistry* 67 (1998), Juli, S. 509–544
- [139] VAN THOR, Jasper J. ; FISHER, Nicholas ; RICH, Peter R.: Assignments of the Pfr-Pr FTIR Difference Spectrum of Cyanobacterial Phytochrome Cph1 Using  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  Isotopically Labeled Phycocyanobilin Chromophore. In: *J. Phys. Chem. B* 109 (2005), Oktober, Nr. 43, S. 20597–20604



- [140] VAN THOR, Jasper J. ; RONAYNE, Kate L. ; TOWRIE, Michael: Formation of the Early Photoproduct Lumi-R of Cyanobacterial Phytochrome Cph1 Observed by Ultrafast Mid-Infrared Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007), Nr. 1, S. 126–132
- [141] VAN WILDEREN, Luuk J. G. W. ; LINCOLN, Craig N. ; VAN THOR, Jasper J.: Modelling Multi-Pulse Population Dynamics from Ultrafast Spectroscopy. In: *PLoS ONE* 6 (2011), März, Nr. 3, S. e17373
- [142] VAN ZANDVOORT, M. A. M. J. ; WRÓBEL, D. ; LETTINGA, P. ; VAN GINKEL, G. ; LEVINE, Y. K.: The Orientation of the Transition Dipole Moments of Chlorophyll *a* and Pheophytin *a* in their Molecular Frame. In: *Photochemistry and Photobiology* 62 (1995), August, Nr. 2, S. 299–308
- [143] VERMEGLIO, A. ; BRETON, J. ; PAILLOTIN, G. ; COGDELL, R.: Orientation of Chromophores in Reaction Centers of Rhodospseudomonas Sphaeroides: A Photo-selection Study. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 501 (1978), S. 514–530
- [144] VON STETTEN, David ; GÜNTHER, Mina ; SCHEERER, Patrick ; MURGIDA, Daniel H. ; MROGINSKI, Maria A. ; KRAUSS, Norbert ; LAMPARTER, Tilman ; ZHANG, Junrui ; ANSTROM, David M. ; VIERSTRA, Richard D. ; FOREST, Katrina T. ; HILDEBRANDT, Peter: Chromophore Heterogeneity and Photoconversion in Phytochrome Crystals and Solution Studied by Resonance Raman Spectroscopy. In: *Angewandte Chemie International Edition* 47 (2008), Juni, Nr. 25, S. 4753–4755
- [145] VON STETTEN, David ; GÜNTHER, Mina ; SCHEERER, Patrick ; MURGIDA, Daniel H. ; MROGINSKI, Maria A. ; KRAUSS, Norbert ; LAMPARTER PROF., Tilman ; ZHANG, Junrui ; ANSTROM, David M. ; VIERSTRA PROF., Richard D. ; FOREST PROF., Katrina T. ; HILDEBRANDT PROF., Peter: Chromophore Heterogeneity and Photoconversion in Phytochrome Crystals and Solution Studied by Resonance Raman Spectroscopy. In: *Angewandte Chemie International Edition* 47 (2008), Juni, Nr. 25, S. 4753–4755
- [146] WAGNER, Jeremiah R. ; ZHANG, Junrui ; BRUNZELLE, Joseph S. ; VIERSTRA, Richard D. ; FOREST, Katrina T.: High Resolution Structure of Deinococcus Bacteriophytochrome Yields New Insights into Phytochrome Architecture and Evolution. In: *Journal of Biological Chemistry* 282 (2007), April, Nr. 16, S. 12298–12309
- [147] WIEDERRECHT, Gary P. ; SVEC, Walter A. ; NIEMCZYK, Mark P. ; WASIELEWSKI, Michael R.: Femtosecond Transient Grating Studies of Chlorophylls and a Chlorophyll-Based Electron Donor-Acceptor Molecule. In: *J. Phys. Chem.* 99 (1995), März, S. 8918–8926
- [148] YANG, Xiaojing ; STOJKOVIC, Emina A. ; KUK, Jane ; MOFFAT, Keith: Crystal Structure of the Chromophore Binding Domain of an Unusual Bacteriophytochrome

- me, RpBphP3, Reveals Residues that Modulate Photoconversion. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104 (2007), Juli, Nr. 30, S. 12571–12576
- [149] YANG, Yang ; JONES, Dagmar ; VON HAIMBERGER, Theodore ; LINKE, Martin ; WAGNERT, Linn ; BERG, Alexander ; LEVANON, Haim ; ZACARIAS, Angelica ; MAHAMMED, Atif ; GROSS, Zeev ; HEYNE, Karsten: Assignment of Aluminum Corroles Absorption Bands to Electronic Transitions by Femtosecond Polarization Resolved VIS-Pump IR-Probe Spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. A* 116 (2012), Januar, Nr. 3, S. 1023–1029
- [150] YANG, Yang ; LINKE, Martin ; HEYNE, Karsten: Cph1. In: *Bearbeitung*
- [151] YANG, Yang ; LINKE, Martin ; VON HAIMBERGER, Theodore ; HAHN, Janina ; MATUTE, Ricardo ; GONZÁLEZ, Leticia ; SCHMIEDER, Peter ; HEYNE, Karsten: Real-time Tracking of Phytochrome's Orientational Changes During Pr Photoisomerization. In: *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012), Januar, Nr. 3, S. 1408–1411
- [152] YIP, Boon-Chuan ; FUN, Hoong-Kun ; SIVAKUMAR, K. ; ZHOU, Zhong-Yuan ; SHAWKATALY, Omar B. ; TEOH, Siang-Guan: Coumarin 314. In: *Acta Cryst. C* 51 (1995), S. 956–958
- [153] ZIENICKE, Benjamin ; CHEN, Li-Yi ; KHAWN, Htoi ; HAMMAM, Mostafa A. S. ; KINOSHITA, Hideki ; REICHERT, Johannes ; ULRICH, Anne S. ; INOMATA, Katsuhiko ; LAMPARTER, Tilman: Fluorescence of Phytochrome Adducts with Synthetic Locked Chromophores. In: *Journal of Biological Chemistry* 286 (2011), Januar, Nr. 2, S. 1103–1113
- [154] ZIMDARS, David ; DADAP, J. I. ; EISENTHAL, Kenneth B. ; HEINZ, T. F.: Anisotropic Orientational Motion of Molecular Adsorbates at the Air-Water Interface. In: *J. Phys. Chem. B* 103 (1999), April, Nr. 17, S. 3425–3433

## Danksagung

PROF. DR. KARSTEN HEYNE für das entgegengebrachte Vertrauen und der eröffneten Gelegenheit, sich in der Arbeitsgruppe mit dem Promotionsthema befassen zu können. Die Betreuung, Förderung und unkomplizierte Finanzierung gewährten mir Freiräume, welche überhaupt erst die Abhandlung der Arbeit ermöglichten.

PROF. DR. ROBERT BITTL für die Erlaubnis meine Proben mit dem UV/Vis Spektrometer charakterisieren zu können sowie der Übernahme des Zweitgutachtens.

PROF. DR. TILMAN LAMPARTER und PROF. DR. KATSUHIKO INOMATA für die Bereitstellung der Phytochrome.

DR. HENK FIDDER für die kritischen Diskussionen bei der Interpretation der berechneten Ergebnisse, sowie der Anregungen bei der Entwicklung geeigneter Vorgehensweisen, diese zu erlangen. Die anregenden Gespräche zu Themen fernab der Physik habe ich sehr geschätzt.

ANGELICA ZACARIAS und DR. MOHAMED EL-AMINE MADJET für die Unterstützung meiner Arbeit durch theoretische Berechnungen der Moleküle und der damit verbundenen Nutzung leistungsfähigerer Rechner, als mir persönlich zur Verfügung standen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen ehemaligen und aktuellen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe sowie den Labornachbarn bedanken, die mich auf meinem Weg begleitet haben und stets für eine angenehme Atmosphäre sorgten. Insbesondere danke ich DAGMAR JONES für die Unterstützung während der Nachtmessungen und Gespräche über Gott und die Welt; GEROME WEILAND für die Unterstützung und Ablenkung gleichermaßen, immer zum rechten Zeitpunkt; TOM RUBIN und TILL STENSITZKI für die kompetente Hilfe bei der Programmierung; YANG YANG für ihr gutes Auge bei der Justage, der Unterstützung bei diversen Messreihen und dafür dass sie immer anderer Meinung war; THEODORE VON HAIMBERGER für die Arbeit am Messprogramm und Hilfe jeglicher Art sowie FALK KÖNIGSMANN, der sogar dann mit mir Essen ging, wenn ich einmal keinen Hunger hatte.

MEINER FAMILIE danke ich für den fortwährenden Beistand.

# Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht  
enthalten.

## Liste der Publikationen

### 2008

LINKE, Martin ; LAUER, Alexandra ; von HAIMBERGER, Theodore ; ZACARIAS, Angelica ; HEYNE, Karsten: Three-Dimensional Orientation of the  $Q_y$  Electronic Transition Dipole Moment within the Chlorophyll *a* Molecule Determined by Femtosecond Polarization Resolved VIS Pump-IR Probe Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008), Oktober, Nr. 45, S. 14904-14905

### 2009

THEISEN, Moritz ; LINKE, Martin ; KERBS, Max ; FIDDER, Henk ; MADJET, Mohamed E-Amine ; ZACARIAS, Angelica ; HEYNE, Karsten: Femtosecond Polarization Resolved Spectroscopy: A Tool for Determination of the Three-Dimensional Orientation of Electronic Transition Dipole Moments and Identification of Configurational Isomers. In: *J. Chem. Phys.* 131 (2009), September, Nr. 12, S. 124511

### 2010

LINKE, Martin ; THEISEN, Moritz ; von HAIMBERGER, Theodore ; MADJET, Mohamed El-Amine ; ZACARIAS, Angelica ; FIDDER, Henk ; HEYNE, Karsten: Determining the Three-Dimensional Electronic Transition Dipole Moment Orientation: Influence of an Isomeric Mixture. In: *ChemPhysChem* 11 (2010), April, Nr. 6, S. 1283-1288

### 2012

YANG, Yang ; JONES, Dagmar ; von HAIMBERGER, Theodore ; LINKE, Martin ; WAGNERT, Linn ; BERG, Alexander ; LEVANON, Haim ; ZACARIAS, Angelica ; MAHAMMED, Atif ; GROSS, Zeev ; HEYNE, Karsten: Assignment of Aluminum Corroles Absorption Bands to Electronic Transitions by Femtosecond Polarization Resolved VIS-Pump IR-Probe Spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. A* 116 (2012), Januar, Nr. 3, S. 1023-1029

YANG, Yang ; LINKE, Martin ; von HAIMBERGER, Theodore ; HAHN, Janina ; MATUTE, Ricardo ; GONZÁLEZ, Leticia ; SCHMIEDER, Peter ; HEYNE, Karsten: Real-time Tracking of Phytochrome's Orientational Changes During  $P_r$  Photoisomerization. In: *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012), Januar, Nr. 3, S. 1408-1411

## In Bearbeitung

LINKE, Martin ; YANG, Yang ; ZIENICKE, Benjamin ; HAMMAM, Mostafa A. S. ; von HAIMBERGER, Theodore ; ZACARIAS, Angelica ; INOMATA, Katsuhiko ; LAMPARTER, Tilman ; HEYNE, Karsten: Electronic Transition and Heterogeneity of the Phytochrome P<sub>r</sub> Absorption Band: An Angle Balaced Polarization Resolved Femtosecond VIS Pump - IR Probe Study. In: *Bearbeitung*

YANG, Yang ; LINKE, Martin ; von HAIMBERGER, Theodore ; HAHN, Janina ; MATUTE, Ricardo ; GONZÁLEZ, Leticia ; SCHMIEDER, Peter ; HEYNE, Karsten: Pre-twisting of the Phytochrome Chromophore Enables Optimized Quantum Yield of P<sub>r</sub> Photoisomerization. In: *Bearbeitung*

# Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit eigenständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Ich versichere, dass diese Arbeit in dieser oder anderer Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt wurde.

Berlin, den

---

(Martin Linke)