

# 6 Charakterisierung der roten Zustände

## 6.1 Einleitung

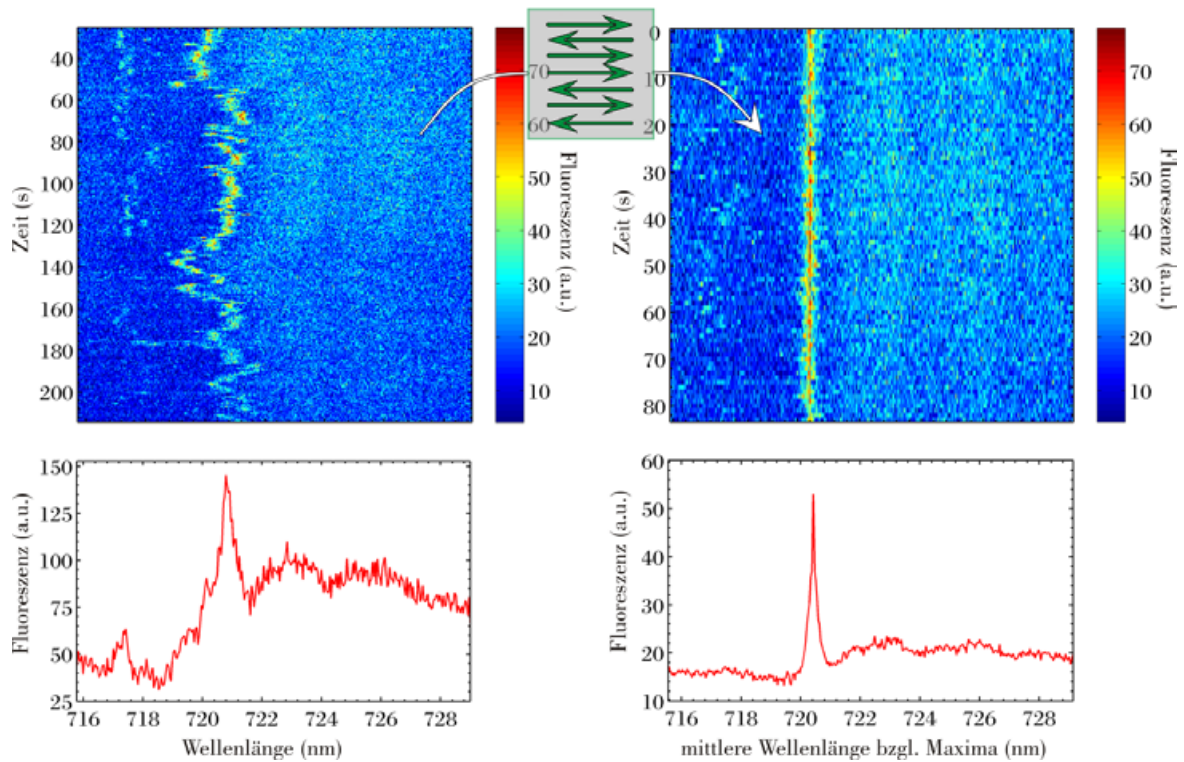
Die Einzelmolekül-Spektroskopie bietet die einmalige Gelegenheit, Chromophore frei von der Mittelung über die Inhomogenität eines Ensembles zu studieren. Wie im Kapitel 5 ausführlich behandelt wurde, führen jedoch Veränderungen in der Umgebung des Chromophors zu Variationen der lokalen Wechselwirkungen, was Fluktuationen der optischen Übergangsenergie bewirkt. Das Einzelmolekül-Signal ist daher nur frei von Mittelungen, wenn jeder einzelne Emissionsakt unter exakt den gleichen Bedingungen stattfindet, was bei einem an eine Proteinmatrix gebundenen Chromophor nach Abschnitt 5.3 unmöglich erscheint. Die Fluktuationen erschweren die Bestimmung der homogenen Linienform. Bei der vielfach zur Untersuchung von Photosynthese-Aggregaten angewendeten Methode des nicht-photochemischen Lochbrennens (NPHB) wird nicht nur über ein Ensemble gemittelt, sondern zusätzlich auch über die Zeit. Die bisher in der Literatur gesammelten Informationen über die Elektron-Phonon-Kopplung der roten Zustände im PS I stammen aus Simulationen an NPHB-Spektren. Eine Übersicht über die Methode bietet die Ref. [Jan93]. Zur Beschreibung wurde das in Abschnitt 2.2.4 skizzierte Modell benutzt. Danach setzt sich die Linienform eines gebundenen Pigments bei tiefer Temperatur aus einer schmalen Linie, die vom rein elektronischen Übergang herrührt und Null-Phononen-Linie (ZPL) genannt wird, und einer begleiteten breiteren Bande zusammen, die durch die Kopplung des elektronischen Übergangs an die vibronischen Freiheitsgrade des Proteins zustande kommt und als Schwingungsseitenbande (PSB) bezeichnet wird [Reb70]. Als Maß für die Elektron-Phonon-Kopplungsstärke wird aus den Simulationen der Huang-Rhys-Faktor  $S$  gewonnen. Aus ihm lassen sich mögliche Mechanismen ableiten, die für die starke Rotverschiebung der roten Zustände im PS I verantwortlich sind. Um die in der Literatur mit der Zeit häufig korrigierten Werte für  $S$ , wie z.B. in den Ref. [Gob98, Rät00], zu überprüfen, wird in den folgenden Abschnitten ein Auswerteverfahren zum Ausgleich von spektraler Diffusion dazu genutzt, um aus Spektrensequenzen einzelner PS I-Komplexe spektrale Profile von roten Zuständen nahe der homogenen Linienformen zu exzerpieren. Diese werden dann, basierend auf dem Modell aus Abschnitt 2.2.4, simuliert. Die überraschenden Ergebnisse bei den PS I von *T. elongatus*, *Synechocystis* und *Synechococcus* sp. PCC 7002 werden anschließend hinsichtlich möglicher Kopplungsmechanismen

interpretiert. Im zweiten Teil wird anhand des Korrelationsverhaltens zwischen Emissionsbanden in verschiedenen gegenüber P700 rotverschobenen Regionen untersucht, ob die unterschiedlichen roten Chlorophyll-Verbände über Energietransfer (ET) miteinander in Verbindung stehen. Mittels einer Polarisationsanalyse werden am PS I der Spezies *T. elongatus* zusätzlich die Winkel der zugehörigen Übergangsdipolmomente zueinander bestimmt. Die Winkelbeziehung bietet Aufschluss darüber, ob ein direkter ET zwischen zwei roten Zuständen innerhalb eines Monomers mit den Ergebnissen aus Ref. [Pål96] vereinbar ist. Dort wurde festgestellt, dass bei einer Anregung mit linear polarisiertem Licht mit einer Wellenlänge von  $\sim 708$  nm die Polarisation der Fluoreszenz einen großen Anteil enthält, der nicht der Polarisation des eingestrahnten Lichts entspricht.

## 6.2 Bestimmung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke aus der Linienform

Aus der homogenen Linienform eines Emitters können wichtige Parameter bestimmt werden, die sowohl Eigenschaften der Proteinbindungstasche enthalten als auch die Kopplungsstärke zwischen dem optischen Übergang des Pigments und den vibronischen Freiheitsgraden des Proteins. Im Abschnitt 5.3 wurde gezeigt, dass die Anregung von PS I-Komplexen durch Lichteinstrahlung zu einer Verstärkung der spektralen Diffusion führt. Diese Dynamik verhindert, dass in der Fluoreszenz direkt die homogene Linienform eines roten Zustands ermittelt werden kann. Ein größeres Problem stellt die spektrale Durchmischung der Emissionsbeiträge von mehreren roten Zuständen dar. Bei den betroffenen Komplexen kann nicht entschieden werden, welcher Fluoreszenzanteil zu einer ZPL gehört, d.h. die Spektren dieser Komplexe sind zur Bestimmung der homogenen Linienform ungeeignet. Glücklicherweise ergab sich bei einigen Komplexen, dass nach einer gewissen Belichtungszeit einer der roten Zustände in einen Dunkelzustand fiel, so dass die einem zweiten roten Zustand überlagerten Emissionen ausblieben. Zudem konnte die spektrale Dynamik, deren Fluktuationsrate  $\tau_{\text{fluk}}^{-1}$  kleiner als die Messrate  $\tau_{\text{exp}}^{-1}$  war, messtechnisch direkt erfasst werden, wie aus Kapitel 5 ausführlich hervorging. In Abbildung 6.1 wird erklärt, wie dieser „langsame“ Teil der spektralen Diffusion einer ZPL nachträglich eliminiert werden kann, denn das Signal-zu-Rausch-Verhältnis eines einzigen über  $\tau_{\text{exp}} = 1$  s akkumulierten Spektrums bietet nicht die Möglichkeit für eine eindeutige Simulation. Der oben links gezeigte Ausschnitt einer Spektrensequenz eines individuellen PS I-Komplexes von *Synechocystis* zeigt eine springende ZPL bei  $\bar{\lambda} \simeq 720,5$  nm, die nach dem Photo-bleichen einer breiten überlagerten Fluoreszenzbande übrig geblieben ist. Die durch die spektrale Diffusion verbreiterte ZPL ist aus der zeitlichen Projektion darunter ersichtlich. Mittels des im Abschnitt 5.2.1 beschriebenen Algorithmus wurde in der Spektrensequenz nach lokalen Maxima gesucht. Dabei wurde für diese Anwendung das Kriterium steiler Flanken auf beiden Seiten des jeweiligen ZPL-Maximums verschärft, so dass nur Spektren mit möglichst schmaler ZPL selektiert wurden. Die selektierten Spektren wurden

## 6.2 Bestimmung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke aus der Linienform



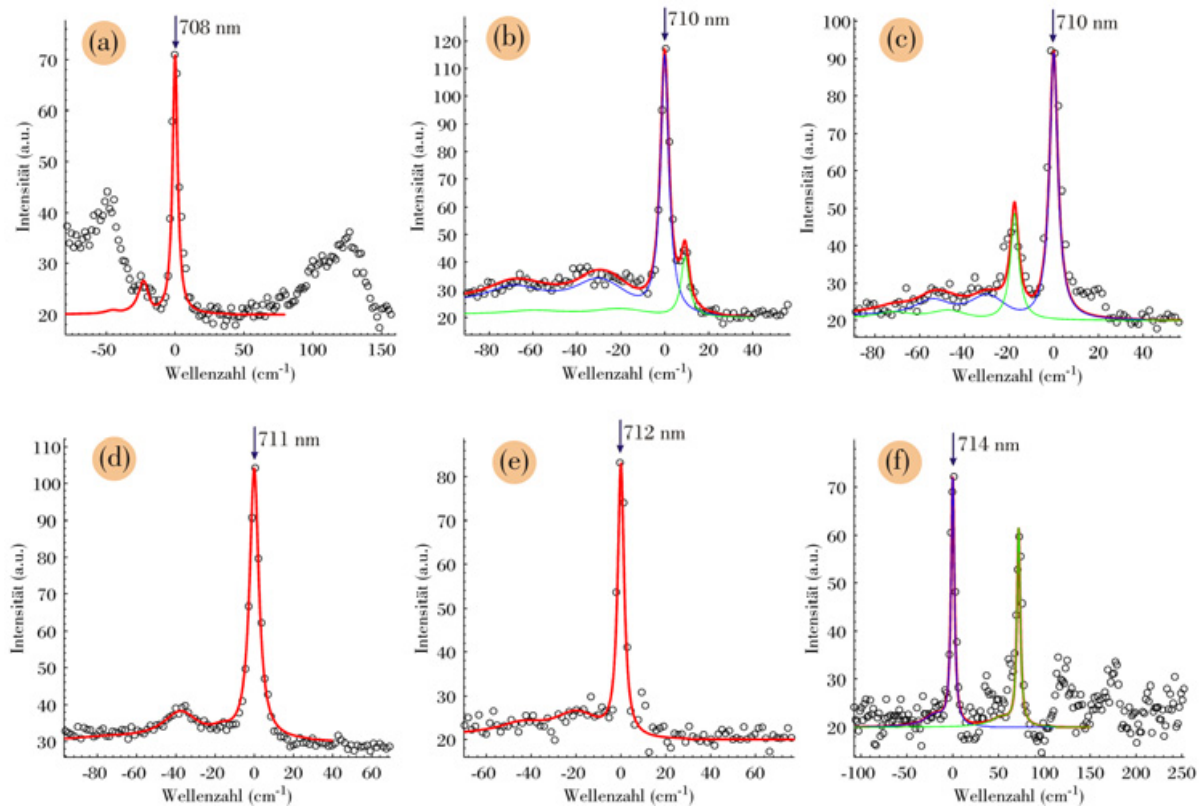
**Abbildung 6.1:** Methode zur Eliminierung der spektralen Diffusion mit  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} < \tau_{\text{exp}}^{-1}$ , um einen spektralen Verlauf möglichst nahe der natürlichen Linienform der ZPLs zu erhalten. **Links:** Ausschnitt aus einer Spektrensequenz der Emission eines einzelnen PS I-Komplexes von *Synechocystis*. Darunter ist die zugehörige zeitliche Projektion dargestellt. **Rechts:** Mittels des in Abschnitt 5.2.1 beschriebenen Algorithmuses wurde in der Spektrensequenz nach lokalen Maxima gesucht, auf deren mittleren spektralen Position die selektierten Spektren übereinander geschoben wurden. Darunter wird das resultierende Summenspektrum gezeigt.

auf der mittleren spektralen Maximum-Position der ZPLs übereinander geschoben. In der darunter dargestellten zeitlichen Projektion wird durch dieses Verfahren eine spektrale Linienform erzielt, die der homogenen Linienform des roten Zustands bei gutem Signal-zu-Rausch-Verhältnis am nächsten liegt.

### 6.2.1 Elektron-Phonon-Kopplung beim PS I von *T. elongatus*

Individuelle ZPLs wurden aus den Spektrensequenzen einzelner PS I-Komplexe der Spezies *T. elongatus* selektiert, die möglichst spektral von anderen Fluoreszenzbanden isoliert auftraten. Die einzelnen Spektren wurden nach dem im einleitenden Abschnitt erläuterten Verfahren gegeneinander verschoben, um den Teil der spektralen Diffusion mit  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} < \tau_{\text{exp}}^{-1}$  zu eliminieren, wobei die spektrale Linienform in den einzelnen Spektren unverändert blieb. In Abbildung 6.2 werden sechs solcher Datensätze von Linien in der spektralen Region um 708 nm gezeigt, die sich in ca. 15 % der Fälle exzerpieren lassen.

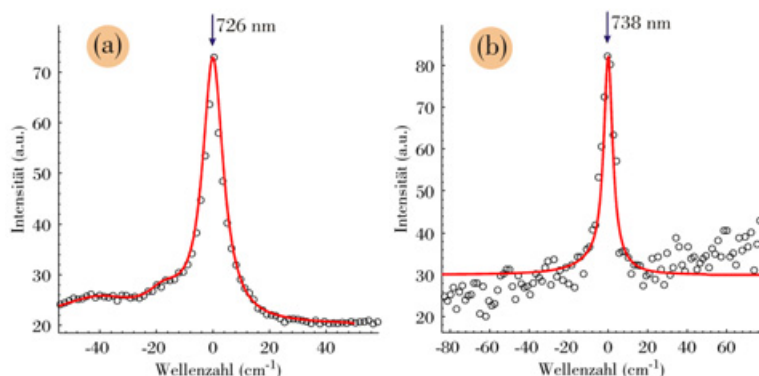
## 6 Charakterisierung der roten Zustände



**Abbildung 6.2:** Simulationen der Linienformen verschiedener ZPLs im spektralen Bereich um 708 nm beim PS I von *T. elongatus*. Die Datensätze wurden durch das im einleitenden Abschnitt erläuterte Verfahren selektiert und bearbeitet. Aufgetragen wurde jeweils die Intensität im Energieabstand vom Maximum in Wellenzahlen. Die durchgezogenen, farbigen Linien markieren jeweils Simulationen, die gemäß der Theorie im Abschnitt 2.2.4 zur Linienform berechnet wurden. Der verwendete Algorithmus wurde von Prof. V. Zazubovich zur Verfügung gestellt.

Die mittleren Wellenlängen der Maxima der ZPLs sind eingetragen. Aufgetragen wurde jeweils die Intensität im Energieabstand vom Maximum in Wellenzahlen. Die durchgezogenen, farbigen Linien markieren jeweils Simulationen. Im Abschnitt 2.2.4 wurde hierfür ausführlich vorgerechnet, wie man in linearer Näherung unter Berücksichtigung der vibronischen Bewegung im Protein mit der Annahme einer lorentzförmigen Spektraldichte eine iterative Lösung für die Linienform erhält. Unter den gleichen Annahmen ist in der Arbeitsgruppe von Prof. F. G. Small ein Simulationsalgorithmus zur Beschreibung der Linienform von Lochbrennspektren vom PS I entstanden. Der Original-Quellcode wurde mir freundlicherweise von Prof. V. Zazubovich zur Verfügung gestellt. Dieses Programm wurde mit nur einigen leichten Modifikationen zur Simulation der durch das Verschiebungsverfahren erhaltenen Einzelmolekül-Spektren verwendet, so dass ein direkter Vergleich von resultierenden Ergebnissen mit publizierten Ergebnissen, die mit der Methode des Lochbrenns erzielt wurden, sinnvoll erscheint.

## 6.2 Bestimmung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke aus der Linienform



**Abbildung 6.3:** Simulationen der Linienformen verschiedener ZPLs in der spektralen Region  $> 719$  nm beim PS I von *T. elongatus*. Die Abbildung wurde analog zur Beschreibung in Abb. 6.2 erstellt.

Die Datensätze (b) und (d) stammen von Proben in  $D_2O$ -Puffer. In den Datensätzen (b), (c) und (f) wurden jeweils zwei Realisierungen der ZPLs angenommen und in der Simulation berücksichtigt. Alle Parameter der Simulationen für beide Realisierungen sind jeweils identisch. Der Unterschied besteht ausschließlich in verschiedenen Gewichtungen. Die Spektren in den Bildern (c), (e) und (f) zeigen noch weitere Realisierungen bei höheren Energien, die in der Simulation vernachlässigt wurden. In Auftragung (a) werden auf beiden Seiten der ZPL um  $-55\text{ cm}^{-1}$  und  $125\text{ cm}^{-1}$  breitere Strukturen beobachtet, die jeweils spitz zulaufen. Bei diesen bleibt unklar, ob derselbe rote Zustand sie emittiert oder zu ihnen beigetragen hat, d.h. spektrale Fluktuationen der Linienform aus ZPL und PSB zu beiden Seiten sind denkbar. Bei beiden fällt eine Asymmetrie auf, dass jeweils die höherenergetische Flanke steiler ist. Das Einbeziehen der Bande bei  $-50\text{ cm}^{-1}$  in die Simulation führt zu untypischen Parametern, die nicht sinnvoll erscheinen, d.h. eine zweite stärker fluktuierende Realisierung der ZPL oder Bande anderen Ursprungs wird als wahrscheinlicher angenommen als die Zugehörigkeit zur Schwingungsseitenbande (PSB). Die Parameter der Simulationen (a) – (f) sind im oberen Abschnitt der Tabelle 6.1 zusammengestellt. Die Huang-Rhys-Faktoren  $S = S_1 + S_2$  der Zustände, die in der Region um  $708\text{ nm}$  emittieren, liegen im Bereich zwischen  $0,2 - 1,1$ . Je größer der Huang-Rhys-Faktor, desto mehr Intensität fällt auf die PSB ab. Der mittlere Huang-Rhys-Faktor beträgt hier  $S = 0,54$ . Der Wert  $\bar{\omega}_1$  gibt die mittlere Frequenz der breiten Verteilung von niederfrequenten Vibronen im Protein an, auf die die Kopplung des elektronischen Übergangs begrenzt ist [Red92, Hay94, May00].  $\bar{\omega}_1$  variiert zwischen  $17 - 30\text{ cm}^{-1}$ . Der optische Übergang koppelt zusätzlich an eine Mode  $\bar{\omega}_2$  an, die der Modulation der Pigment-Pigment-Wechselwirkung durch die intermolekulare Schwingungsbewegung zugeordnet wird [Red93]. Sie liegt zwischen  $20 - 70\text{ cm}^{-1}$ . Die Breiten beider PSB-Profile  $\Gamma_1$  und  $\Gamma_2$  nehmen Werte zwischen  $5 - 25\text{ cm}^{-1}$  an. Die Größe  $L$  aus der letzten Spalte der Tabelle gibt die Breite einer Lorentzkurve an, mit der die simulierte Linienform zusätzlich insgesamt gefaltet wurde. Die Notwendigkeit dieser Faltung wird durch die schnellen Fluktuationen mit Raten  $> 1\text{ s}^{-1}$  begründet, die das gesamte Linienprofil innerhalb der Akkumulationszeit eines einzelnen Spektrums spektral verschieben. Diese Verschiebungen sind lorentzförmig verteilt, d.h. im Ergebnis werden die Datenpunkte gut durch eine zusätzliche Lorentzverbreiterung beschrieben, während die Annahme einer Gaußverbrei-

## 6 Charakterisierung der roten Zustände

**Tabelle 6.1:** Zusammenstellung der Parameter der Simulationen aus den Abbildungen 6.2 und 6.3. Der Huang-Rhys-Faktor ergibt sich jeweils zu  $S = S_1 + S_2$ .  $\bar{\omega}_1$  entspricht der mittleren Schwingungsfrequenz,  $\gamma$  der Linienbreite der ZPL,  $\Gamma_1$  der Breite des PSB-Profiles,  $\bar{\omega}_2$  der Frequenz der *special pair* kennzeichnenden Mode,  $\Gamma_2$  der zugehörigen Breite und  $L$  der Breite einer Lorentzkurve, mit der die Linienform zusätzlich insgesamt gefaltet wurde. (s. Text für Details.)

ZPL	$\bar{\lambda}$ (nm)	$S_1$	$\gamma$ (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{\omega}_1$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Gamma_1$ (cm <sup>-1</sup> )	$S_2$	$\bar{\omega}_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Gamma_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$L$ (cm <sup>-1</sup> )
(a)	708	0,22	0,5	23	5	%	%	%	4,0
(b)	710	0,70	0,5	30	25	0,40	70	25	4,0
(c)	710	0,30	0,5	30	15	0,25	54	15	4,1
(d)	711	0,04	0,5	17	6	0,45	38	15	5,0
(e)	712	0,50	0,5	20	20	0,20	20	20	3,0
(f)	714	0,20	0,5	20	20	%	%	%	4,0
(a)	726	0,12	0,5	18	7	0,33	41	27	8,0
(b)	738	0,20	0,5	5	20	%	%	%	5,0

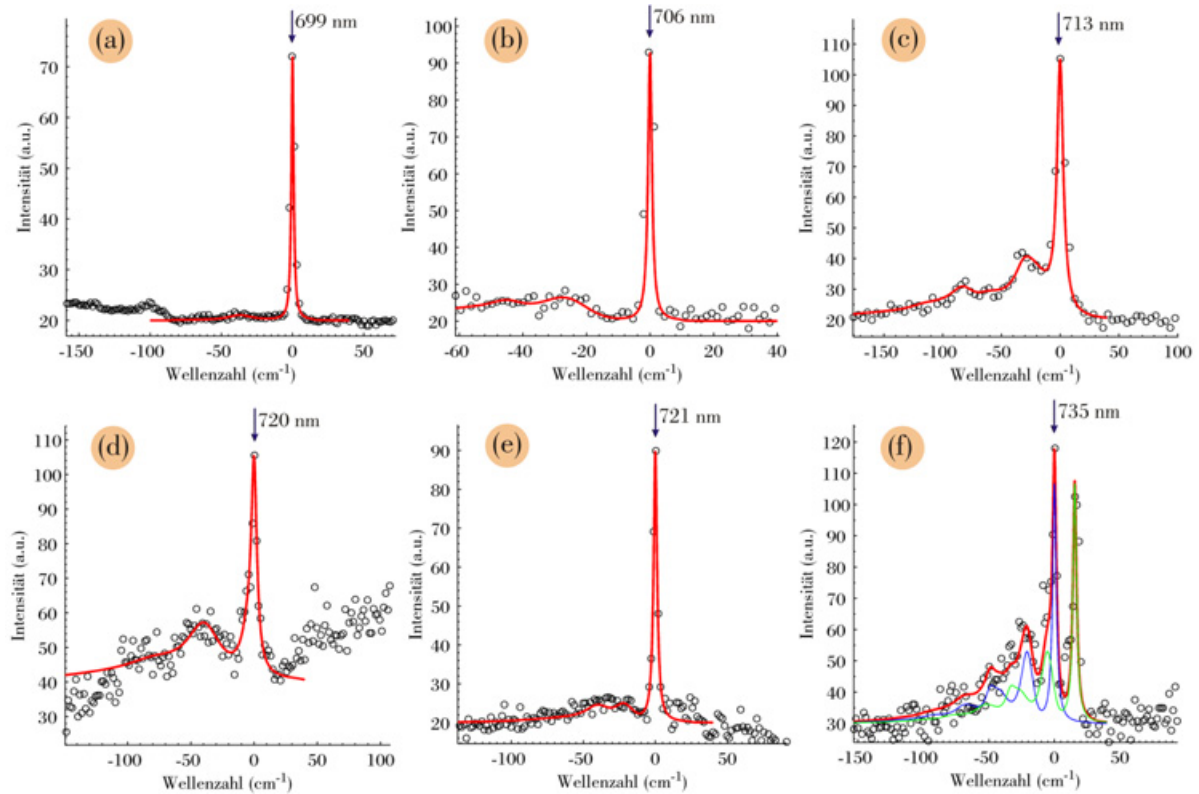
terung zu keiner guten Anpassung führt. Die Parameter der in D<sub>2</sub>O-Puffer präparierten Probe zeigen keine auffälligen Abweichungen.

Die Abbildung 6.3 zeigt in Analogie zur Abbildung 6.2 entsprechende Simulationen für zwei rote Zustände, die in der Region  $> 719$  nm emittiert haben. In diesem Spektralbereich sind nur ca. 5 % der ZPLs zur Bestimmung der Linienform geeignet, weshalb sich die Auswertung auf zwei Spektren konzentriert. Die ZPL im Bild (a) stammt von einer Probe in D<sub>2</sub>O-Puffer und zeigt ihr Maximum bei 726 nm. Der zugehörige Huang-Rhys-Faktor beträgt  $S = 0,45$ . Der Datensatz im Bild (b) stammt aus der Spektrensequenz in Abbildung 5.1. Die für die Simulation genutzten Spektren wurden aus dem Zeitbereich der ersten 10 s selektiert. Die mittlere spektrale Position der ZPL befindet sich in dieser Zeit bei 738 nm. Der zugehörige Huang-Rhys-Faktor liegt bei maximal  $S = 0,20$ . Alle Parameter der beiden Simulationen (a) und (b) sind in Tabelle 6.1 im unteren Abschnitt aufgeführt. Im Fall (b) wird die kleine mittlere Schwingungsfrequenz  $\bar{\omega}_1 = 5$  cm<sup>-1</sup> und der von Null verschiedene Huang-Rhys-Faktor dazu genutzt, um die leichte Asymmetrie der Linienform der ZPL auszugleichen. Bei der Wahl eines typischen Werts für  $\bar{\omega}_1$  von ca.  $\sim 20$  cm<sup>-1</sup> wird die beste Anpassung der Simulation durch  $S = 0$  erreicht. Insbesondere auch im stark rotverschobenen Bereich werden demnach elektronische Übergänge gefunden, die nur schwach an die vibronischen Freiheitsgrade im Protein koppeln.

### 6.2.2 Elektron-Phonon-Kopplung beim PS I von *Synechocystis*

Analog zur Prozedur im vorigen Abschnitt wurden für individuelle ZPLs aus Spektrensequenzen einzelner PS I-Komplexe der Spezies *Synechocystis* Datensätze herausgearbei-

## 6.2 Bestimmung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke aus der Linienform

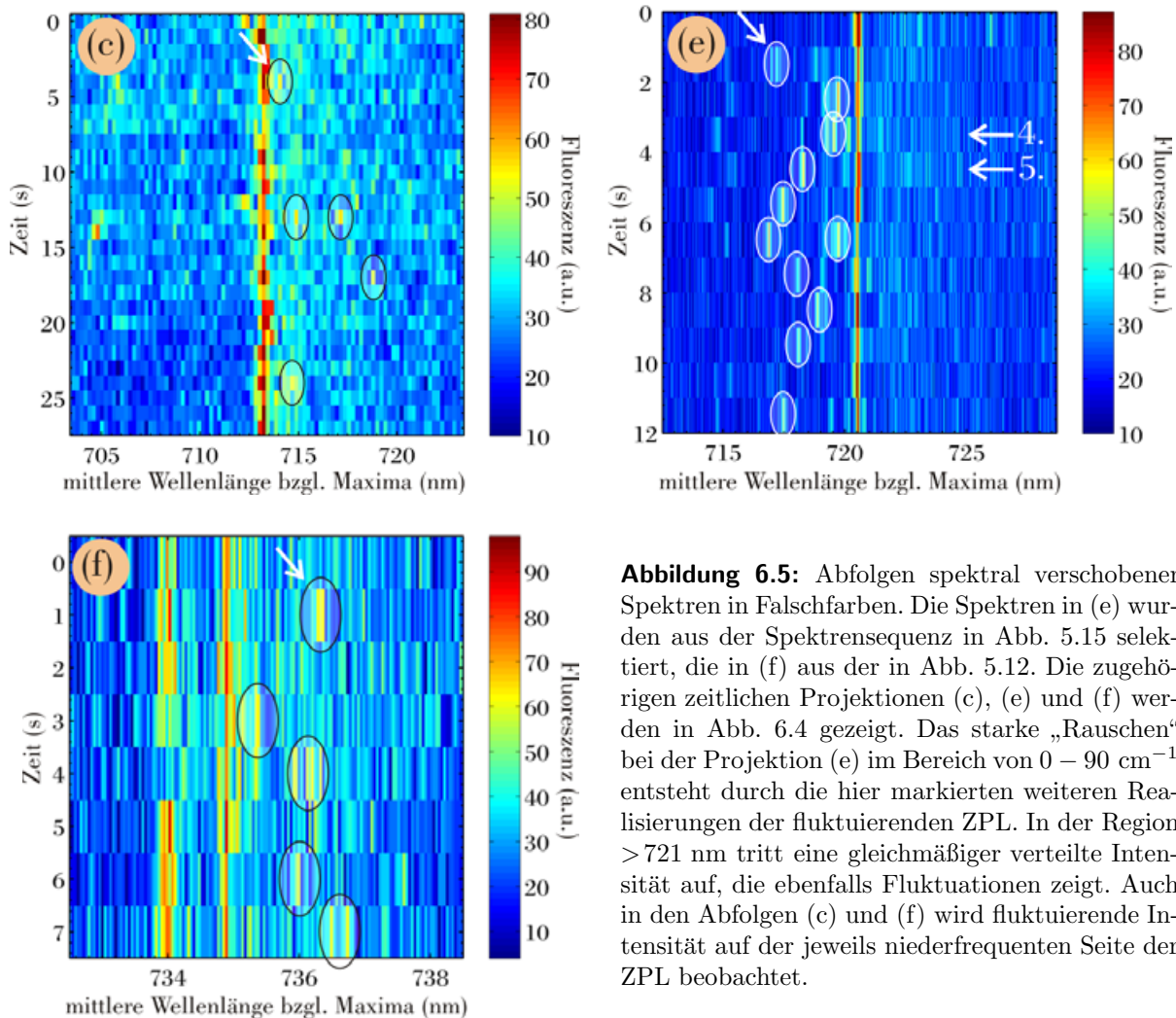


**Abbildung 6.4:** Simulationen der Linienformen verschiedener ZPLs im spektralen Bereich von 699 – 735 nm beim PS I von *Synechocystis*. Die Datensätze wurden durch das im einleitenden Abschnitt erläuterte Verfahren selektiert und bearbeitet. Aufgetragen wurde jeweils die Intensität im Energieabstand vom Maximum in Wellenzahlen. Die durchgezogenen, farbigen Linien markieren jeweils Simulationen, die gemäß der Theorie im Abschnitt 2.2.4 zur Linienform berechnet wurden. Der verwendete Algorithmus wurde von Prof. V. Zazubovich zur Verfügung gestellt.

tet, um die spektrale Linienform zu bestimmen. In Abbildung 6.4 sind sechs Datensätze dargestellt, bei denen die mittleren Wellenlängen der Maxima der ZPLs weit über den gesamten roten Spektralbereich streuen. Im Gegensatz zum PS I von *T. elongatus* sind die Spektren vom PS I von *Synechocystis* in H<sub>2</sub>O-Puffer aufgrund der stärkeren spektralen Dynamik und den häufigen spektralen Überschneidungen von Fluoreszenzbeiträgen zur Simulation der Linienform schlechter geeignet. Die dargestellten Datensätze (a) – (f) stammen daher von Proben in D<sub>2</sub>O-Puffer. Die Simulationen sind mit farbigen Linien eingezeichnet. Im Datensatz (f) wurden in der Simulation zwei Realisierungen der ZPL berücksichtigt. Die zugehörige Spektrenfolge wird in Abbildung 5.12 gezeigt, wobei die selektierten Spektren aus dem vergrößert dargestellten Zeitbereich stammen.

In Abbildung 6.5 werden die gegeneinander verschobenen Spektren gezeigt, die in ihren zeitlichen Projektionen die Datensätze (c), (e) und (f) ergeben. Die Spektren im Bild (f) wurden aus der Sequenz in Abbildung 5.15 selektiert. Zwischen 716 – 720 nm sind weitere Realisierungen der ZPL markiert, die in der Projektion (e) zwischen 0 – 90 cm<sup>-1</sup>

## 6 Charakterisierung der roten Zustände



**Abbildung 6.5:** Abfolgen spektral verschobener Spektren in Falschfarben. Die Spektren in (e) wurden aus der Spektrensequenz in Abb. 5.15 selektiert, die in (f) aus der in Abb. 5.12. Die zugehörigen zeitlichen Projektionen (c), (e) und (f) werden in Abb. 6.4 gezeigt. Das starke „Rauschen“ bei der Projektion (e) im Bereich von  $0 - 90 \text{ cm}^{-1}$  entsteht durch die hier markierten weiteren Realisierungen der fluktuierenden ZPL. In der Region  $> 721 \text{ nm}$  tritt eine gleichmäßiger verteilte Intensität auf, die ebenfalls Fluktuationen zeigt. Auch in den Abfolgen (c) und (f) wird fluktuierende Intensität auf der jeweils niederfrequenten Seite der ZPL beobachtet.

einen stark unebenen spektralen Verlauf hervorrufen. Ohne diese zusätzlichen Aufenthalte der ZPL innerhalb der Akquisitionszeit wäre der Verlauf der zugehörigen Projektion in dieser Region glatt wie z.B. der im Bild (a) der Abbildung 6.4. Betrachtet man nun den Bereich  $> 721 \text{ nm}$ , fällt ebenfalls eine spektrale Dynamik auf. Die Intensität in dieser Region ist jedoch gleichmäßiger verteilt. Die Form der Schwingungsseitenbande (PSB) in der Projektion (e) entsteht durch die zeitliche Mittelung über diese Fluktuationen. Vergleicht man z.B. das vierte mit dem fünften Spektrum im Bild (e) der Abbildung 6.5, wird ersichtlich, dass sich die im Bereich  $> 721 \text{ nm}$  gemessene Intensitätsverteilung ändert und auch der Abstand vom Maximum der Verteilung zur ZPL variiert. Ein ähnliches Verhalten wird auch bei den Datensätzen (b), (c) und (f) festgestellt, wobei die Abfolgen von gegeneinander verschobenen Spektren, die den Projektionen (c) und (f) zugrunde liegen, ebenfalls in der Abbildung 6.5 gezeigt werden. Durch die zeitliche Mittelung über jeweils mehrere Spektren wird die Dynamik in der PSB bei den Simulationen berücksichtigt. Keine oder zu kurze Mittelung führt zu „ausgedünnten“ Datensätzen, aus deren



## 6.2 Bestimmung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke aus der Linienform

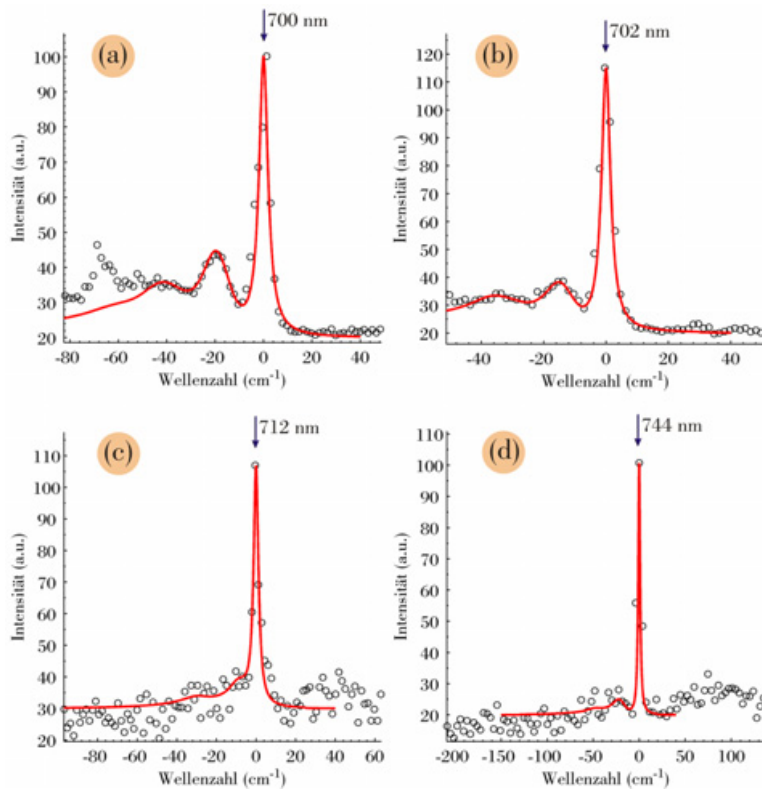
**Tabelle 6.2:** Zusammenstellung der Parameter der Simulationen aus Abb. 6.4. Der Huang-Rhys-Faktor ergibt sich jeweils zu  $S = S_1 + S_2$ .  $\bar{\omega}_1$  entspricht der mittleren Schwingungsfrequenz,  $\gamma$  der Linienbreite der ZPL,  $\Gamma_1$  der Breite des PSB-Profiles,  $\bar{\omega}_2$  der Frequenz der *special pair* kennzeichnenden Mode,  $\Gamma_2$  der zugehörigen Breite und  $L$  der Breite einer Lorentzkurve, mit der die Linienform zusätzlich insgesamt gefaltet wurde. (s. Abschnitt 6.2.1 für Details.)

ZPL	$\bar{\lambda}$ (nm)	$S_1$	$\gamma$ (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{\omega}_1$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Gamma_1$ (cm <sup>-1</sup> )	$S_2$	$\bar{\omega}_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Gamma_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$L$ (cm <sup>-1</sup> )
(a)	699	%	0,5	%	%	0,20	37	18	1,5
(b)	706	0,90	0,5	27	18	0,35	45	12	1,0
(c)	713	0,80	0,5	30	25	0,28	83	14	6,0
(d)	720	0,25	0,5	5	5	1,10	39	25	5,0
(e)	721	0,23	0,5	22	12	0,35	40	18	2,5
(f)	735	0,80	0,5	21	8	0,25	49	6	3,0

Simulation insbesondere abweichende Parameter für  $\bar{\omega}_1$ ,  $\Gamma_1$ ,  $\bar{\omega}_2$  und  $\Gamma_2$  hervorgehen.

In Tabelle 6.2 sind die Parameter der Simulationen (a) – (f) zusammengestellt. Eine Übersicht über die einzelnen Größen wurde im Abschnitt 6.2.1 gegeben. Die Parameter im oberen Teil gehören zu ZPLs in der Region  $< 714$  nm. Beim Datensatz (a) lässt sich im typischen Energieabstand von bis zu  $30 \text{ cm}^{-1}$  von der ZPL keine PSB feststellen, d.h. der Huang-Rhys-Faktor  $S_1$  ist Null oder nahezu Null bzw. die Kopplung des elektronischen Übergangs an niederfrequente Schwingungen des Proteins ist vernachlässigbar gering. Dabei ist anzumerken, dass die ZPL innerhalb der Messzeit von ca. 250 s nur dreimal gesprungen ist: zweimal auf eine Position bei ca.  $\bar{\nu}_{\text{ZPL}} + 10 \text{ cm}^{-1}$  und einmal auf eine bei ca.  $\bar{\nu}_{\text{ZPL}} - 10 \text{ cm}^{-1}$ , wobei die Positionen jeweils für ca. 3 s eingenommen wurden. Im Abstand von  $37 \text{ cm}^{-1}$  befindet sich das Maximum einer schwachen Bande, die durch einen kleinen Huang-Rhys-Faktor  $S_2$  von maximal 0,2 beschrieben wird. Im Fall (b) und (c) mit ZPLs bei 706 nm und 713 nm ergeben sich Huang-Rhys-Faktoren von  $S = 1,25$  und  $S = 1,08$ . Im unteren Teil der Tabelle sind die Parameter der ZPLs in der Region  $> 714$  nm aufgeführt. Der zum Datensatz (d) zugehörige Huang-Rhys-Faktor beträgt  $S = 1,35$ . Bei der Simulation wurde der Anteil mit  $\bar{\omega}_1$  nur zum Ausgleich der Asymmetrie der ZPL verwendet. Des Weiteren ist unklar, in wie weit das Linienprofil von einem weiteren Fluoreszenzbeitrag beeinflusst wird. Für die Simulation der Linienform im Bild (e) wurde  $S = 0,58$  gesetzt. Beim Datensatz (f) ergibt sich bei der dargestellten Simulation für  $S = 1,05$ . Insbesondere in der Darstellung (f) in Abbildung 6.5 kann der Entstehung der durch die Simulation beschriebenen PSB mit ihrem Maximum bei  $-21 \text{ cm}^{-1}$  ( $\hat{=} -\bar{\omega}_1$ ) verfolgt werden. In wie weit zusätzlich Fluktuationen der ZPL zur Intensität der PSB beitragen bleibt unklar.

## 6 Charakterisierung der roten Zustände



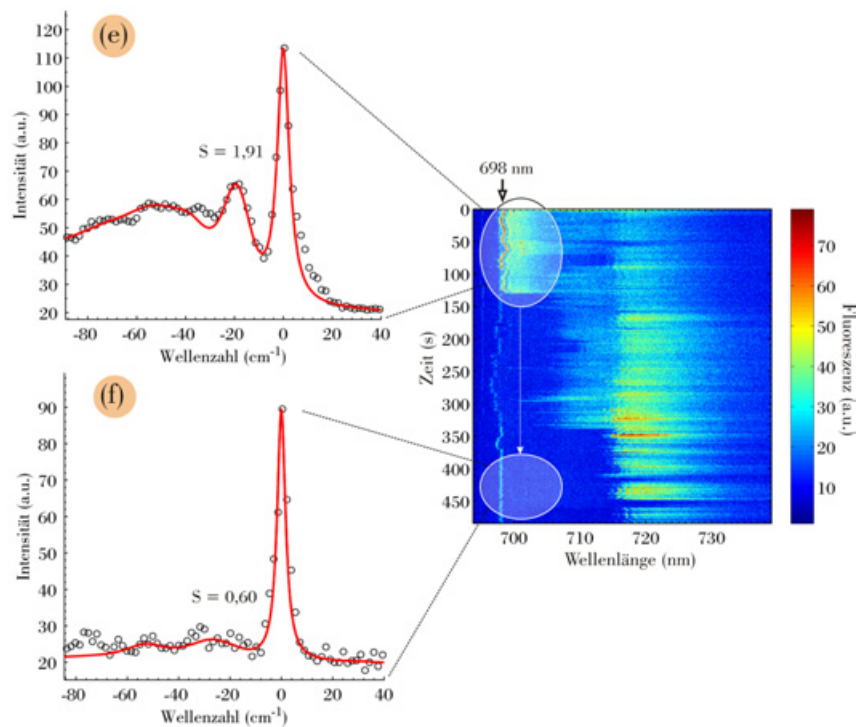
**Abbildung 6.6:** Simulationen der Linienformen verschiedener ZPLs im spektralen Bereich von 700 – 744 nm beim PS I von *Synechococcus* sp. PCC 7002. Die Datensätze wurden durch das im einleitenden Abschnitt erläuterte Verfahren selektiert und bearbeitet. Aufgetragen wurde jeweils die Intensität im Energieabstand vom Maximum in Wellenzahlen. Die durchgezogenen, roten Linien markieren jeweils Simulationen, die gemäß der Theorie im Abschnitt 2.2.4 zur Linienform berechnet wurden. Der verwendete Algorithmus wurde von Prof. V. Zazubovich zur Verfügung gestellt.

### 6.2.3 Elektron-Phonon-Kopplung beim PS I von *Synechococcus* sp. PCC 7002

Wie zuvor für die PS I der Spezies *T. elongatus* und *Synechocystis* wurden für individuelle ZPLs aus Spektrensequenzen einzelner PS I-Komplexe des Organismus *Synechococcus* sp. PCC 7002 Datensätze herausgearbeitet, um die spektrale Linienform zu beschreiben. In Abbildung 6.6 werden vier Datensätze mit ZPLs der mittleren Wellenlängen bei 700 nm, 702 nm, 712 nm und 744 nm gezeigt. Bei der Probe handelt es sich um PS I-Monomere, bei denen die sich an der Trimerisierungsachse befindliche Proteinuntereinheit PsaL fehlt. Beim Vergleich der Monomer-Spektren mit Trimer-Spektren des entsprechenden Wildtyps fällt kein eklatanter Unterschied auf, was für eine intakte Monomer-Probe spricht. Aufgrund der starken spektralen Dynamik der Probe in H<sub>2</sub>O-Puffer wurden wie beim PS I von *Synechocystis* ausschließlich Messungen an einer Probe in D<sub>2</sub>O-Puffer verwendet. Die an den Datensätzen (a) – (d) durchgeführten Simulationen sind mit durchgezogenen, roten Linien eingezeichnet.

In Abbildung 6.7 werden zwei Simulationen an einer weiteren ZPL in der spektralen Region um 700 nm gezeigt. Man erkennt in der Spektrensequenz im rechten Teil, dass ein zur Fluoreszenz im Bereich um 700 nm beitragender Emitter nach 130 s in einen Dunkelnzustand fällt oder in einen Zustand, der energetisch außerhalb des spektralen Detektionsbereichs liegt. Aus den Zeitbereichen vor und nach diesem Prozess wurden jeweils gemäß

## 6.2 Bestimmung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke aus der Linienform



**Abbildung 6.7:** Variation der Linienform einer ZPL. Die mittlere Wellenlänge der ZPL beträgt 698 nm. In beiden markierten Zeitbereichen wurden gemäß dem im einleitenden Abschnitt geschilderten Verfahren Spektren selektiert und gegeneinander verschoben. Im linken Teil sind die zugehörigen Projektionen (e) und (f) dargestellt. In der Spektrensequenz beobachtet man, dass ein zur Fluoreszenz in der Region um 700 nm beitragender Emittor in einen Dunkelzustand fällt oder in einen Zustand, der energetisch außerhalb des spektralen Detektionsbereichs liegt. Die Simulation der beiden Datensätze (e) und (f) führt dadurch zu verschiedenen Parametern. Die Huang-Rhys-Faktoren sind eingezeichnet.

dem im einleitenden Abschnitt geschilderten Verfahren Spektren selektiert und gegeneinander verschoben. Die Bereiche sind markiert. Die resultierenden Datensätze (e) und (f) werden auf der linken Seite gezeigt. Beide Profile wurden simuliert. Im Bild (a) weicht die Simulation an zwei Stellen von den Datenpunkten ab. In der Region um  $10 \text{ cm}^{-1}$  kann die Asymmetrie der ZPL nicht erfasst werden und im Bereich  $-33 \text{ cm}^{-1}$  liegen Datenpunkte über der simulierten Kurve, die nicht simultan berücksichtigt werden können, d.h. ohne die Annahme weiterer Realisierungen oder einer überlagerten zweiten Fluoreszenzbande. Im Zeitbereich zwischen 48 – 69 s wird eine zweite ZPL oder Realisierung bei ca. 701 nm beobachtet, deren Intensität im Datensatz (e) bei  $19 \text{ cm}^{-1}$  eine Bande produziert, die bei der Simulation als wesentlicher Bestandteil der Schwingungsseitenbande (PSB) einbezogen wurde. Im Zeitbereich, aus dem der Datensatz (f) erstellt wurde, fehlt der größte Teil der überlagerten Fluoreszenzbeiträge, während die ZPL bei 698 nm weiterhin emittiert wurde. Dadurch entfällt auf den Spektralbereich, in dem eine PSB erwartet wird, eine wesentlich geringere Intensität, wobei ein spektral „wellenförmiger“ Rest der Fluoreszenz übrigbleibt. Die Deutung der Fluoreszenzbeiträge im Datensatz (e) als zur PSB zuge-

## 6 Charakterisierung der roten Zustände

**Tabelle 6.3:** Zusammenstellung der Parameter der Simulationen aus den Abbildungen 6.6 und 6.7. Der Huang-Rhys-Faktor ergibt sich jeweils zu  $S = S_1 + S_2$ .  $\bar{\omega}_1$  entspricht der mittleren Schwingungsfrequenz,  $\gamma$  der Linienbreite der ZPL,  $\Gamma_1$  der Breite des PSB-Profiles,  $\bar{\omega}_2$  der Frequenz der *special pair* kennzeichnenden Mode,  $\Gamma_2$  der zugehörigen Breite und  $L$  der Breite einer Lorentzkurve, mit der die Linienform zusätzlich insgesamt gefaltet wurde. (s. Abschnitt 6.2.1 für Details.)

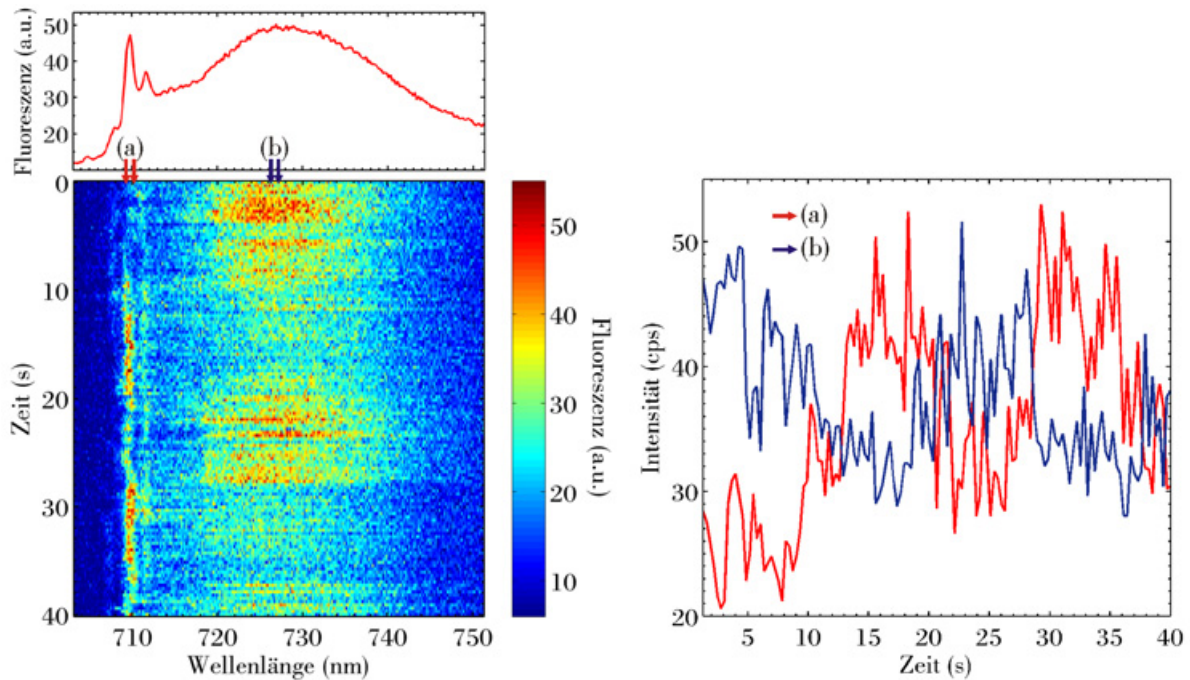
ZPL	$\bar{\lambda}$ (nm)	$S_1$	$\gamma$ (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{\omega}_1$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Gamma_1$ (cm <sup>-1</sup> )	$S_2$	$\bar{\omega}_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Gamma_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$L$ (cm <sup>-1</sup> )
(a)	700	0,80	0,5	20	11	0,35	45	21	4,0
(b)	702	0,50	0,5	15	9	0,48	37	17	3,0
(c)	712	0,30	0,5	9	9	0,20	30	15	2,5
(d)	744	0,35	0,5	22	15	0,10	50	18	2,0
(e)	698	0,95	0,5	19	10	0,96	50	27	5,5
(f)	698	0,40	0,5	27	20	0,20	53	13	3,5

hörige Intensität führt in der Simulation zu einem mindestens um Faktor drei größeren Huang-Rhys-Faktor.

In Tabelle 6.3 sind die Parameter der Simulationen aus den Abbildungen 6.6 und 6.7 zusammengestellt. An einem Beispiel wurde explizit vorgeführt, dass im Spektralbereich der PSB Fluoreszenzbeiträge die Intensität anheben können, die höchstwahrscheinlich nicht zum untersuchten Linienprofil dazugehören. Vermutlich charakterisiert demnach eher der Parametersatz der Simulation (f) ein Profil nahe der homogenen Linienform der entsprechenden ZPL bei 698 nm aus der Spektrenfolge in Abbildung 6.7. Der Huang-Rhys-Faktor beträgt  $S = 0,6$ . Bei den Datensätze (a) und (b) ist unklar, ob im Bereich der in der Simulation berücksichtigten PSB nicht zugehörige Fluoreszenzbeiträge eingeflossen sind, so dass die bestimmten Huang-Rhys-Faktoren von  $S = 1,15$  und  $S = 0,98$  obere Abschätzungen darstellen. Die Simulationen an den Datensätzen (c) und (d) zeigen, dass eine ZPL bei 712 nm und sogar eine im stark rotverschobenen Bereich bei 744 nm als obere Abschätzung durch kleine Huang-Rhys-Faktoren von  $S = 0,50$  bzw.  $S = 0,45$  beschrieben werden.

## 6.3 Korrelation zwischen verschiedenen roten Zuständen

Zum Verständnis der Dynamik in der Fluoreszenz der roten Zustände einzelner PS I-Komplexe spielen zwei Prozesse eine entscheidende Rolle: zum einen die im Kapitel 5 ausführlich behandelte spektrale Diffusion der verschiedenen roten Zustände und zum anderen der resonante Energietransfer (ET) innerhalb PS I. Die roten Zustände beziehen ihre Anregungsenergie über ET von den Antennenpigmenten. Dabei ist noch nicht endgültig geklärt, ob innerhalb eines Komplexes zwischen verschiedenen roten Chlorophyll-



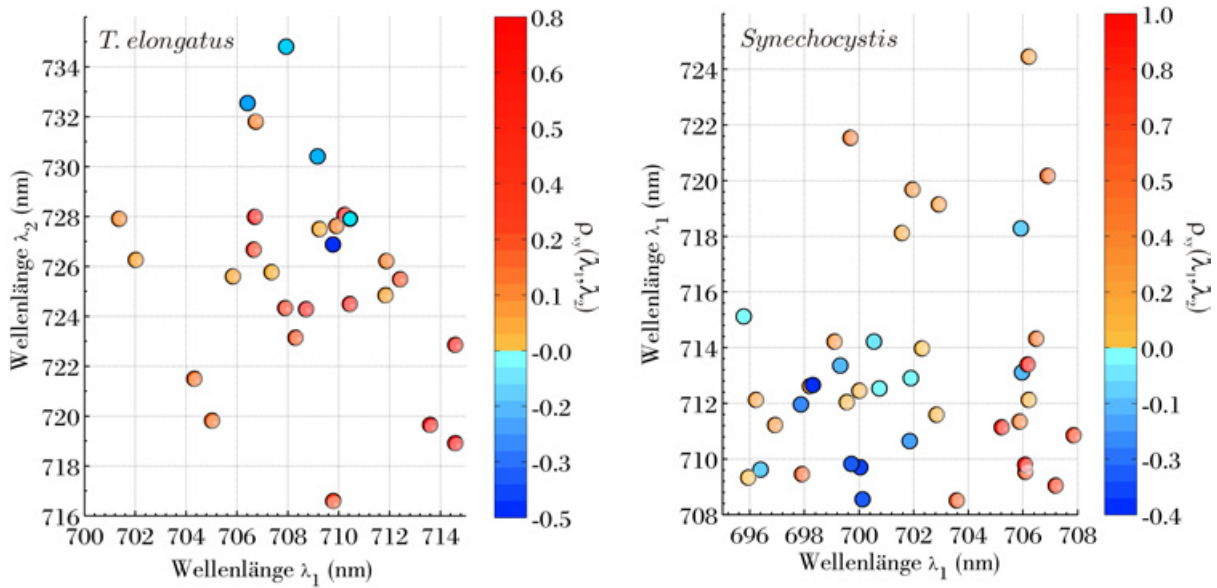
**Abbildung 6.8:** Antikorrelation in der Fluoreszenz eines individuellen PS I-Trimers von *T. elongatus*. Im **linken Bild** wird eine Spektrensequenz über 40 s gezeigt. Die Akkumulationszeit beträgt 0,3 s pro Spektrum. Im oberen Teil ist die zugehörige zeitliche Projektion dargestellt. Betrachtet werden die Intensitätsverlagerungen zwischen der ZPL und der breiten Bande. Im **rechten Bild** wird die jeweils über die Bereiche (a) und (b) integrierte Intensität als Funktion der Zeit gezeigt. Der empirische Korrelationskoeffizient beträgt  $\rho_{xy} = -0,5$ .

Verbänden ein direkter ET stattfindet. Um aus dem Korrelationsverhalten unterschiedlicher Fluoreszenzbeiträge Informationen ableiten zu können, müssen zugrundeliegende Fluktuationsprozesse langsamer ablaufen als der Messprozess, d.h.  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} < \tau_{\text{exp}}^{-1}$  muss gelten. Die Rate  $\tau_{\text{fluk}}^{-1}$  variiert von Komplex zu Komplex. Für den Fall  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} \gg \tau_{\text{exp}}^{-1}$  ist das ermittelbare Korrelationsverhalten willkürlich, d.h. mit keinem Informationsgewinn verbunden.

### 6.3.1 Änderungen im Energietransfer

In Abbildung 6.8 wird ein individuelles Beispiel am PS I von *T. elongatus* gezeigt, bei dem die Bedingung  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} < \tau_{\text{exp}}^{-1}$  erfüllt ist. Im linken Teil ist die zugehörige Spektrensequenz dargestellt. Man erkennt eine ZPL bei ca. 710 nm und eine breite Bande mit ihrem Maximum bei ca. 728 nm. Im Zeitbereich  $t < 9$  s ist die ZPL intensitätsschwach, so dass sie kaum als ZPL identifiziert werden kann, während die breite Bande viel Intensität zeigt. In der Region  $9 \text{ s} \leq t \leq 20 \text{ s}$  hat sich die Intensität der breiten Bande auffällig auf die ZPL im Spektralbereich (a) verlagert. Die umgekehrte Intensitätsverschiebung geschieht nach

## 6 Charakterisierung der roten Zustände



**Abbildung 6.9:** Statistik über das lineare Korrelationsverhalten von Fluoreszenzbanden roter Zustände in einzelnen PS I-Komplexen der Organismen (**links:**) *T. elongatus* und (**rechts:**) *Synechocystis*. Aufgetragen sind die empirischen Korrelationskoeffizienten  $\rho_{xy}$  zwischen jeweils zwei Zeitspuren aus den Spektrensequenzen mit den mittleren spektralen Positionen  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$ , wobei die Werte durch Falschfarben angezeigt werden. Jeder Punkt gehört zu einem individuellen Komplex.  $\lambda_1$  kennzeichnet für jeden einzelnen Komplex die Position des Maximums der ZPL im zugehörigen Summenspektrum. Entsprechend markiert  $\lambda_2$  die Position des Maximums der zugehörigen breiten Bande. Zur Berechnung der Zeitspuren wurde jeweils über eine spektrale Breite um  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  von 2 – 9 nm aufsummiert.

20 s, jedoch bleibt die ZPL deutlich zu erkennen. Ein erneuter Wechsel nach 28 s lässt die ZPL intensiv aufleuchten, während die breite Bande an Intensität verliert. Im rechten Teil der Abbildung 6.8 sind die jeweils über die Bereiche (a) und (b) integrierten Intensitäten als Funktion der Zeit aufgetragen. Man erkennt deutlich die Antikorrelation zwischen den beiden Fluoreszenzsignalen. Beim genaueren Betrachten fällt auf, dass außer den drei Intensitätswechseln nach jeweils ca. 10 s auch schnellere Fluktuationen geschehen. Größtenteils wird auch in diesem Zeitregime eine klare Antikorrelation zwischen den beiden Signalen festgestellt.

Im Folgenden wird das Korrelationsverhalten der Emissionsbanden aus den verschiedenen spektralen Regionen statistisch untersucht. Um die einzelnen Ergebnisse besser zu quantifizieren, wurde für jeden einzelnen Komplex der empirische Korrelationskoeffizient

$$\rho_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (6.1)$$

zwischen zwei Zeitspuren ermittelt, wobei  $x_i$  den zugehörigen Intensitäten des  $i$ -ten Spek-

trums und  $\bar{x}$  dem empirischen Erwartungswert

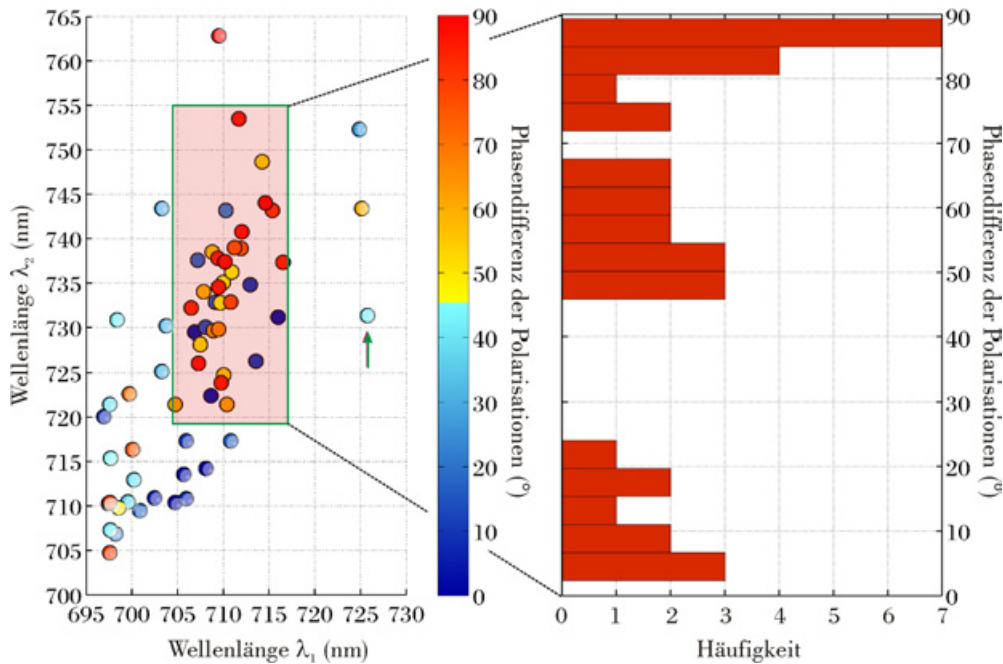
$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

der einen Zeitspur bei  $\lambda_1$  entsprechen und  $y_i, \bar{y}$  analog den Werten der anderen bei  $\lambda_2$ .  $n$  entspricht der Spektrenanzahl der zugehörigen Spektrensequenz. Die spektrale Lage der Zeitspuren wurde, analog zum Beispiel aus Abbildung 6.8, auf die jeweiligen Maxima der Summenspektren gelegt. Dabei wurde beim PS I von *T. elongatus* jeweils die eine Position  $\lambda_1$  aus dem Bereich  $\lambda \leq 715$  nm und die andere  $\lambda_2$  aus dem Bereich  $\lambda > 715$  nm ermittelt. Beim PS I von *Synechocystis* lag die entsprechende Grenze der beiden spektralen Bereiche bei  $\lambda = 708$  nm. Zur Berechnung der Zeitspuren wurde jeweils über eine spektrale Breite um  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  von 2 – 9 nm aufsummiert. In Abbildung 6.9 sind die empirischen Korrelationskoeffizienten  $\rho_{xy}$  in zwei Diagrammen jeweils über den mittleren Wellenlängen  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  der zugehörigen Zeitspuren aufgetragen. Das linke Bild zeigt das Ergebnis einzelner PS I-Komplexe der Spezies *T. elongatus* und das rechte Bild das einzelner PS I-Komplexe der Spezies *Synechocystis*. Jeder Datenpunkt spiegelt durch seine zugeordnete Falschfarbe das individuelle Korrelationsverhalten in je einem einzelnen Komplex wider. Der zu dem Komplex aus Abbildung 6.8 gehörige Datenpunkt liegt bei  $\lambda_1 \simeq 710$  nm und  $\lambda_2 \simeq 727$  nm. Der empirische Korrelationskoeffizient beträgt  $\rho_{xy} = -0,5$ . Insgesamt sind beim PS I von *T. elongatus* fünf von 28 Werten negativ. Beim PS I von *Synechocystis* liegen 14 von 40 Werten im negativen Bereich. Wie bereits einleitend erwähnt wurde, können Antikorrelationen nur festgestellt werden, wenn die Bedingung  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} < \tau_{\text{exp}}^{-1}$  erfüllt ist. Bei den Punkten mit positivem Wert kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine Korrelation oder eine Antikorrelation vorliegt. Da diese Punkte also keine Informationen enthalten, wurden sie durch weiße Schattierung abgedeckt. Hingegen zeigen die Punkte mit negativen Werten, dass die Fluoreszenz verschiedener Banden zumindest in einigen Fällen antikorreliert aufgetreten ist, d.h. das Beispiel aus Abbildung 6.8 ist kein Einzelfall. Beim PS I von *Synechocystis* wurden Komplexe in D<sub>2</sub>O-Puffer untersucht, um den Deuteriumeffekt einer kleineren Fluktuationsrate auszunutzen.

#### 6.3.2 Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten

Ein möglicher Energietransferpfad zwischen verschiedenen roten Chlorophyll-Verbänden innerhalb eines Monomers benötigt eine exzitonische Kopplung zwischen den Zuständen. Diese hängt vom Winkel der zugehörigen Übergangsdipolmomente zueinander ab. Um die Wahrscheinlichkeit für eine direkte ET-Verbindung von Emittlern im spektralen Bereich des C708 mit Emittlern in der stark rotverschobenen Region des C719 einschätzen zu können, wurde eine statistische Untersuchung der Phasendifferenzen der Polarisationen von verschiedenen Emissionsbanden vorgenommen. In dem Diagramm der Abbildung 6.10 sind die Ergebnisse zusammengestellt. Dafür wurde die Funktion Gl. 4.1 bei allen Monomeren an die Modulationen der verschiedenen Banden angepasst, wie als Beispiel

## 6 Charakterisierung der roten Zustände



**Abbildung 6.10:** Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten roter Zustände in einzelnen PS I-Monomeren der Spezies *T. elongatus*. Wie in Abb. 4.13 wurde die Funktion Gl. 4.1 bei jedem Komplex an die Modulationen der verschiedenen Banden angepasst. Pro Komplex werden daraus bis zu drei Phasenlagen  $\varphi_{\text{anf}}$  und somit bis zu drei Phasendifferenzen  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  ermittelt, d.h. jeder Monomer trägt zum Diagramm bis zu drei Datenpunkte bei. Die zugeordneten Falschfarben geben die Größen der Winkel  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  an. Der markierte Datenpunkt gehört zum Monomer aus Abb. 4.13. Der hervorgehobene Bereich beinhaltet die interessierenden Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten von Emitttern aus den Bereichen des C708 und C719 zueinander. Ihre Verteilung wird im Histogramm rechts gezeigt.

in Abbildung 4.13 gezeigt wurde. Die im Kapitel 4 bestimmte Anzahl von drei roten Pigment-Verbänden pro Monomer des PS I von *T. elongatus* führt zu bis zu drei Phasenlagen  $\varphi_{\text{anf}}$  der Modulationen der Banden eines Monomers. Daraus ergeben sich bis zu drei Phasendifferenzen  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  pro Monomer, die in dem Diagramm durch zugehörige Datenpunkte berücksichtigt wurden. Die spektralen Positionen  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  sind möglichst nah am jeweiligen Maximum der zugehörigen Fluoreszenzbande gewählt. Abweichungen wurden im Fall von spektralen Überschneidungen verschiedener Banden erforderlich. Anhand der zugeordneten Falschfarben können die Größen der Winkel  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  abgelesen werden. Für Winkel  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  oberhalb  $90^\circ$  wurde der relevante Winkel gemäß  $180^\circ - \Delta\varphi_{\text{anf}}$  berechnet. Bei den ermittelten Werten  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  handelt es sich jedoch nicht um den Raumwinkel zwischen den beitragenden Übergangsdipolmomenten, sondern um dessen Projektion auf die zur optischen Achse senkrechten Ebene. Da die einzelnen Komplexe bei der Messung willkürlich orientiert waren, spiegelt das Ergebnis bei der Annahme eines festen Raumwinkels  $\varphi_{\text{fest}}$  eine Verteilung um  $\varphi_{\text{fest}}$  wider. Im Anhang B werden in Abbildung 6.13 für ausgewählte  $\varphi_{\text{fest}}$  simulierte Verteilungen gezeigt, für die eigens ein Algorithmus entwi-



ckelt wurde, dessen Theorie im Anhang B kurz vorgestellt wird. Danach bildet sich beim Winkel  $\varphi_{\text{fest}}$  stets das klare Maximum der Verteilung aus. Der in Abbildung 6.10 hervorgehobene Bereich mit  $\sim 704 \text{ nm} < \lambda_1 < 717 \text{ nm}$  und  $719 \text{ nm} < \lambda_2 < 755 \text{ nm}$  beinhaltet die interessanten Winkel  $\Delta\varphi_{\text{anf}}$  zwischen den Übergangsdipolmomenten von Emittlern, die hauptsächlich den Chlorophyll-Verbänden C708 und C719 zugeordnet werden. Von den 35 Winkeln sind 26 größer als  $45^\circ$ , von denen 14 sogar oberhalb  $75^\circ$  liegen. Die restlichen neun Winkel liegen im Bereich  $< 15^\circ$ , davon drei nahe  $0^\circ$ . Bei diesen Winkeln ist nicht klar, ob die zugehörigen Banden nicht von demselben Emitter stammen. Die meisten Winkel außerhalb des hervorgehobenen Bereichs betragen weniger als  $45^\circ$ . Es wird angenommen, dass insbesondere dort einige der zugehörigen Banden von demselben Emitter stammen. Die Punkte außerhalb des hervorgehobenen Bereichs können nicht eindeutig den Chlorophyll-Verbänden C708 und C719 zugeordnet werden und wurden daher nicht berücksichtigt.

## 6.4 Diskussion

Ein Maß für die Kopplung eines elektronischen Übergangs in einem gebundenen Chromophor an die inter- und intramolekularen vibronischen Freiheitsgrade ist der in Abschnitt 2.2.2 eingeführte Huang-Rhys-Faktor  $S$ . Die gebräuchlichen Werte für  $S$  von roten Chlorophyllen im PS I aus der neueren Literatur wurden mittels der Spektroskopiemethode des nicht-photochemischen Lochbrennens (NPHB) bestimmt. (Eine Kurzübersicht über NPHB bietet Anhang C.) Beim NPHB wird nicht nur über ein Ensemble gemittelt, sondern auch über die Fluktuationen innerhalb jedes einzelnen Moleküls, die eine Zeitabhängigkeit der einzelnen optischen Übergangsenergien bewirken. Der Brennprozess am PS I entvölkert teilweise die elektronischen Grundzustände der roten Pigmente des Ensembles, deren Null-Null-Übergänge eine stark bevorzugte spektrale Position an der Stelle der Brennfrequenz  $\omega_B$  besitzen. Diese roten Pigmente absorbieren beim Auslesen an einer anderen spektralen Stelle, die im Spektrum als „*antihole*“ bezeichnet wird. Bei der Position von  $\omega_B$  wird im Auslese-Spektrum ein Loch beobachtet, das Null-Phononen-Loch (ZPH) genannt wird. Das ZPH wird zusätzlich von einem breiten Loch mit dem charakteristischen Abstand  $\omega_M$  zwischen den beiden Maxima begleitet. Dieses wird in der einschlägigen Literatur mit der einhergehenden Löschung von zugehörigen Übergängen in vibronische Niveaus des angeregten elektronischen Zustands erklärt. Eine gute Übersicht bietet Ref. [Jan93]. Die Theorie, wie in Abschnitt 2.2.4 skizziert, beschreibt dieses breite begleitende Loch als Schwingungsseitenbande (PSB). Auch das Einzelmolekül-Experiment, wenn auch frei von der Ensemble-Mittelung, kann eine zeitliche Mittelung nicht vermeiden. Ihr Ausmaß hängt von dem Zusammenspiel aus Zeitverhalten der Probe und der Zeitauflösung der Apparatur ab. Wie aus Kapitel 5 hervorgeht, liegen die Raten  $\tau_{\text{fluk}}^{-1}$  eines Großteils der Fluktuationen unterhalb der Messrate  $\tau_{\text{exp}}^{-1}$ , d.h. für diesen Teil ist die Bedingung  $\tau_{\text{fluk}}^{-1} \ll \tau_{\text{exp}}^{-1}$  erfüllt. Eine spezielle Analyse von Einzelmolekül-Spektren vom PS I hat die Möglichkeit erschlossen, diesen Teil der spektralen Diffusion zu eliminieren

## 6 Charakterisierung der roten Zustände

**Tabelle 6.4:** Parameter der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke. Aus Simulationen der Linienformen wurden Huang-Rhys-Faktoren  $S_{\text{SMS}}$  roter Zustände aus den PS I dreier Organismen, *T. elongatus*, *Synechocystis* und *Synechococcus* sp. PCC 7002, bestimmt. Die untere Zeile gibt die aus NPHB-Experimenten gewonnenen Werte für  $S$  an ((\* ) aus Ref. [Zaz02b], (+) aus Ref. [Hay00, Rät00]).

	<i>T. elongatus</i>		<i>Synechocystis</i>		<i>Synechococcus</i>	
	C708	C719	C706	C714	F698	C708
$S_{\text{SMS}}$	0,2–1,1	0,2–0,5	0,2–1,3	0,6–1,4	0,6–1,2	0,5
$S_{\text{NPHB}}$	%	2,2*	1,2–1,3 <sup>+</sup>	2,0*	%	%

und so die zeitliche Mittelung des Signals auf ein Minimum zu reduzieren. Dadurch werden die Vorzüge der optischen Einzelmolekül-Spektroskopie voll ausgenutzt. Aus den Emissionen der PS I dreier Organismen, *T. elongatus*, *Synechocystis* und *Synechococcus* sp. PCC 7002, konnten spektrale Profile roter Zustände isoliert werden, die in einigen Fällen den homogenen Linienformen nahe kommen, da sie weniger spektralen Überlagerungen und Fluktuationen unterlagen. Die Linienprofile wurden, wie im Abschnitt 6.2.1 beschrieben, mit einem auf der im Abschnitt 2.2.4 erläuterten Theorie basierenden Algorithmus simuliert, der freundlicherweise von Prof. V. Zazubovich zur Verfügung gestellt wurde. Bei den PS I aller drei Spezies wurde überraschend festgestellt, dass die Emissionen von ca. 1 – 15 % der roten Zustände nur mit der Annahme sehr kleiner Huang-Rhys-Faktoren  $S$  erklärt werden konnten. Das gilt insbesondere auch für stark rotverschobene Zustände. Die entsprechenden aus Lochbrenn-Experimenten ermittelten Werte für  $S$  liegen für diese Zustände wesentlich höher.

Alle ermittelten Wertebereiche für  $S$  sind in der Tabelle 6.4 zusammen mit vorhandenen Literaturwerten aufgeführt. Die Simulationen der Linienformen für die untersuchten Zustände beim PS I von *T. elongatus*, die im Bereich des C708 emittiert haben, ergaben Werte für  $S$  zwischen 0,20 (f) und 1,10 (b). Letzterer Wert liegt in der Nähe des mit der NPHB-Methode bestimmten Werts von 1,2 – 1,3 für den Huang-Rhys-Faktor des C708 aus dem PS I von *Synechocystis* [Hay00, Rät00]. Für die Emitter der Banden im Bereich des C719 liegt der Wert für  $S$  zwischen 0,20 – 0,45. Der entsprechende mittels NPHB-Experimenten ermittelte Wert liegt bei  $S = 2,2$  [Zaz02b].

Beim PS I von *Synechocystis* wurden für die Emitter im Bereich des C706 bzw. C708 Huang-Rhys-Faktoren zwischen 1,08 – 1,25 ermittelt. Diese Werte stimmen somit gut mit obigen Werten aus [Hay00, Rät00] überein. Beim Datensatz (a) der Abbildung 6.4 zeigt sich, dass der zugehörige Wert für  $S$  eines Zustands, der bei 699 nm seine ZPL emittiert hat, nahe Null liegt. Auffällig dabei ist, dass sie trotz des Energieeintrags über die gesamte Messzeit von ca. 250 s ungewöhnlich frequenzstabil war. Dem roten Zustand aus Bild (e), der in der spektralen Region des C714 emittiert hat, wird ein maximaler Wert von  $S = 0,58$  zugeordnet. Der größte ermittelte Wert für einen roten Zustand, der

in der Region des C714 emittiert hat, liegt bei  $S = 1,35$ . Der entsprechende Wert aus der Literatur liegt bei  $S = 2,0$  [Zaz02b].

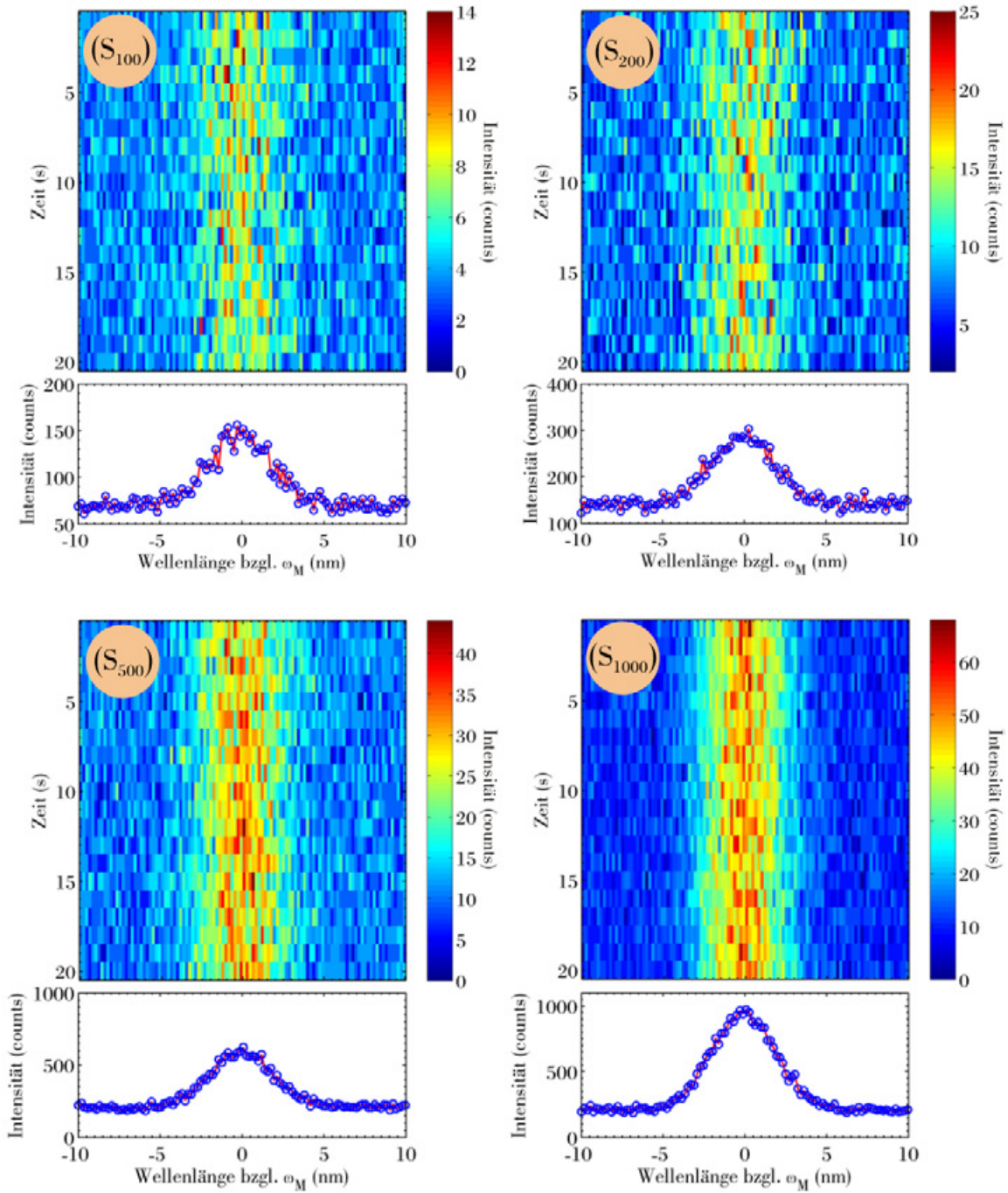
Auch bei den roten Chlorophyll-Verbänden der Spezies *Synechococcus* sp. PCC 7002 werden teilweise kleine Huang-Rhys-Faktoren festgestellt. Bei einer stark rotverschobenen ZPL mit mittlerer Lage bei 744 nm wird der maximale Wert von  $S$  auf 0,45 bestimmt. Am Beispiel einer ZPL bei 698 nm wurde in Abbildung 6.7 gezeigt, wie sich die Linienform verändert, wenn ein Emitter, der spektral überlagert zur Bande beiträgt, in einen Dunkelzustand fällt oder in einen Zustand, der energetisch außerhalb des spektralen Detektionsbereichs liegt. Das Simulationsergebnis für  $S$  verändert sich durch den Prozess von 1,91 auf 0,60.

Aus den mittels NPHB-Experimente bestimmten Huang-Rhys-Faktoren wurde bisher angenommen, dass eine starke Elektron-Phonon-Kopplung ein wichtiger Faktor für die große Rotverschiebung der roten Pigmente ist [Hay00, Zaz02b, Iha03]. In der Literatur wird eine starke Elektron-Phonon-Kopplung üblicherweise mit dem Beimischen von Ladungstransferzuständen zu den exzitonischen Zuständen verbunden [Lat94, Hay00]. Durch die langreichweitige Wechselwirkung des entstehenden Dipols wird die Proteinumgebung polarisiert, woraus eine starke Kopplung des optischen Übergangs an die vibronischen Freiheitsgrade des Proteins resultiert. Die zugehörigen Potentialkurven des Grund- und ersten angeregten elektronischen Zustands, für die in Abbildung 2.2 zwei Beispiele skizziert wurden, sind entsprechend stark um  $2g\xi$  versetzt. Im optischen Spektrum ruft die Elektron-Phonon-Kopplung eine ausgeprägte vibronische Seitenbande hervor.

Als Ursache für die starke Rotverschiebung kommt noch eine weitere Möglichkeit in Betracht. In den nicht-Diagonalelementen der Kopplungsmatrix des exzitonisch gekoppelten Systems stehen die Kopplungsbeiträge aus Förster- und Dexterenergie transfer. Ein erhöhter Beitrag des Dextermechanismus kann zu einer Anhebung der exzitonischen Aufspaltung führen und somit ebenfalls zu einer starken Rotverschiebung, ohne dass ein Ladungstransferzustand beimischt. In dem Fall wird die Proteinumgebung durch den elektronischen Übergang nicht polarisiert und die Kopplung an die vibronischen Freiheitsgrade des Proteins ist gering. Auf die Weise kann ein kleiner Huang-Rhys-Faktor als Maß der entsprechenden Kopplungsstärke erklärt werden.

Aus den stark streuenden Huang-Rhys-Faktoren, auch jeweils in den gleichen Spektralbereichen, geht hervor, dass zwischen den roten Chlorophyllen verschiedener PS I-Komplexe eine starke Heterogenität in der Elektron-Phonon-Kopplungsstärke herrscht. Vermutlich führten die im Abschnitt 6.2 genannten Kriterien, nach denen aus allen aufgenommenen Spektrensequenzen nur wenige selektiert wurden, aus denen individuelle Linienprofile isoliert wurden, dazu, dass insbesondere rote Zustände mit nur schwachem Ladungstransfercharakter berücksichtigt wurden. Denn von der zugehörigen Fluoreszenz wird erwartet, dass ihre Linienform sich durch eine ausgeprägte ZPL mit nur schwachen spektralen Fluktuationen auszeichnet, da Konformationsänderungen, die spektrale Diffusion bewirken würden, unter den gegebenen Messbedingungen (bei 1,4 K) Energieeintrag benötigen, wie im Abschnitt 5.3 gezeigt wurde. Eine schöne Demonstration wird durch die Frequenz-

## 6 Charakterisierung der roten Zustände



**Abbildung 6.11:** Simulation der Detektion eines spektral gaußverteilten Signals mit wenigen Photonen. Die spektrale Auflösung entspricht dem experimentell verwendeten Detektionskanal aus Gitterspektrograph (300 Linien/mm) und CCD-Chip. Im Bild  $S_{100}$  wurden 100 Photonen pro simuliertem Spektrum gezählt (100 counts/s). Die entsprechenden Zählraten der anderen drei Sequenzen  $S_{200}$ ,  $S_{500}$  und  $S_{1000}$  betragen 200, 500 und 1000 counts/s. Bei allen vier Simulationen erkennt man deutlich einen Effekt durch die "Photonen-Ausdünnung": Die jeweiligen Banden erscheinen nicht frequenzstabil. Die Summenspektren werden demnach durch die zeitliche Mittelung über spektrale Fluktuationen aufgebaut. (Parameter:  $\Gamma_{\text{Gauß}} \simeq 90 \text{ cm}^{-1}$ ; Zum Signal wurde weißes Rauschen addiert mit maximal  $\pm 4$  counts bei  $S_{100}$ ,  $\pm 8$  counts bei  $S_{200}$ ,  $\pm 12$  counts bei  $S_{500}$  und  $\pm 12$  counts bei  $S_{1000}$  und ein zusätzlicher Offset.)

Stabilität der ZPL aus dem Datensatz (a) der Abbildung 6.4 geboten. Der Huang-Rhys-Faktor des zugehörigen Zustands liegt, wie bereits oben erwähnt, nahe Null. Bei starkem Beimischen von Ladungstransferzuständen zu exzitonischen Zuständen sorgen zwei Effekte dafür, dass die Linienform schwer zugänglich wird: Zum einen verliert die ZPL stark an Intensität, während die PSB an Intensität gewinnt, zum anderen treten durch die höhere thermische Energie stärkere Fluktuationen auf, die bewirken, dass die Linienform im zeitlich begrenzt aufgelösten Spektrum in einer zeitlich gemittelten Verteilung untergeht. Der größte ermittelte Huang-Rhys-Faktor beträgt  $S = 1,35$  von einem Emitter des C714-Verbands vom PS I von *Synechocystis*. Bei den roten Zuständen wird angenommen, dass der erfasste Ausschnitt aus der Verteilung der Elektron-Phonon-Kopplungsstärken den unteren Bereich widerspiegelt, d.h. bei den in Tabelle 6.4 zusammengefassten Werten für  $S$  ist wichtig anzumerken, dass insbesondere breite Banden, deren Herkunft innerhalb  $\tau_{\text{exp}}$  nicht eindeutig hervorgeht, von roten Zuständen mit größerem Huang-Rhys-Faktor abstammen könnten. Der in seiner optischen Übergangsenergie stark fluktuierende Emitter aus Abbildung 5.15 stellt diesbezüglich eine Ausnahmeerscheinung dar. Vermutlich wird die Fluktuationsrate durch eine außergewöhnlich schwache Kopplung an die vibronischen Schwingungsfreiheitsgrade des Proteins reduziert. Der zugehörige Huang-Rhys-Faktor wurde auf  $S = 0,58$  bestimmt (Abb. 6.4 Bild (f)).

Bei der Analyse der Spektrensequenzen wurde ein interessanter Effekt beobachtet, der ausschließlich für einzelne Quantensysteme charakteristisch ist. In der Abbildung 6.5 wurden drei Beispiele selektierter Fluoreszenzspektren roter Zustände vom PS I von *Synechocystis* gezeigt. Im spektralen Bereich der jeweiligen PSB wird festgestellt, dass die detektierte Intensität spektral fluktuiert, d.h. die PSB wird erst durch eine zeitliche Mittelung über mehrere Spektren aufgebaut. Während der Akkumulationszeit von  $\tau_{\text{exp}} = 1$  s für ein Spektrum erfolgen gemäß der Abschätzung aus Abschnitt 3.3.3  $1,5 \cdot 10^6$  strahlende Übergänge in den roten Chlorophyllen. Gemäß Abschnitt 3.1.10 werden ca. 5 % der Fluoreszenz detektiert, wobei die detektierte integrierte Intensität einer scharfen ZPL zwischen ca.  $10^2 - 10^3$  cps beträgt. Dieses Szenario wurde unter der vereinfachten Annahme einer gaußförmigen PSB simuliert. Das Ergebnis wird in der Abbildung 6.11 gezeigt. Man erkennt deutlich, dass selbst bei einer (simulierten) Zählrate von 1000 cps eine starke spektrale Dynamik auftritt. Bei jedem einzelnen Fluoreszenzakt wird ein spezieller Schwingungszustand angeregt. Aufgrund des geringen Photonennflusses, der innerhalb  $\tau_{\text{exp}}$  auf den CCD-Chip einfällt, wird pro Spektrum jeweils nur ein Teil der Schwingungszustände detektiert. Die ganze PSB wird erst bei der Summierung über mehrere Spektren erfasst. Die beobachteten Fluktuationen im Bereich der PSB werden also auf einen statistischen Effekt zurückgeführt.

Im nun folgenden Abschnitt werden die Möglichkeiten einer Kopplung zwischen verschiedenen roten Chlorophyll-Verbänden diskutiert. Der Försterradius im PS I variiert zwischen  $65 - 85 \text{ \AA}$  [Col73, vG85, Byr02]. Pigmente oder Systeme aus 2 – 3 stark exzitonisch gekoppelten Pigmenten mit diesem räumlichen Abstand zueinander, die in einer Förstertransfer-Kette verschaltet sind, können bis zu 50 % der Anregungsenergie weiter-

## 6 Charakterisierung der roten Zustände

geben. Die restliche Energie wird größtenteils in Form von Fluoreszenz freigesetzt. In der Abbildungen 6.8 wird an einem Beispiel eines individuellen PS I-Komplexes von *T. elongatus* gezeigt, wie eine ZPL im Bereich des C708-Verbands mit der Fluoreszenzbande in der Region  $> 719$  nm antikorreliert. Dieses Phänomen lässt sich durch zwei verschiedene Mechanismen erklären: Fall (A): Entweder sind beide Emittter direkt über einen Energietransferpfad miteinander verbunden, so dass die Anregungsenergie vom Antennensystem zunächst zum Zustand im Bereich des C708 gelangt und von dort entweder abfluoresziert oder zu dem Zustand in der Region  $> 719$  nm weitertransferiert wird, oder Fall (B): Von einem Pigment-Verband aus den Antennenpigmenten existiert zu beiden roten Zuständen jeweils ein Energietransferpfad. Zwei Faktoren bestimmen die Effizienz des Energietransfers (ET): zum einen die Stärke der exzitonischen Kopplung und zum anderen der spektrale Überlapp. Die Verlagerung der Abstrahlung zwischen den verschiedenen Banden wie sie in der Abbildung 6.8 zu sehen ist, könnte auf einer Veränderung der exzitonischen Kopplung beruhen. In der Punkt-Dipol-Näherung hängt die Stärke der Kopplung von  $r^{-3}$  und dem Winkel  $\Delta\varphi$  zwischen den Übergangsdipolmomenten von Donator und Akzeptor ab, wobei  $r$  dem Abstand entspricht. Bei 1,4 K sind die geometrischen Freiheitsgrade im Protein stark eingeschränkt, d.h. der Abstand wird sich nicht markant ändern. Aber beim Winkel  $\Delta\varphi$  besteht die Möglichkeit, dass er sich in Relation zu den Fluktuationen in der optischen Übergangsenergie der beteiligten Zustände leicht verändert. Aus Gleichung 1.1 geht hervor, dass in einem exzitonisch gekoppelten Dimer der Betrag der Übergangsdipolmomente der einzelnen ungekoppelten Zustände die Richtung der exzitonischen Zustände des Dimers beeinflusst. Verändert sich nun durch Fluktuationen in der Proteinumgebung die lokale optische Übergangsenergie eines der beiden Zustände, so wird sich auch die Richtung des Übergangsdipolmoments vom Dimer ändern. Auf diese Weise kann  $\Delta\varphi$  beeinflusst werden und damit auch der ET zwischen Dimeren. Einen vermutlich wesentlich größeren Effekt trägt jedoch der Einfluß der Fluktuationen der optischen Übergangsenergien auf den spektralen Überlapp von Donator und Akzeptor. Die Resonanzbedingung für den ET hängt empfindlich von den optischen Übergangsenergien der beteiligten Pigmente ab, so dass bereits moderate Veränderungen der optischen Übergangsenergien den ET signifikant modulieren können. Die Verlagerung der Abstrahlung zwischen den Intensitäten bei (a) und (b) in Abbildung 6.8 geschieht, ohne dass simultan deutliche spektrale Sprünge festgestellt werden. Im Fall, dass die beiden beteiligten Zustände direkt gekoppelt sind, folgt daraus, dass diese kleinen Sprünge genügen, um die beobachtete Intensitätsverschiebungen zu verursachen. Bei der Existenz von verschiedenen ET-Pfaden von den Antennenpigmenten zu beiden Zuständen ist denkbar, dass die optischen Übergangsenergien der zugehörigen Donatoren stärker fluktuieren. Dieser Spektralbereich wurde vom Experiment nicht erfasst.

An einzelnen PS I-Monomeren des Organismus *T. elongatus* hat eine umfangreiche Polarisationsanalyse an den verschiedenen Emissionsbanden ergeben, dass das Maximum der Verteilung der Winkel  $\Delta\varphi$  zwischen den Übergangsdipolmomenten von Zuständen, die im Bereich des C708-Verbands emittiert haben und denen, die in der Region  $> 719$  nm emittiert haben, in der Projektion auf die zur optischen Achse senkrechten Ebene nahe

90° liegt. Mit Hilfe der theoretischen Betrachtungen im Anhang B kann daraus abgeleitet werden, dass der entsprechende räumliche Winkel  $\Delta\varphi$  ebenfalls nahe einem rechten Winkel liegt. Die Winkelkonstellation zwischen den Übergangsdipolmomenten bewirkt in Gleichung 1.1, dass der erste Term vernachlässigbar klein wird. Bei einem Winkel  $\Delta\varphi$  von genau 90° ergibt sich für die Energie der exzitonischen Kopplung

$$V_{12} = -3 \frac{\mu_1 \mu_2 \cos \vartheta \sin \vartheta}{r^3},$$

wobei  $\vartheta$  dem Winkel zwischen  $\vec{\mu}_1$  und  $\vec{r}$  entspricht. Für eine Konstellation mit  $\vartheta = 45^\circ$  wird  $V_{12}$  maximal, während sie unter einem Winkel von  $\vartheta = 0^\circ$  bzw.  $\vartheta = 90^\circ$  verschwindet, dem sogenannten „magic angle“. Eine Anisotropieuntersuchung am PS I von *T. elongatus* in trimerer Form hat ergeben, dass bei einer Anregung mit linear polarisiertem Licht mit einer Wellenlänge von  $\sim 712$  nm die Polarisation der Fluoreszenz einen großen Anteil enthält, der nicht der Polarisation des eingestrahltten Lichts entspricht [Pål96]. Die Emissionsanisotropie beträgt unter Anregung bei 712 nm ca. 0,10. Sie steigt mit wachsender Anregungswellenlänge über 0,20 bei 724 nm bis 0,35 bei  $> 730$  nm, d.h. die Polarisationskomponente senkrecht zur Anregungspolarisation variiert stark beim Durchstimmen der Anregungswellenlänge, was für einen großen Winkel  $\Delta\varphi$  spricht. Dieses Experiment wurde nicht an Monomeren durchgeführt, bzw. zumindest nicht in der Literatur erwähnt. Daher kann ein ET zwischen Emitttern des C708 und denen des C719 im Trimer über die einzelnen Monomergrenzen hinweg nicht ausgeschlossen werden. Das Ergebnis dieser Arbeit lässt im Falle eines direkten ETs zwischen C708 und C719 innerhalb eines Monomers darauf schließen, dass sich bei Anregung mit einer Wellenlänge von  $\sim 712$  nm die Polarisationen von Emission und eingestrahlttem Licht deutlich unterscheiden. Dieses Ergebnis passt sehr gut mit dem Ergebnis der Anisotropiestudie zusammen. Anhand des festgestellten Antikorrelationsverhalten wird auf einen effizienten direkten ET zwischen roten Zuständen des C708 und C719 geschlossen. Weiter wird nach dem Ergebnis aus der Polarisationsanalyse an einzelnen Monomeren in Verbindung mit der Anisotropieuntersuchung aus Ref. [Pål96] angenommen, dass dieser ET insbesondere innerhalb eines Monomers stattfindet.

Auch das Korrelationsverhalten bei individuellen PS I-Trimeren von *Synechocystis* lässt erkennen, dass verschiedene rote Zustände entweder in der Form (A) oder in der Form (B) über ET miteinander in Verbindung stehen. Gemäß ähnlicher Anisotropiestudien [vdL93, Gob94] wird ein Transfer zwischen den Emitttern des C708 und des C714 als sehr unwahrscheinlich angenommen. Im Monomer müssten dafür die beteiligten Übergangsdipolmomente parallel ausgerichtet sein, da sich beim Durchstimmen der Anregungswellenlänge im Bereich  $> 704$  nm kein Unterschied in den Polarisationen von Emission und eingestrahlttem Licht zeigt [Gob94]. Das gleiche Ergebnis wurde an Trimeren erzielt [Gob94]. Das spricht dafür, dass kein ET zwischen den Monomeren innerhalb eines Trimers stattfindet, da aufgrund der 120°-Winkel zwischen den Monomeren das Ergebnis der Studie nur durch eine Parallelstellung der Übergangsdipolmomente aller roten

## 6 Charakterisierung der roten Zustände

Chlorophyll-Verbände erklärt werden könnte. Das ist jedoch gemäß der Studie [Sch05] unwahrscheinlich, in der angenommen wird, dass zumindest beim PS I von *T. elongatus* alle Übergangsdipolmomente der roten Chlorophyll-Verbände eher senkrecht zur Membranebene ausgerichtet sind. Die Autoren der NPHB-Studien [Hsi04, Ril07] schlussfolgern wiederum, dass der ET zwischen den Zuständen C706 und C714 im PS I von *Synechocystis* in trimerer Form auftritt und bestimmen die Transferzeit auf  $\sim 6$  ps. Die momentane Datenlage dieser Arbeit und der Literatur lassen keinen eindeutigen Schluss zu.

### 6.5 Zusammenfassung

Ein Auswerteverfahren zum Ausgleich von spektraler Diffusion wurde dazu genutzt, um einen großen Teil der zeitlichen Mittelung im Fluoreszenzsignal einzelner PS I-Komplexe zu eliminieren. Dadurch konnten aus den Spektrensequenzen der PS I der drei Spezies *T. elongatus*, *Synechocystis* sp. PCC 6803 und *Synechococcus* sp. PCC 7002 spektrale Profile von roten Zuständen nahe der homogenen Linienformen exzerpiert werden. Basierend auf dem Modell aus Abschnitt 2.2.4 wurden die Profile simuliert. Bei den PS I aller drei Organismen wurden selbst für stark rotverschobene Zustände überraschend kleine Huang-Rhys-Faktoren festgestellt, was bedeutet, dass die elektronischen Übergänge nur schwach an die inter- und intramolekularen vibronischen Freiheitsgrade koppeln. Dieses Ergebnis erweitert das Bild der roten Zustände auf die Weise, dass für ihre starke Rotverschiebung keine ausgeprägte Elektron-Phonon-Kopplung notwendig ist. Als alternative Ursache wurde die Anhebung der exzitonischen Aufspaltung durch einen hohen Beitrag des Dextermechanismus diskutiert. Die Heterogenität in der Elektron-Phonon-Kopplung zwischen verschiedenen individuellen Komplexen schließt die Existenz roter Zustände ein, in die Ladungstransferzustände stärker einmischen. Die Detektion der Schwingungsseitenbande (PSB) eines einzelnen selektierten roten Zustands hat die Möglichkeit zur Beobachtung eines interessanten Nebeneffekts geboten, der ausschließlich für einzelne Quantensysteme charakteristisch ist. Durch den geringen Photonenfluss, der innerhalb der Akkumulationszeit von 1 s auf den CCD-Chip einfiel, zeigt jedes Spektrum für sich nur einen Teil der PSB, d.h. der Prozess der Zusammensetzung der PSB aus einzelnen Fluoreszenzaktiven mit der Anregung spezieller Schwingungszustände konnte nachgewiesen werden.

Um zu untersuchen, ob verschiedene rote Zustände innerhalb eines PS I-Komplexes über Energietransfer (ET) miteinander in Verbindung stehen, wurde das Korrelationsverhalten der Fluoreszenz von unterschiedlichen roten Emitttern analysiert. Mehrfach aufgetretene Antikorrelationen bei sowohl dem PS I von *T. elongatus* als auch dem PS I von *Synechocystis* weisen darauf hin, dass die roten Zustände jeweils entweder direkt über ET miteinander verbunden sind, oder dass sie getrennt voneinander über ET mit einem Pigment-Verband aus den Antennenpigmenten verbunden sind. Auch eine Mischung aus beiden Konfigurationen ist denkbar. Beim PS I von *T. elongatus* wurde zusätzlich mittels



einer Polarisationsanalyse an einzelnen Monomeren festgestellt, dass die Übergangsdipolmomente der Emitter vom C708 und C719 in einem Winkel nahe  $90^\circ$  zueinander stehen. Demnach würde man im Falle eines direkten ETs zwischen den beiden Verbänden erwarten, dass bei einer Anregung mit linear polarisiertem Licht mit einer Wellenlänge von  $\sim 712$  nm die Polarisation der Fluoreszenz einen großen Anteil enthält, der nicht der Polarisation des eingestrahlten Lichts entspricht. Dieses Verhalten geht aus einer Anisotropiestudie am Ensemble hervor [Pål96]. Daher wird ein effizienter direkter ET zwischen Zuständen des C708- und C719-Verbands innerhalb eines Monomers für wahrscheinlich gehalten. Beim PS I von *Synechocystis* deuten entsprechende Anisotropieuntersuchungen [Gob94] daraufhin, dass die unterschiedlichen roten Chlorophyll-Verbände innerhalb eines Monomers eher jeweils durch verschiedene ET-Ketten mit den Antennenpigmenten verschaltet sind, ohne dass ein effizienter direkter ET zwischen ihnen stattfindet. Hierzu existieren in der Literatur auch kontroverse Meinungen [Hsi04, Ril07]. Die momentane Datenlage dieser Arbeit und der Literatur lassen beim PS I von *Synechocystis* keinen eindeutigen Schluss zu.