

Diss. B 736

Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központja
Biofizikai Intézet

**AZ ELEKTRONGERJESZTÉSI ENERGIA ÁTADÁSA KAROTIN ÉS
KLOROFILL KEVERÉKOLDATOKBAN**

Egyetemi doktori disszertáció

Szabad János

SZEGED

1971



Diss. B 736



Tartalomjegyzék

	Oldalszám
Bevezetés	1
1. Az energiavándorlás szerepe a fotoszintézisben	4
2. Az elektrongerjesztési energia vándorlásáról általában	8
2.1. Ütközéses energiaátadás	9
2.2. Sugárzásos vagy "triviális" energiaátadás	9
2.3. Sugárzás nélküli energiaátadás	10
2.4. A rezonanciás energiaátadás esetei	13
2.4.1. Az erős kölcsönhatás esete	14
2.4.2. Gyenge kölcsönhatás esete	16
2.4.3. Nagyon gyenge kölcsönhatás esete	17
2.5. Nagy távolságra ható dipól-dipól kölcsönhatáson alapuló induktív rezonanciás energiaátadás	19
2.6. Csererezonanciás energiaátadás	22
3. Energiavándorlás fotoszintetikus pigmentek között	24
3.1. A homogén energiavándorlásról	26
3.2. A heterogén energiavándorlásról	28
3.2.1. A klorofill-b és klorofill-a molekulák közötti energiaátadás	29
3.2.2. A fikobilinek és a klorofill-a közötti energiaátadás	32

3.2.3. A különböző klorofill formák közötti energiavándorlás	33
3.2.4. A reakciócentrum szerepe az energiavándorlásban	35
3.2.5. A karotinoidok szerepe az energiavándorlásban	36
4. Mérési eredmények	40
4.1. A vizsgált anyagok	40
4.2. Vizsgálati és kiértékelési módszer	42
4.3. Abszorpciós szinképek	49
4.4. Fluoreszcencia szinképek	54
4.5. Fluoreszcencia hatásfok	58
5. Az eredmények értékelése	69
5.1. Az abszorpciós szinképek eredményeinek értékelése	69
5.2. Az emissziós szinképek eredményeinek értékelése	70
5.3. A fluoreszcencia hatásfok vizsgálatok eredményeinek értékelése	71
5.4. Az R_0 számítás eredményeinek értékelése ...	73
5.5. A fluoreszcencia kioltás eredményeinek értékelése	75
5.6. Az energiaátadási frekvencia és hatékonyság eredményeinek értékelése	79
6. Összefoglalás	81
7. Függelék	85
Irodalom	88

Bevezetés

Zöld növényeken, algákon és fotoszintetizáló baktériumokon végzett in vivo kísérletek egész sora bizonyította, hogy bizonyos karotinoidok által elnyelt fény végső soron eljut a klorofill-a molekulákra, és így hasznosul a fotoszintézisben (/1/-/7/). A karotinoidok ilyen funkciója különösen az aljnövényzetet alkotó növények és általában az olyan helyen élő fotoszintetizáló szervezetek életében domborodik ki, amelyek sárga vagy zöld fényben élnek /5/. Arról is vannak elképzelések, hogy a klorofill-b - amellett, hogy energiát nyel el és azt átadja a klorofill-a -nak - a karotinoidok gerjesztési energiáját is átveszi és továbbítja a klorofill-a-ra /8/.

A karotinoid és a klorofill molekulák közötti energiaátadásra vonatkozó in vitro kísérletek meglehetősen szerteágazóak, és az eredmények gyakran ellentmondók. Teale /9/ detergens tartalmu karotinoid klorofill keverékeknél észlelt energiaátadást karotinoidról klorofillra. Litvin /10/ klorofillt és karotinoidot tartalmazó egyrétegeken végzett vizsgálatai is a karotinoid klorofill energiaátadás meglétét bizonyították. Murty és munkatársai /11/ szerint oldatban a karotinoidok a klorofill fluoresz-

cenciáját kioltják, vagyis az energiaátadás iránya fordított; a klorofillról a karotinoid felé irányul. Ezt Livingston és munkatársai /12/, valamint Singhal és munkatársai /13/ nem erősítették meg, és az utóbbi szerzők éter-pentán-alkohol keverék oldószerben végzett kísérleteik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a karotinoidok és a klorofill között oldatban nincs energiaátadás. Gurinovics és Loszev /6/ ricinusolajban oldott pigmenteknél nyert eredmények alapján szintén ezen a véleményen van. Mély hőmérsékleten az energiaátadás tapasztalható volt /6/, és /13/-ban sem zárták ki az átadás lehetőségét bizonyos körülmények között.

A karotinoid klorofill energiaátadás mechanizmusára vonatkozó elképzelések sem egyöntetűek. Duysens /1/ és Rabinowitch /5/ véleménye szerint a karotinoid klorofill energiaátadást Förster egyenleteivel le lehet írni, az energiaátadás az induktív rezonanciás lassu típusba tartozik. Gurinovics /6/ véleménye szerint a karotinoid klorofill *in vivo* energiaátadás típusa nem egyértelműen induktív rezonanciás. Mi előkísérletek során azt tapasztaltuk, hogy a karotinoid-klorofill energiaátadás oldatban is létezik, sőt hatékonysága függ a gerjesztő fény hullámhosszától. Ezért az energiaátadást nem lehet a Förster-elmélet körében teljes mértékben leírni, hiszen Förster elmélete szerint az energiaátadás hatékonysága nem függ a gerjesztő fény hullámhosszától.

Azt, hogy az energiaátadás hatékonysága a gerjesztő

fény hullámhosszától függ Anderson és Weber /48/ figyelte meg 1969-ben. Bauer /61/ ugyanilyen jelenséget tapasztalt aromás szénhidrogénekben végzett kísérletei során. Bauer, Rabinowitch, Szalay és Tombácz /41, 42/ közlése szerint klorofill-b klorofill-a keverékoldatokban is függ az energiaátadás hatékonysága a gerjesztő fény hullámhosszától. Mindezek úgy látszik alátámasztják azt a várakozásunkat is, hogy a karotinoid-klorofill energiaátadásban a klorofill magasabb gerjesztett állapotai is szerepelnek, és így a karotin-klorofill energiaátadás kevert típusu lenne.

A jelen értekezésben azokat a vizsgálatokat ismertetjük, amelyeket béta-karotin klorofill-a, továbbá béta-karotin klorofill-b keverékoldatokon végeztünk abból a célból, hogy a karotinoid-klorofill energiaátadás részleteiről szerezzünk információkat.

Közelebbről választ kívántunk nyerni a következő kérdésekre:

- a) Függe az energiaátadás hatékonysága a gerjesztő fény hullámhosszától?
- b) A kölcsönhatásban levő molekulák távolságától hogyan függ az energiaátadás gyakorisága?
- c) Szerepelnek-e az energiaátadásban a kölcsönhatásban levő molekulák magasabb gerjesztett állapotai?

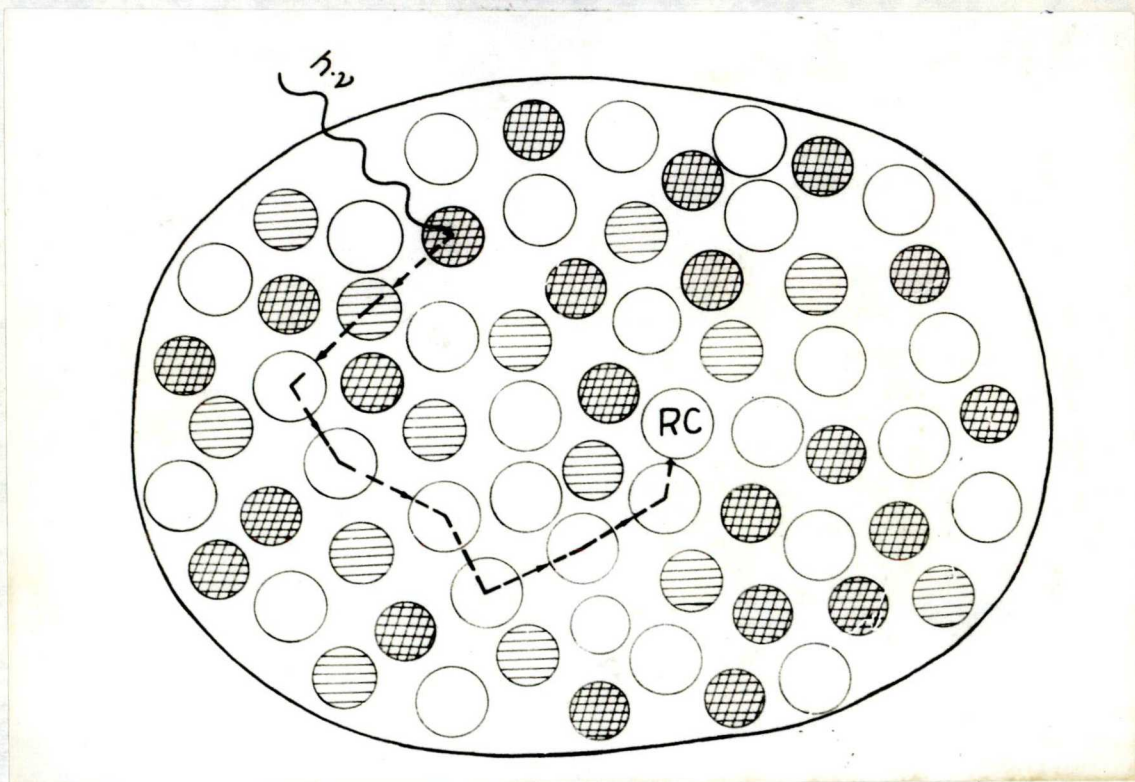
A fenti kérdésekre adott válaszok birtokában remélhetünk választ arra az alapvető kérdésre, hogy milyen az energiaátadás mechanizmusa és arra, hogy a fotoszintetizáló szervezetekben a karotinoidok szerepe - legalább ebben a vonatkozásban - közelebbről miben jelölhető meg.

1. Az energiavándorlás szerepe a fotoszintézisben

Emerson /14/ vizsgálatai alapján vetődött fel annak gondolata, hogy a fotoszintetikus folyamatokban nem egyedi festékmolekulák, hanem molekula-csoportok működnek közre. Emerson ezeket a molekula-csoportokat pigmentrendszereknek nevezte el. Annak lehetőségét, hogy minden egyes klorofill-a molekula résztvesz a fotokémiai reakcióban a kloroplaszt szerkezetére vonatkozó vizsgálatok /15, 16/ eredményei és az ide vonatkozó enzimreakciók ismerete kizárja. A pigmentrendszerre az irodalomban többféle megfogalmazást találunk. Bertsch Azzi és Davidson /17/ szerint a pigmentrendszer olyan pigmentmolekulák csoportját jelenti, amelyek között a gerjesztési energia szabadon vándorolhat. Fork és Ames /18/ szerint a pigmentrendszer a fotokémiai reakcióban résztvevő molekulának - az ún. reakciócentrumnak - és azoknak a fényt abszorbeáló molekuláknak az összessége, amelyek ehhez a reakciócentrumhoz adják gerjesztési energiájukat. A reakciócentrum speciális környezetben lévő klorofill-a molekula /19,20,63/, amely gerjesztődés hatására fotooxidálódik, biztosítva ezzel a fotoszintézis biokémiai folyamatait. A pigmentrendszerben a reakciócentrumon kívüli festékmolekuláknak az a szerepe, hogy a fényt abszorbeálják, és a reakciócentrumhoz továbbítják /3/, ezzel mintegy megnövelve a reakciócentrum abszorpciós keresztmetszetét. A fotoszintézis akkor hatá-

szos igazán, ha a fotoszintetizáló szervezetek pigmentjei a Nap sugárzásának minél nagyobb részét elnyelik, és az elnyelt energiát nagy hatásokkal továbbítják a reakciócentrumhoz. Az 1. ábra mutatja a pigmentrendszert, benne a reakciócentrumot, a fényt abszorbeáló molekulákat, és az energia vándorlásának útját.

Az összes fotoszintetizáló élőlény két fotoreaktív pigmentet tartalmaz. A fotoszintetizáló baktériumok a



1. ábra

bakterioklorofil, a zöld növények és az algák a klorofil-a-t. E két fő pigment mellett ún. járulékos pigmenteket is találunk, amelyek a spektrumnak a klorofil-a elnyelésén kívüli tartományába eső fénynek a hasznosítását teszik lehetővé. Ily módon a fotoszintézis szem-

pontjából számításba vehető fény hullámhossza 400-tól 900 nm-ig terjed. A járulékos pigmentek csoportjába a klorofill-b-t, a fikobilineket és a sárga pigmenteket, a karotinoidokat szokás sorolni, amely utóbbiak előfordulásukat tekintve univerzálisak.

A fotoszintetikus pigmentek a sejtben speciális elrendeződést mutatnak /15, 16/. Valószínű, hogy a kloroplaszt-membrán olyan pigment elrendeződést tesz lehetővé, amely az energiavándorlás szempontjából kedvező.

A karotinoid pigmentek funkciójára vonatkozóan több elképzelés van. A legkorábbiak Frei-Wisslingtól származnak és kissé szofisztikusak: a sárga pigmentek haszna a növények szaporodásában és elterjedésében van. Bizonyos, hogy szerepük van az autotróf élőlények fotomozgásában /21/. Esetenként szűrő szerepük domborodik ki: az egyéb pigmentekre ártalmas, azok fotooxidációját okozó fényt elnyelik, kivédve ezzel a fotoérzékeny pigment károsodását. Ezzel az esettel találkozhatunk a zöldülő etiolált leveleknél is /22/. A karotinoid pigmentek hiányában elmarad a kloroplaszton belül a pigmentek sajátos organizációja /23/: a klorofill molekulák speciális kapcsolatai nem tudnak kialakulni, ami miatt az ilyen növények fényhatásra különösen érzékenyek. Rendkívüli fontosságu a karotinoid pigmentek klorofill fotooxidációját kivédő hatása. Az ide vonatkozó vizsgálatok eredményeit Krinsky /24/ foglalta össze. A jelenlegi elképzelések szerint a fotoszintézis folyamatában keletkező oxigén az egyik ka-

rotinoid féleségbe, a zeaxantinba beépül és közben elmarad a klorofill fotooxidációja. Mathis /26/ szerint a karotinoidok védő funkciójának az az alapja, hogy a karotinoid triplettek a reakcióképes szingulett gerjesztett oxigént és a reaktív szabad gyököket képesek kioltani, így a klorofill triplett állapotát is, amelyben a klorofill fény okozta károsodása könnyen bekövetkezik, kivédve ezáltal a károsodást. A karotinoid triplettekről feltételezik, hogy 515 nm-nél mutatnak abszorpciós maximumot /27, 28/.

Más vélemények szerint /28, 29/ a karotinoidok a klorofill molekulákkal olyan töltésszállító komplexeket képezhetnek, amelyekben a klorofill molekula mint elektron akceptor szerepel és ez a komponens a fotoszintetikus elektrontranszport fontos láncszeme lehet. Több szerző /28, 29/ a differencia-spektrumokban 515 nm-nél mutatkozó csucset ilyen karotinoid-klorofill töltésszállító komplexnek tulajdonítja.

A karotinoidoknak az előzőekben felsorolt funkciói mellett az energiavándorlásban betöltött szerepük is nagyon fontos. A növények élete szempontjából ugyanis nem lényegtelen, hogy a fénynek azt a részét, amelyet a karotinoidok nyelnek el tudják-e hasznosítani, vagy sem. A fotoszintézis akciós spektruma (a különböző hullámhosszú egységnyi elnyelt fényenergia hatására keletkezett oxigén mennyisége a hullámhossz függvényében) és a klorofill ún. szenzibilizált fluoreszcenciája az a két esz-

köz, amelyekkel a karotinoideknak az energiavándorlásban betöltött szerepét vizsgálhatjuk. A vizsgálatokat megnehezíti az a tény, hogy a karotinoidek a látható tartományban történő gerjesztés hatására nem, vagy csak kis hatásfokkal lumineszkálnak /1, 47/, nem ismert a fluoreszcenciájuk hatásfoka és a gerjesztett állapotuk átlagos élettartama sem. A karotinoidek által elnyelt fényenergiának a reakciócentrumhoz jutásáról, az energiaátadásban betöltött szerepéről a későbbiekben szólnunk.

2. Az elektrongerjesztési energia vándorlásáról általában

Energiavándorlás során elektrongerjesztési energia megy át gerjesztett molekuláról gerjesztetlenre. A gerjesztési energia festékmolekulák közötti vándorlását régóta és sokan tanulmányozzák, a témakörből számos összefoglaló munka is megjelent /3, 32-39/. Az ide vonatkozó vizsgálatok eredményei különösen fontosak a látás, a fotoszenzibilizálás és nem utolsósorban fotoszintézis folyamatának megértésében is.

A gerjesztési energia átadása különböző (szingulett, triplett) elektronállapotokat foglalhat magába. Az energiaátadás folyamata a molekulák közötti kölcsönhatás jellegétől, az abszorpció és emisszió átmenetek energiájától, a molekulák közötti R távolságtól függően különböző mechanizmusok szerint megy végbe. Amikor az ener-

energiaátadási folyamatokat a jobb áttekinthetőség kedvéért osztályozzuk, az előző két paramétert vesszük osztályozási alapul. Ezek alapján három fő energiaátadási mechanizmust különböztetünk meg.

2.1. Ütközéses energiaátadás. A gerjesztett molekula gerjesztési energiáját a gerjesztetlen molekulákkal történő mechanikai ütközések során is átadhatja. Az energiaátadás sebességi állandóját azonos nagyságú molekulák ütközésének esetére Debye /36, 37/ a következő alakban adta meg:

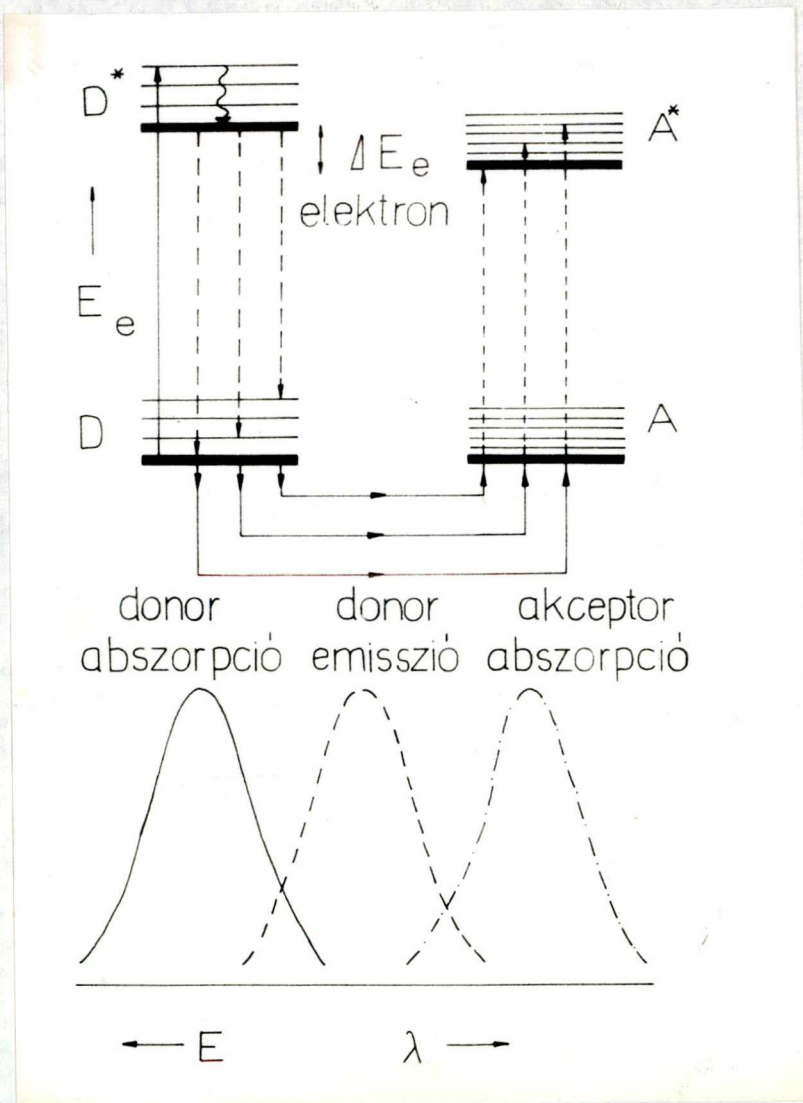
$$k = \frac{8RT}{3000\eta} \quad (2.1)$$

ahol R az univerzális gázállandó, T az abszolút hőmérséklet, η a viszkozitás poise-ban. Az ütközéses energiaátadásnak a kloroplasztban nem lehet nagy szerepe, hiszen a festékmolekulák a lamellarendszerben gyakorlatilag rögzítettek, elmozdulásukra a gerjesztett állapot élettartama alatt nincs nagy lehetőség.

2.2. Sugárzásos vagy "triviális" energiaátadás. Sugárzásos az energiaátadás, ha valamely gerjesztett donor molekula gerjesztési energiáját egy gerjesztetlen akceptor molekulára foton közreműködésével adja át. Ilyenkor a donor molekula gerjesztési energiáját fény formájában kisugározza, majd ezt a fényt az emittáló molekulától nagy távolságban levő gerjesztetlen molekula ab-

szorbeálja. A két folyamat (az emisszió és az abszorpció) között jelentős idő telhet el. A sugárzásos energiaátadás szükséges feltétele, hogy a donor emissziós és az akceptor abszorpciós spektrumai átfedjék egymást. Az energiaátadás hatásfokát a donor fluoreszcencia kvantumhatásfoka és a donor fluoreszcencia szinképnek az akceptor abszorpciós szinképével való átfedése szabja meg. A sugárzásos energiaátadás jelentősége az, hogy igen nagy távolságban levő molekulák között lehetővé teszi a gerjesztési energia vándorlását. Az energiaátadás hatékonysága, annak valószínűsége, hogy az energiaátadás bekövetkezik, a molekulák közötti távolság négyzetével arányosan csökken. A sugárzásos energiaátadásnak igen nagy jelentősége van a Nap-Föld viszonylatban és a látásban is.

2.3. Sugárzás nélküli energiaátadás. Ha a molekulák között alkalmas kölcsönhatás van /36/ a gerjesztési energia foton közreműködése nélkül is átadódhatik. Az átadás nagy valószínűséggel végbemegy, ha a molekulák közötti távolság a molekulaátmérő néhányszorosa, de az energia több lépésben nagyobb távolságra is eljuthat. Fontos az is, hogy a donor molekulák D gerjesztett és D alapállapota, valamint az akceptor molekulák A gerjesztett és A alapállapotai között rezonancia legyen. Ez a feltétel teljesül, ha a $D^* \rightarrow D$ $A \rightarrow A^*$ átmenetek közel azonos energiát jelentenek. Ha az energiaszintek között kis különbség van, az energiaátadási folyamatokba a vib-



2. ábra

ciójának lehet tulajdonítani, az emittáló molekulát Hertz-féle oszcillátornak lehet tekinteni. A vibrációs energia átadása két oszcillátor között észlelhető, ha azok oszcillációs frekvenciája azonos. Egy-egy molekulában a vibrációs frekvenciák száma több is lehet: a donor oszcillátor oszcillációs frekvenciái ugyanazok, mint a fluoreszcencia spektrum frekvenciái, az akceptor molekula oszcillációs frekvenciái pedig abszorpciós spektrum frekvenciái. A ha-

rációs szintek is bekapcsolódnak. Az energiaátadási folyamatokban a rövid élettartamu szingulett és hosszabb élettartamu triplett állapotok egyaránt résztvehetnek. (2. ábra)

Az energiaátadási folyamat kissé részletezve a következő. Az elektromágnesség klasszikus elmélete szerint a molekula vagy atom fényemisszióját elektromos töltések vibrá-

tékony energiaátadás legfontosabb feltétele az, hogy a két oszcillátor említett frekvenciái közül minél több egyezzen, más szóval a donor fluoreszcencia és az akceptor abszorpciók szinképe minél nagyobb mértékben átfedje egymást. Mivel az oszcillátorként felfogható gerjesztett molekula elektromos tere a molekulától távolodva erősen csökken, várhatóan az energiaátadás hatékonysága is erősen csökkenni fog a molekulák közötti R távolság növekedtével. Az energiaátadás hatékonysága ezen kívül függ a molekulák közötti kölcsönhatási energia nagyságától és a gerjesztett állapotot megszüntető folyamatok (sugárzásos és sugárzás nélküli energiaátadás) sebességétől is.

A gerjesztett molekula legalacsonyabb elektronenergiájú gerjesztett állapotából a gerjesztési energiát három úton adhatja le, foton-emisszióval, rezonanciás energiaátadással és sugárzás nélküli átmenettel. Ha ezek frekvenciája rendre n_e , n_t és n_i (sec^{-1}), akkor a sugárzás nélküli energiaátadás hatásfoka a következő összefüggéssel adható meg:

$$e_t = \frac{n_t}{n_t + n_e + n_i} \quad (2.2)$$

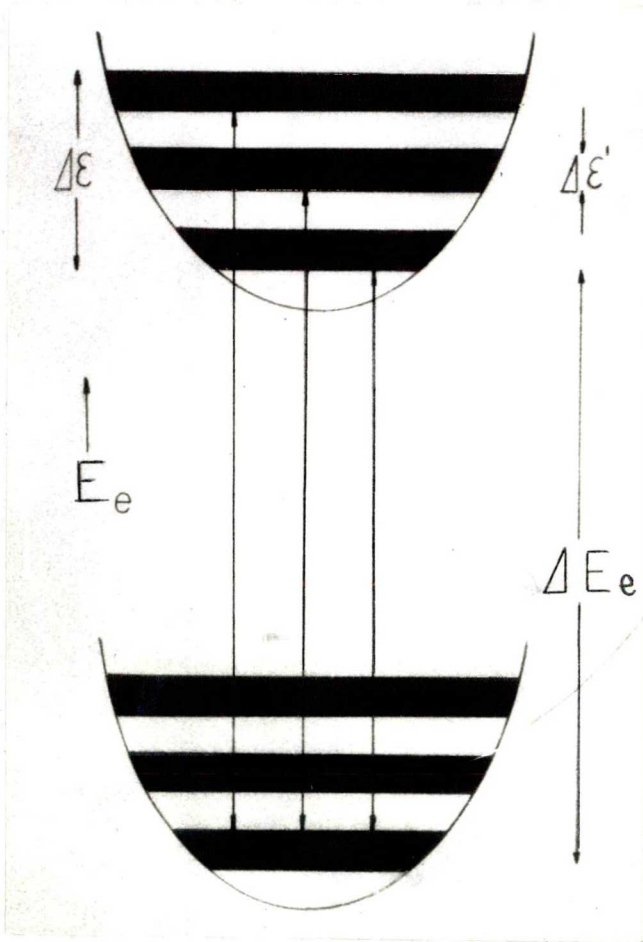
Mint hogy $n_t + n_e + n_i = n$ -el, a gerjesztési (itt fényabszorpció) események frekvenciájával egyenlő és $n = 1/\tau$, ahol τ a molekula gerjesztett állapotának átlagos élettartama (általában 10^{-8} - 10^{-10} sec),

$$e_t = n_t \cdot \tau \quad (2.3)$$

vagyis az energiaátadás hatásfoka annál nagyobb, minél nagyobb a molekula gerjesztett állapotának átlagos élettartama. n_t a gerjesztett molekulát deaktiváló folyamatok mellett a molekulák közötti kölcsönhatási energia nagyságától is függ. Az U kölcsönhatási energia két töltés között a töltések R távolsága esetén R^{-1} -el arányos. Elektromos töltés és permanens dipól között az U R^{-2} -tel, permanens és permanens dipól között R^{-3} -al arányos. Kölcsönösen indukált dipólok /5/ esetében és a donor fluoreszcencia akceptor abszorpció átfedésekor R^{-6} -al arányos. Az átfedő abszorpciójú molekulák között (elsősorban azonos típusú molekulák esetében) a kölcsönhatás dipól-dipól kölcsönhatás, a kölcsönhatási energia R^{-3} -al arányos, ha R nagyobb mint a töltések távolsága a molekulán belül.

2.4. A rezonanciás energiaátadás esetei. Az U kölcsönhatási energia, a $\Delta\varepsilon$ vibrációs sáv szélesség és az egyedi vibrációs szintek $\Delta\varepsilon'$ a sáv szélességének figyelembevételével a rezonanciás energiaátadáson belül három jól elkülöníthető esetet szokás megkülönböztetni:

- $U \gg \Delta\varepsilon \gg \Delta\varepsilon'$, erős kölcsönhatás "csatolás" esete
- $\Delta\varepsilon \gg U \gg \Delta\varepsilon'$, gyenge "csatolás" kölcsönhatás esete
- $\Delta\varepsilon \gg \Delta\varepsilon' \gg U$, nagyon gyenge "csatolás" kölcsönhatás esete



$\Delta \epsilon$ az ún. Franck-
-condon sáv szélesség,
 ΔE_e pedig az elekt-
ronenergia különbsé-
get jelöli a fluo-
reszcens és az alap-
állapot között. (3.
ábra)

3. ábra

2.4. 1. Az erős kölcsönhatás esete ($U \gg \Delta \epsilon \gg \Delta \epsilon'$).

1/a. $U \gg E_e$. Főleg azonos típusú molekulák vagy olyan molekulák rendezett rendszerében fordul elő, amelyek abszorpciós sávjai átfedik egymást, és a dipól-dipól kölcsönhatás erős volta miatt a gerjesztődés nem marad meg egy molekulán, hanem a rendszer minden tagjára kiterjed [35, 39]. A kölcsönhatás a molekulákat ekkor mintegy "szuper molekulává" kapcsolja össze. Emiatt a rendszer sta-

tisztikusan gerjesztett állapotairól szokás beszélni, amelyeket Frenkel "exciton állapotoknak" nevezett. Szokás az energiaátadás ilyen típusát "exciton vándorlásnak" vagy elsőrendű energiaátadásnak /55/ is nevezni. Gurinovics /35/ az energiaátadás "exciton" és induktív rezonanciás eseteit különíti el. A gerjesztődés nagyfokú delokalizációja miatt lehetetlenség egyetlen komponenset egyedül gerjeszteni. Ilyen erős kölcsönhatás mellett a kezdeti állapot minden vibrációs szintje rezonanciában van a végső állapotéval. Az energiaátadás frekvenciájára a következő összefüggést lehet megadni /36/:

$$n_t \sim \frac{4|U|}{h} \quad (2.4)$$

ahol h a Planck-féle állandó. U -t 10^4 cm^{-1} -nek véve n_t -re 10^{15} sec^{-1} -nyi értéket kapunk, ami az elektron oszcilláció 10^{14} sec^{-1} -nyi frekvenciájához és a magrezgések frekvenciájához képest is gyors. Ezért is szokás az energiaátadásnak ezt a típusát "gyors"-nak nevezni. n_t a hőmérséklettől alig függ. A gerjesztődés igen gyorsan kiterjed az egész rendszerre és nyilvánvalóan az energiaátadás igen hatékony esetével állunk szemben. e_t , az energiaátadás hatásfoka ebben az esetben a távolságtól R^{-3} -on típusu függést mutat /3, 35, 36, 63/. Az ilyen feltételek mind az abszorpció, mind az emisszió alapos változásához vezetnek (többkomponensű rendszerek és azonos típusú molekulák rendszerében is) a komponensek abszorp-

ciójához és emissziójához viszonyítva, így az erősen csatolt rendszerek abszorpciós spektruma és a komponensek abszorpciós spektrumai között nagy távolságok jellemzik, a különbségek még a vibrációs spektrumban is megfigyelhetők (ez az un. "exciton hasadás").

1/b. $\Delta E_e \gg U$. Ha az elektronenergia különbség nagyobb mint a kölcsönhatási energia, a gerjesztési energia időben főleg az egyik komponensen lokalizálódik. A rendszer vibrációs állapotai közötti átmenetek végső soron azt eredményezik, hogy a gerjesztődés az akceptorra lokalizálódik. Ennek az esetnek a jelentősége nem nagy.

2.4. 2. Gyenge kölcsönhatás esete ($\Delta E \gg U \gg \Delta \epsilon'$).

2/a. $U \gg E_e$. A gyenge kölcsönhatás esetében a gerjesztési energia átadása még mindig gyors a vibrációs relaxációhoz képest, de lassu ahhoz, hogy az átadási folyamat után az illető komponens magja számos rezgést ne végezzen az energiaátadás bekövetkezése előtt. A gerjesztési energia átadása együtt jár számos vibrációs periódussal és a mag-egyensúlyi helyzetek újrendeződésével. Mint-hogy $U \ll \Delta E$, a komponenseknek csak egyes egyedi vibrációs szintjei lehetnek rezonanciában, ami miatt az energiaátadás hatékonysága kisebb lesz mint az erős kölcsönhatás esetében, ezért (2.4) módosul:

$$w_t \sim \frac{4|U|}{\hbar} S_{v,w}^2 \quad (2.5)$$

ahol $S_{v,w}$ tulajdonképpen a vibrációs átfedési integrál,

a $v \rightarrow w$ intramolekuláris átmenet Franck-Condon integrálja. /5/-ben az $US_{v,w}^2$ szorzatot úgy lehet tekinteni, mint az energiaátadási folyamatba foglalt vibrációs szintek közötti kölcsönhatási energiát. Mivel $S_{v,w} < 1$, még ha U értéke egyenlő is az erős kölcsönhatásnál látott U értékével, n_t akkor is kisebb lesz mint az erős kölcsönhatás esetében, n_t általában $10^{12}-10^{13} \text{ sec}^{-1}$ /35/.

A gyenge kölcsönhatás esete nem vezet mélyebb spektrális változásokhoz, hanem csak kicsiny, másodrendű effektusokhoz, mint pl. hypo-, vagy hiperkromizmus és bizonyos vibrációs szintek felhasadásához.

2/b. $E_e \gg U$. Ebben az esetben a gerjesztődés a donor akceptor pár között a vibrációs relaxáció sebességénél nagyobb sebességgel cserélődik ki, de mivel $\Delta E_e \gg U$, az 1/b-ben látottakhoz hasonlóan végül is az akceptoron lokalizálódik, ha csak nem áll fenn a $kT = \Delta E_e$ összefüggés, amelyben k a Boltzman állandó, T a hőmérséklet K° -ban.

2.4. 3. Nagyon gyenge kölcsönhatás ($\Delta E \gg \Delta E' \gg U$)

3/a. $\Delta E_e \gg U$. Ha a kölcsönhatási energia a vibrációs sáv szélességénél is kisebb, a vibrációs szinteknek csak kis része van rezonanciában. Az ilyen kapcsolat esetében a rendszer tulajdonságai a gyengén csatolt rendszer tulajdonságaitól eltérnek. Az energiaátadás frekvenciáját ebben az esetben a következő összefüggéssel lehet megadni:

$$n_t \sim \frac{4 \pi^2 U^2 S^4_{v,w}}{h \Delta E} \quad (2.6)$$

Látható, hogy az energiaátadás mértéke az $US_{v,w}^2$ vibrációs kölcsönhatási energia négyzetével arányos. A nagyon gyenge kölcsönhatás esetében az energiaátadás sebessége kisebb a vibrációs relaxáció sebességénél, ezért a gerjesztődés az energiaátadás bekövetkezése előtt a donoron, azután pedig az akceptoron lokalizálódik, hiszen az energiaátadási folyamat bekövetkezése előtt a donor molekulában, majd ezután az akceptor molekulában termális egyensúlyi helyzet alakul ki. Ezért nem megy a gerjesztési energia "visszafelé", az akzeptorról a donorra (hacsak nem $kT = \Delta E_e$). A fentiek miatt szokás ezt az energiaátadási típust "lassu"-nak, vagy vibrációs relaxációnak nevezni, szemben az előző két esetre használt "gyors" megjelöléssel. Az energiaátadás határfoka nagyon gyenge kapcsolatok esetében sokkal gyorsabban csökken a donor-akceptor távolság növekedésével, mint a gyenge kapcsolatok esetében.

3/b. $U \gg \Delta E_e$ Ebben az esetben az azonos típusú molekulák között lejátszódó lassu energiaátadási folyamatok tartoznak ($\Delta E_e = 0$), az esetnek nincs nagy jelentősége, csak a teljesség kedvéért említjük meg.

A nagyon gyenge kölcsönhatások esetében az abszorpció spektrumok semmilyen változást nem mutatnak /35/, a donor gerjesztett állapotának élettartama lecsökken /35/.
 $n_t \quad 3 \cdot 10^{-8} - 3 \cdot 10^{-12} \text{ sec}^{-1}$.

k^2 a molekulák kölcsönös orientációjától függő állandó,

$$(2.8) \quad 1 = \int_{-\infty}^{\infty} f(\nu) P(\nu) d\nu$$

és a következő feltétel mellett
 oszlás, $f(\nu)$ a donor emissziójának spektrális eloszlá-
 s a dekadikus extinkciós koefficiensének spektrális el-
 oszlása, $P(\nu)$ a frekvencia (ν -ben) az akceptor mole-
 kulák donor gerjesztett állapotának természetes élettár-
 túsági törésmutatója, N a millimoljonkénti molekulák száma,
 c a donor gerjesztett állapotok, az akceptor nincs jelen, n a kö-
 zeg törésmutatója, Φ_D a donor fluoresz-
 zenciá c a fény terjedési sebessége,

$$(2.7) \quad \frac{N^2}{c} = \frac{5000 \cdot 10^4 \cdot h^2 \cdot c^4 \cdot \Phi_D}{8 \pi^2 \cdot N^2 \cdot \nu^4 \cdot \nu^4 \cdot \nu^4 \cdot \nu^4} \int_{-\infty}^{\infty} f(\nu) P(\nu) d\nu$$

2.5. Nagy távolságra ható, dipól-dipól kölcsönha-
 tásos alapú indukált rezonanciás-energiaszállítás. A na-
 gyon gyenge kölcsönhatás esetén belül, ha a kölcsönhatás
 tisztán dipól-dipól jellegű, a donor és akceptor moleku-
 lák jól elválasztottak és viszonylag szűles, nem struk-
 turált spektrumuk van és nincs számottevő oldószerhatás,
 a rezonanciás energiaszállítás olyan típusú állé, amely
 a molekulaméreteknél sokkal nagyobb távolságra is hatékony.
 n^2 -t erre az esetre kiserleltileg mérhető paraméterekkel
 könnyen meg tudjuk határozni, ha néhány feltétellest te-
 szünk. Először, hogy a molekulák kövdebb idő alatt ke-
 rülnek termikus egyensúlyba, mint az energiat átvadás (ve-
 gyes a vibrációs relaxáció gyorsabb az energiaszállítással)
 forster a következő összefüggést adta /33, 60/

(értéke 1, ha a dipólok párhuzamosak, 4 ha sorba rendezettek, 0 ha egymásra merőlegesek és $2/3$, ha a dipólok a gerjesztés alatt elmozdulhatnak, elhelyezkedésük rendezetlen /3/). A (2.7)-ben szereplő integrál jel utáni rész ν^{-4} kivételével a donor emisszió és az akceptor abszorpció átfedésének mértéke. A (2.7) összefüggés tekintet nélkül a szóban forgó állapot élettartamára, egyfajta és különböző fajta molekulákra is érvényes.

A "Förster-tipusu" energiaátadás hatékonyságát rendszerint R_0 -al, az un. kritikus távolsággal szokás jellemezni. R_0 jelenti a donor és akceptor molekula között azt a távolságot, amelynél $n_t = n_e + n_i$, az energiaátadás sebessége megegyezik a gerjesztett állapotot megszüntető más folyamatok együttes sebességével. R_0 a már említett paraméterekkel a következő módon adható meg:

$$R_0^6 = \frac{9(\ln 10) k^2 c^4 \Phi_d}{128 \pi^5 n^4 N'} \int_0^\infty f_n(\nu) \varepsilon(\nu) \frac{d\nu}{\nu^4} \quad (2.9)$$

tehát

$$n_t = \frac{1}{\tau_d} \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 \quad (2.10)$$

Minél nagyobb R_0 , annál jobb hatékonysággal játszódik le az energiaátadás két azonos távolságu molekula között.

A dipól-dipól energiaátadást gyakran jellemzik a C_0 un. kritikus koncentrációval. Erre az akceptorkoncentrációra fennáll:

$$C_0 = \frac{3}{2\sqrt{\pi}^3 N' R_0^3} \quad (2.11)$$

C_0 értékét a molekulák rendezetlen eloszlása esetén a donor fluoreszcencia hatásfokának (Φ) változásából a következő összefüggéssel lehet megadni /60/:

$$\frac{\Phi}{\Phi_0} = 1 - \sqrt{\pi} \left(\frac{C_M}{C_0} \right) e^{\left(\frac{C_M}{C_0} \right)^2} \left[1 - \varphi \left(\frac{C_M}{C_0} \right) \right] \quad (2.12)$$

ahol $\varphi(x)$ az un. Gauss-féle hibaintegrál:

$$\varphi(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_x^\infty e^{-\xi^2} d\xi \quad (2.13)$$

A $\log \Phi/\Phi_0 = f(\lg c_M)$ függvényt szokás kioltási görbének nevezni /62/. R_0 -ra, ha $\varepsilon \approx 10^4$ mol.cm és $\Phi_d = 0,1-1,0$ között változik 50-100 Å-nyi értéket kapnak. Megjegyezzük, hogy oldatokban és bizonyos típusú szilárd fázisokban lejátszódó energiaátadási folyamatok nagy részét lehet írni a most említett formulákkal. Az energiaátadás Förster formuláival leírható típusát szokás "lassu" vagy "másodrendű" /55/ energiaátadásnak is nevezni.

A gerjesztési energia egy molekulán belül, a kromofór csoportok között is vándorolhat /40/ - sugárzás nélkül. Az ide vonatkozó vizsgálatok eredményei nagy fontosságúak a fehérje-, a nukleinsav-molekulák és nagyobb szerves molekulák esetében.

2.6. Csererezonanciás energiaátadás. Ha a molekulák egymáshoz nagyon közel helyezkednek el (a közöttük levő távolság 10-15 Å) a molekulák elektronfelhői kölcsönösen átfedhetik egymást. Ez a helyzet - amely gyengébb kölcsönhatást tételez fel mint az induktív rezonanciás - elégséges az energiaátadáshoz /35/. A cserezonanciás energiaátadás esetében az energiaátadás valószínűségét a következő összefüggéssel lehet megadni:

$$w_t = \frac{2\pi}{h} Z^2 \int_0^{\infty} f(\nu) \varepsilon(\nu) d\nu \quad (2.14)$$

ahol Z^2 egy mértékegység nélküli kifejezés.

A fotoszintetikus apparátus bizonyos helyein a pigmentkoncentráció olyan nagy lehet, hogy bizonyos kvázikristályos struktúrák keletkezését teszi lehetővé /35/. Ilyen körülmények között a molekulák olyan közelségbe kerülnek, hogy elektronfelhőik átfedése miatt lehetőség adódik a cserezonanciás energiaátadásra.

E fejezet végén rövid táblázatban foglaljuk össze az egyes fent említett energiaátadási típusok jellemzőit, valamint azt, hogy milyen kísérleti kritériumok alapján tudjuk az energiaátadást besorolni az említett kategóriákba.

2.1. táblázat

Az energiaátadás típusa	Sugárzásos, vagy "trivialis"	Sugárzás nélküli energiaátadás				
		ütközéses	exciton vagy "elsőrendű"	Delokalizált molekuláris exciton	Induktív rezonanciás vagy "másodrendű"	csere-rezonanciás
jellemzők						
A kölcsönhatás jellege	-	-	nagyon erős	gyenge vagy közepes	nagyon gyenge	nagyon gyenge
Kölcsönhatási energia (cm ⁻¹)	-	-	10 ³	10-100	1-10	1
n _t (sec ⁻¹)	változó	változó	10 ¹⁴	10 ¹² - 10 ¹⁴	10 ⁸ - 10 ¹²	10 ¹³
Koncentráció (mol/l)	-	-	5	0,1-5	10 ⁻⁴ - 0,1	5
Hatótávolság R		1-10	5	5-20	20-100	10-15
Az energiavándorlás távolságfüggésének jellege	R ⁻²	-	R ⁻³	R ⁻³	R ⁻⁶	-
Az energiaátadás hatékonysága növekvő viskozitáskor	változatlan	erősen csökken	?	?	?	?
Donor élettartam	változatlan	csökken	csökken	csökken	csökken	csökken
Donor emissziós spektrum	változik	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan
Donor abszorpciós spektrum	változatlan	változatlan	erősen változik	enyhén változik	változatlan	változatlan

3. Energiavándorlás fotoszintetikus pigmentek között

A Föld felszínére eljutó napfény hullámhossz-tartománya 400-tól 900 nm-ig terjed. Az ebben a tartományban érkező fényenergiát kell a fotoszintetizáló növényeknek abszorbeálniuk. Ha a fotoszintetizáló növények csak egyféle pigmentet (pl. klorofill-a-t) tartalmaznának, a rendelkezésre álló fényenergiának csak töredékét tudnák hasznosítani, hiszen a klorofill-a abszorpciós spektruma nem terjed ki az egész említett tartományra. Ahhoz, hogy az abszorpció maximális helyétől különböző hullámhosszaknál a fényenergiának legalább 50 %-t abszorbeálják, a pigment koncentrációjának kb. 3 mol/liter-nyinek kellene lenni. Ilyen nagy pigmentkoncentráció a sejtstruktúrával összeegyeztethetetlen /3, 5/.

A klorofill-a koncentrációját a pigmenteket tartalmazó rész térfogati vagy területi viszonyai és a pigmentmolekulák száma alapján - in vivo 10^{-1} mol/liter-nyinek gondolják, de a pigmentek lokális koncentrációja ennél nagyobb is lehet. Ilyen klorofill koncentráció mellett egy 5×10^{-4} cm nagyságú Chlorella sejt a ráeső vörös és kék fénynek mintegy 60-70 %-t elnyeli /5/. Egy több sejtrétegből álló levélen áthaladó, a klorofill-a kék és vörös abszorpciós maximumának megfelelő hullámhosszuságú fény gyakorlatilag teljesen elnyelődik /5/. Figyelembe véve, hogy a legnagyobb fényintenzitás, amely a természetben előfordul $I = 10^{16} - 10^{17}$ kvantum

$\text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$ /5/, a sec-onként elnyelt kvantumok száma $n = 9,21 \cdot 10^{-21} \varepsilon I$ alapján ($\varepsilon = 10^4 - 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ -t feltételezve) 4-10 kvantumsec⁻¹. Figyelembe véve, hogy egy enzim molekula másodpercenként $10^3 - 10^5$ reakciót katalizálhat, nyilvánvaló, hogy minden egyes klorofill-a molekulához nem tartozhat egy-egy, a fotoszintézis enzimreakcióit lebonyolító enzimsoport. Az ilyen elrendezés helyigénye nagy volna, ami viszont alacsony pigmentkoncentrációval járna együtt. Ha azonban egy-egy enzimsoporthoz csupán néhány (esetleg csak egyetlen) fotoreaktív, valamint 300 fényelnyelő energia továbbító klorofill-a molekula tartozik (l. a fotoszintetikus egy-ségről alkotott elképzeléseket /17, 18/), akkor elképzelhető, hogy egy enzimsoport a 300 klorofill-a molekula által sec-ként elnyelt 10^4 -nyi fotont hasznosíthatja. Csupán az a kérdés, hogy a klorofill-a molekulák gerjesztési energiája hogyan jut el az említett fotoreaktív klorofill-a molekuláig, a reakciócentrumig. A gerjesztési energiát anyagi részecskék nem szállítják, ezeknek a reakciócentrum felé való diffúzióját ki lehetne mutatni, de erre nincsen bizonyíték. Gondoltak arra is, hogy a gerjesztési energiát elektronok viszik el az enzimsoporra /1/, de ezt az elképzelést sem sikerült kísérletileg bizonyítani /1, 34/. Sokkal kézenfekvőbb az az elképzelés, amely szerint a gerjesztési energia klorofill-a molekulákon át rezonanciás energiaátadással

vándorolva jut el a fotoreaktív klorofill-a molekuláig, az enzimesoportig.

Az energiaátadás-kutatások célja az, hogy tisztázzuk a fotoszintetikus pigmentek közötti energiaátadás jellegét, hatásfokát és távolságfüggését *in vitro* és *in vivo* is. A feladat nem egyszerű. Az *in vivo* rendszerek összetétele rendkívül heterogén és az egyes pigmentek *in vivo* koncentrációja, fluoreszcencia kvantumhatásfoka stb. is ismeretlen. Nem eldöntött kérdés az sem, hogy az *in vivo* energiaátadás jellege milyen. A fent említett okok miatt a fotoszintetikus pigmentek közötti energiaátadást gyakran modellrendszereken vizsgálják. Az energiavándorlást kísérletileg általában az akciós spektrum, a szenzibilizált lumineszcencia, a fluoreszcencia polarizációfok, a fluoreszcencia kioltás és a fluoreszcencia csillapodás vizsgálata útján tanulmányozzák.

3.1. A homogén energiavándorlásról. Az egynemű molekulák közötti energiavándorlást szokás homogén energiavándorlásnak nevezni.

Ép, zöld levelekben a klorofill-a molekulák között lejátszódó energiaátadást eddig még kísérletileg nem sikerült kimutatni, az energiaátadás meglétére csak következtetni tudunk /6/. Zöldülő etiolált levelekben azonban sikerült kimutatni a klorofill-a molekulák között lejátszódó energiavándorlást a fluoreszcencia polarizáció-

fok és a fluoreszcencia csillapodás időben mutatott változásai alapján. Megfigyelték ugyanis /6, 35/, hogy a levél zöldülése folyamán, amikor a klorofill-a molekulák száma nő, a polarizációfok csökken. Ez a koncentrációs depolarizáció az energiavándorlásra utal. Minthogy a zöldülés kezdetén a járulékos pigmentek mennyisége elhanyagolható, el lehet fogadni azt a feltételezést, hogy a fluoreszcencia -polarizációfok csökkenését valóban a klorofill-a molekulák közötti energiavándorlás okozta.

Klorofill-a oldatokban, pigmentrétegekben, monomolekuláris rétegekben könnyebb kimutatni a klorofill-a molekulák közötti energiavándorlást és megmérni az energiaátadás jellemzőit. Több szerző úgy találta, hogy ebben az esetben energiavándorlásra a Förster-egyenletek érvényesek /1, 3, 5, 35, 38, 49, 50/, az R_0 értékére vonatkozó adatok azonban 50-70 Å között nagy eltéréseket mutatnak /35/. Megállapították azt is, hogy az energiaátadás R^{-6} -os törvényszerűséget követ. A fentiekkel ellentétben Robinson és mások /39, 55/ azon a véleményen vannak, hogy - átfedő abszorpciós molekulákról lévén szó, amelyek között erős dipól-dipól kölcsönhatás van - az energiaátadás gyors, első rendű típusába tartozik. Robinson elképzeléseinek ellentmond az a tény, hogy az "erős" kölcsönhatásra jellemző abszorpciós-sávfelhasadás még igen tömény oldatok abszorpciós spektrumában sem mutat-

kozik /35/. Emiatt veti el Gurinovics /35/ ezt az elképzelést. Végeredményben bármelyik elképzelés legyen is helyes, az energiaátadás frekvenciája $n_t \cdot 10^{13} \text{ sec}^{-1}$ nagyságrendű. Ez azt jelenti, hogy a gerjesztési energia mindkét mechanizmus szerint nagy sebességgel terjed a klorofill-a molekulák között és így e_t is nagy. Figyelembe véve a klorofill-a 10^{-1} mol/l -es koncentrációját, a molekulák közötti 10-20 Å-nyi távolságot, azt mondhatjuk, hogy in vivo a gerjesztési energia a klorofill-a molekulák között 100 %-os hatékonysággal vándorol, vagyis a klorofill-a molekulák által abszorbeált összes energia a reakciócentrum rendelkezésére áll. Ezt a megállapítást látszik megerősíteni az a tény is, hogy a klorofill-a fluoreszcencia kvantumhatásfoka in vivo 1-2 %, szemben az in vitro hig oldatok esetében mért 30-50 %-al /1, 3, 19, 32, 34, 35, 38, 39/. Ez a tény egyben azt is jelenti, hogy a reakciócentrum a klorofill-a fluoreszcenciájának hatékony kioltója, más szóval, a klorofill-a által abszorbeált fényenergia jól hasznosul a fotoszintézisben.

3.2. A "heterogén" energiaátadásról. A klorofill-a abszorpciós spektruma (5. ábra) a spektrumnak csak egy szűk területét öleli fel. A növények számára nem közömbös, hogy a spektrum olyan tartományába eső fényenergiát, amelyet a klorofill-a nem nyel el tudják hasznosítani, vagy sem. A kísérleti tények azt mutatják, hogy

bizonyos növényekben az evolúció folyamán olyan pigmentek fejlődtek ki, amelyek segítségével olyan körülmények között is meg tudnak élni, ahol a csak klorofill-a-t tartalmazó növények vagy algák elpusztulnának. Az említett pigmentfélék összefoglaló neve: járulékos pigmentek. A legfontosabb járulékos pigmentek a zöld növények és zöldalgák klorofill-b-je (az ún. árnyék pigment), a vörös és kékeszöld moszatok fikobilinjei (fikoeritrin és fikocianin) és a minden fotoszintetizáló élőlényben megtalálható sárga színű pigmentek, a karotinoidok. Egész sor adat bizonyítja, hogy a járulékos pigmentek által abszorbeált fényenergia hasznosul a fotoszintézisben. Ezek a pigmentek gerjesztési energiájukat a klorofill-a molekulákra adják át. A különféle molekulák - itt az illető járulékos pigment molekula és a klorofill-a - között lejátszódó rezonanciás energiaátadást szokás "heterogén" energiaátadásnak nevezni. A heterogén energiaátadás legfontosabb eseteit az alábbiakban tekintjük át.

3.2. 1. A klorofill-b és klorofill-a molekulák közötti energiaátadás. A klorofill-b a zöld növények és a zöldmoszatok legfontosabb járulékos pigmentje. Abszorpciós szinképe (6. ábra) a klorofill-a kék sávjának (az ún. Soret-sáv) hosszuhullámu és a klorofill-a vörös sávjának rövidhullámu részére terjed ki. Koncentrációja a klorofill-a koncentrációjánál kisebb, annak általában $1/3$ -a. A klorofill-a/klorofill-b koncentráció hányados

értéke változó, minél inkább zöld levelek árnyékában él a növény, annál kisebb a hányados. Mivel a klorofill-a koncentrációja a lamellarendszeren belül lényegesen nem változik, a klorofill-a/klorofill-b arány csak úgy csökkenhet, ha a klorofill-b relativ mennyisége nő. A fenti tapasztalat a növények és bizonyos esetekben a levelek alkalmazkodó képességét bizonyítja /5/. A kloroplaszt szuszpenzió fluoreszcencia gerjesztési spektruma azt mutatja, hogy a klorofill-b által elnyelt fényenergia hasznosulhat a fotoszintézisben /35, 57/. Megállapítható, hogy a klorofill-b-ről a klorofill-a-ra való energiaátadás hatékonysága gyakorlatilag 100 %. E megállapítás bizonyítékai: a) A klorofill-b fluoreszcenciáját in vivo nem lehet megfigyelni (holott a klorofill-b fluoreszcencia abszolút kvantumhatásfoka in vitro kb. 0,2) a klorofill-a kioltó hatása miatt. b) A fotoszintézis akciós spektruma a szuszpenzió abszorpciós szinképével csaknem egybeesik azon a helyen, ahol főleg a klorofill-b abszorbeál. (Emlékeztünk arra, hogy minél inkább eltér az akciós szinkép az abszorpciós szinképtől, annál kisebb az energiaátadás hatásfoka arról a pigmentről a klorofill-a-ra, amely a szóban forgó helyen abszorbeál.)

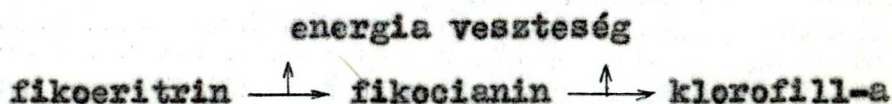
A klorofill-b-ről a klorofill-a-ra való energiaátadás típusára vonatkozó vélemények megoszlanak. Többek szerint azt az energiaátadást Förster egyenleteivel le lehet írni /1, 35, 38, 41, 50/ R_0 -ra 60-80 Å-öt adnak meg. Más vé-

lemények szerint /39, 41, 42, 48/ ez az energiaátadás nem gyenge kölcsönhatáson alapul, Förster egyenleteit nem lehet alkalmazni. Az utóbbi állítást alátámasztja az, hogy a klorofill-b és a klorofill-a abszorpciós és fluoreszcencia spektrumai részben átfedik egymást, emiatt a gerjesztési energia visszatérhet a klorofill-b-re, és ez vég eredményben a Förster egyenletek alkalmazhatóságának kétségbevonhatóságát vonja maga után. Bauer és munkatársai /42/ szerint a klorofill-b-ről a klorofill-a-ra való energiaátadást kevert típusúnak lehet tekinteni, amelyben az exciton és az induktív rezonanciás kölcsönhatás egyaránt előfordul. Weber /48/ lineárisan konjugált kötéseket tartalmazó molekulák esetében figyelt meg hasonló effektust, és azt tapasztalta, hogy n_t és R_0 is függ a gerjesztő fény hullámhosszától.

Ujabban klorofill-b és klorofill-a keverékoldatoknál Bauer és munkatársai /42/, valamint Rabinowitch és munkatársai /41/ azt tapasztalták, hogy a klorofill-b-ről a klorofill-a-ra való energiaátadás hatékonysága függ a gerjesztő fény hullámhosszától. Ilyen rendszerre R kitevőjét nem lehet pontosan megállapítani. /41/ és /42/ szerzői megfigyelték, hogy az energiaátadás hatékonysága már viszonylag nem nagyon tömény oldatok esetében is 100 %-os. Govindjee /57/ vizsgálatai arra utalnak, hogy a klorofill-b klorofill-a energiaátadás hatékonysága nem függ a hőmérséklettől. A fentiek alapján úgy véljük, hogy a klorofill-b

klorofill-a energiaátadás jellege nem tisztázott. Valószínűleg kevert típusu: a "lassu" energiaátadásra bizonyos hullámhosszuságu gerjesztés esetén "gyors" típusu szuperponálódik. Mivel a klorofill-b és klorofill-a molekulák között a távolság in vivo kb. 20 Å, várható, hogy az energiaátadás frekvenciája 10^{12} sec^{-1} -nyi, vagyis az átadás nagyon gyors, és az energiaátadás nagy hatékonyságu /59/. Watson és Livingston /64/ jelezte, hogy klorofill-b klorofill-a energiaátadás már olyan kis koncentrációknál bekövetkezik, ahol még nincs önkioltás.

3.2. 2. A fikobilinek és a klorofill-a közötti energiaátadás. A tengerek legfelső rétegeiben élő zöldsalgák a bennük levő klorofill-a és klorofill-b miatt a kék és vörös fény legnagyobb részét elnyelik. A kékeszöld és vörös moszatok járulékos pigmentjei, a fikobilinek a spektrumnak azon a területén is abszorbeálnak, amely a mélyebb rétegekben még rendelkezésre áll: a fikoeritrin 470 és 570, a fikocianin 600 nm környékén /5/. Ezekben az algákban a klorofill-anak egyetlen szerepe van: a fikoeritrin és a fikocianin által elnyelt fényt a reakciócentrumhoz továbbítja. A vörös és kékeszöld algákban lejátszódó energiaátadási folyamatokra a következő sémát szokás felállítani /5/:



In vivo sem a fikoeritrin, sem a fikocianin fluoreszcenciáját nem lehet megfigyelni a klorofill-a kioltó

hatása miatt /56/. Ez a tény is mutatja, hogy a fenti két pigment valóban aktív a fotoszintézisben. Ezt az elképzelést még két további eredménnyel lehet alátámasztani:

a) A fotoszintézis akciós spektruma azon a helyen, ahol a fikobilinek abszorbeálják a fényt, csaknem egybeesik az illető algák abszorpciós szinképével. b) A klorofill-a fluoreszcenciájának csillapodás ideje vörös- és zöldmosszatokban 0,5 nsec, ha a klorofill-a-nak megfelelő helyen gerjesztjük, de kétszeresére nő, ha a fikoeritrin gerjesztjük. Ez azt mutatja, hogy a fikoeritrinről a klorofill-a-ra való energiaátadás mintegy 0,5 nsec-nyi időt igényel /3/. Ez utóbbi adat és a megfelelő abszorpciós és fluoreszcencia spektrumok alapján várható, hogy az energiaátadás a "lassu", másodrendű /63/ típusba tartozik, Förster egyenleteivel leírható és a szóbanforgó molekulák között a kölcsönhatás "nagyon gyenge". Duysens /1, 3/ számításai szerint az energiaátadás hatékonysága ebben az esetben kb. 90 %-os, és Govindjee szerint /56/ a hőmérséklettől is függ.

3.2. 3. A klorofill és a különböző klorofill formák közötti energiavándorlás. Differenciálspektrofotometriai vizsgálatok, különböző polárosságu oldószerrel végzett kísérletek arra utalnak, hogy a kloroplastban több (esetleg 5-8) klorofill forma létezik /3, 5, 6, 34, 35, 39, 43/. A klorofillt a kloroplastból kioldva csak kétfajta klorofill jelenlétét lehet kimutatni, a klorofill-a- és a

klorofill-b-t. A különböző klorofill formák in vivo meglétét a klorofill és a környező (elsősorban fehérje) molekulák közötti különböző kapcsolatnak tulajdonítják /34, 35, 31/, de egyesek szerint a klorofill abszorpciós sávja az erős dipól-dipól kapcsolat miatt hasad fel /6, 34, 35, 39, 44/. Bizonyos elképzelések szerint az abszorpciós csúcsok az in vivo rendszerek vörös szinképtartományában különböző mértékben aggregálódott klorofill-csoportokat jelölnek /35/.

Az bizonyos, hogy az összes pigmentforma közül mindig csak az egyik, a leghosszabb hullámoknál abszorbeáló lumineszkál /56/, ami azt jelenti, hogy a gerjesztési energia a klorofill-a formák között nagyon nagy hatékonysággal vándorol, valószínűleg a már említett "gyors" mechanizmus szerint. Boriszov /43/ megfontolásai arra utalnak, hogy a fotoszintézis szempontjából való energiakihasználás sokkal kedvezőbb, ha a gerjesztési energia néhány lépésben jut el a reakciócentrumhoz, mintha sok molekula érintése után, viszonylag hosszú idő elteltével érkezne oda (mint pl. a "lassu" átadás esetében). Ilyen értelemben a különböző klorofill-formák jelenléte hasznos a fotoszintézis szempontjából.

A fotoszintetizáló baktériumokban a bakterioklorofillnak is több formáját írták le, ezeket szokás B850, B870 és B890-el jelölni (1, 3, 5). Normális körülmények között csak a B980 fluoreszcenciáját lehet kimutatni, ami azt jelzi, hogy a gerjesztési energia nagy hatékonysággal adódik át a B850-ről a B870-re, majd onnan

a B890-re. A B890 fluoreszcenciájának kvantumhatásfoka *in vivo* 2 % /34/, ami azt mutatja, hogy a fotokémiai reakció hatékonyan verseng a fényemisszióval.

3.2. 4. A reakciócentrum szerepe az energiavándorlásban. A reakciócentrum (a speciális klorofill-a molekula) koncentrációja a klorofill-a koncentrációjának 1/300-ad, ill. a fotoszintetizáló baktériumoknál a bakterioklorofillénak 1/50-ed része. (A P700 és a B890 elfogadottan a zöld növények és algák, ill. a fotoszintetizáló baktériumok reakciócentrumát jelöli.) Az energiaátadás nagyon hatékony a kis koncentrációban jelenlevő komponensek felé /1/, ezért várható, hogy a klorofill-a reakciócentrumhoz való energiaátadás hatásfoka nagy, sok szerző 100 %-osnak véli /34, 35, 3/. A reakciócentrum a felvett energia hatására elektront ad le, ez az elektron redox reakciók sorozatán át használódik fel. Ahhoz, hogy a fotoszintézis valóban nagy hatásfokkal játszódjon le, szükséges, hogy a fotokémiai reakció nagyon gyors legyen, vagy több fotoreaktív klorofill molekula legyen kapcsolatban egyetlen enzimkomplexummal.

Egyesek szerint a reakciócentrumban a klorofill tripllett állapotának van szerepe /49/, de ezek az elképzeléseket Boriszov-nak /34/ nem sikerült bebizonyítania. Klorofill egyrétegeken végzett vizsgálatok eredményei megmutatták, hogy a klorofill molekulák ilyen körülmények között kétféle aggregátumot képeznek: amorfit és

kétdimenziós kristály típusot /5/. A kétfajta aggregátum az abszorpciós spektrumok és felületi feszültségmérések alapján különíthetők el egymástól: a kristályos strukturájú klorofill-asszociátum abszorpciós maximuma a hosszabb hullámhosszak felé eltolódott. Mivel a kloroplastban a klorofill molekulák elrendeződése az egyrétegekre emlékeztet, feltételezik, hogy a reakciócentrum, a legtávolabbi abszorpciójú klorofill forma is szabályosan rendezett klorofill-asszociátum /5, 51, 52/. Ennek alapján viszont az várható, hogy az elektron a reakciócentrumban a félvezetőknel megismert módon végzi a gerjesztési energia hatására szabaddá /34/. Ugy tűnik, hogy a reakciócentrum szerepét ismerjük a legkevésbé, de ennek a problémának a fejtegetése nem feladatunk.

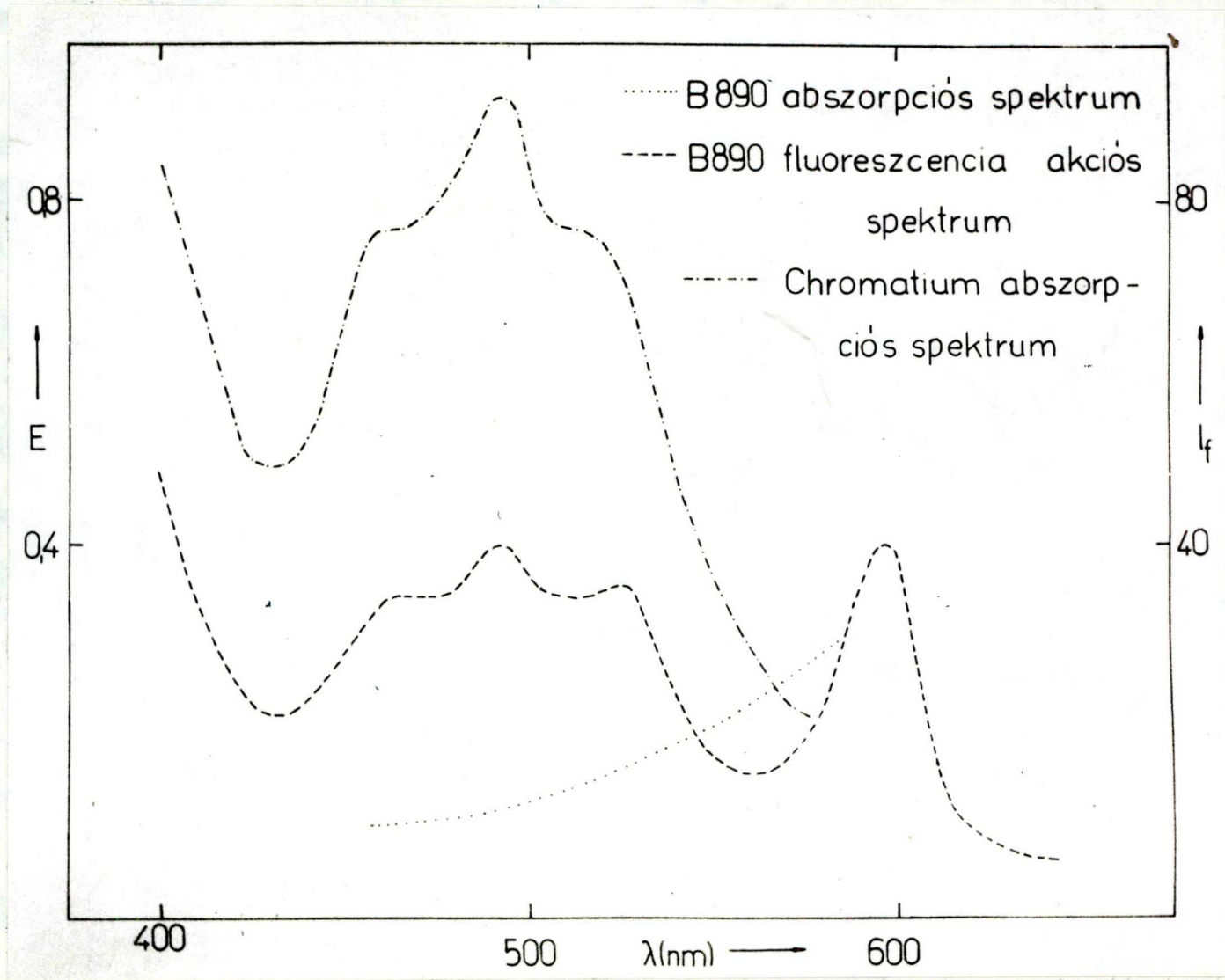
3.2. 5. A karotinoidok szerepe az energiavándorlásban.

A karotinoidoknak az energiavándorlásban betöltött szerepe a fotoszintézis kutatások egyik legvitatottabb kérdése. Ennek legfőbb oka az, hogy a karotinoidok fluoreszcenciáját *in vivo* nem, *in vitro* pedig csak a közelmúltban sikerült megfigyelni /45/, de továbbra sem ismeretes a karotinoidok gerjesztett állapotának átlagos élettartama és a fluoreszcenciájuk kvantumhatásfoka. A kérdésre vonatkozó eddigi ismereteket a fotoszintézis akciós spektruma és a klorofill-a szenzibilizált fluoreszcenciája alapján nyerték. 1967-ben közölt Wolf és Stevens, hogy 280 nm-es gerjesztésre a béta-karotin 300-400 nm között fluoreszkál /46/. Később erről kiderült, hogy a "fluoreszcencia" Raman-szórás eredménye /47/. 1968-ban Cherry és munkatársai /47/ figyelték meg a béta-karotin

lumineszcenciát 436 nm-es gerjesztés hatására, a fluoreszcencia maximuma 547 nm-nél volt. Oldószerként etanol és ciklohexant használtak. A készülékük egy speciálisan érzékennyé tett spektrofluoriméter volt. A karotinoid fluoreszcencia jellemzőire korábban csak feltételezések voltak: feltételezték, hogy a fluoreszcencia kvantumhatásfoka 10^{-4} és a gerjesztett állapot élettartama 0,1 nsec. Ezek alapján Duysens /1, 3, 61/ a karotinról klorofill-a-ra való energiaátadás hatékonyságát 30-50 %-osnak becsülte /1, 61/, az adatokat a fotoszintézis akciós spektrumának vizsgálata megerősítette. Az energiaátadásra jellemzőként Duysens $R_0 = 12 \text{ \AA}$ -t adott.

A *Chromatium biborbaktérium* bakterioklorofilljának fluoreszcencia akciós spektruma (4. ábra) alapján arra a következtetésre lehet jutni /13/, hogy a karotinoidok által abszorbeált energiának egy része a fotoszintetizáló baktériumokban hasznosul. A 4. ábra alapján Duysens /1, 61/ az energiaátadás hatásfokát 30 %-osnak becsülte. A barna- és a kovamoszatokon végzett vizsgálatok eredményei megmutatták, hogy a fikoxantin (karotenoid pigment, a barnamoszatok járulékos pigmentje) által abszorbeált energia induktív rezonanciás mechanizmussal /3, 5/ eljut a klorofill-a-hoz. Az energiaátadás hatásfoka kb. 80 %-os /3, 5, 61/.

A zöldmoszatokon és zöld növényeken végzett kísérletek eredményeit nehéz közös nevezőre hozni. Egyes el-



4. ábra

képzések szerint kékeszöld és vörös algákban a béta-karotin által abszorbeált energia csak bizonyos helyeken hasznosulhat /2/, míg zöld növényekben és algákban minden klorofill-a molekulához eljuthat /4/. Sok szerző szerint a xantofilok (oxigént tartalmazó karotenoidok) az energiaátadás szempontjából teljesen hatástalanok /4, 5, 6, 34/. Tény, hogy az etiolált levelekben felhalmozódott lutein (egyfajta xantofill) által abszorbeált fényenergia valóban inaktív a fotoszintézis szempontjából, viszont a béta-karotin által elnyelt fényenergia az etiolált levelek fluoreszcenciájának akciós spektruma. szerint a megvilágítást követő harmadik óra után eljut a klorofill-a-ra. Aziránt nincs kétség, hogy a karotinoidok résztvesznek a fotoszintézisben, kérdés azonban, hogy kevés számú karotin molekula nagy hatékonysággal, vagy minden karotin molekula közepes hatékonysággal vesz-e részt. Ezidőszerint úgy látszik, hogy az első elképzelés helytálló. Hogy miért nem vesz részt aktívan a karotinoidok egy része az energiaátadásban, erre a kérdésre Rabinowitch azt válaszolja, hogy "nyilván más feladatuk van" /5/. Goedheer /4/ szerint pedig bizonyos karotinoidok térbeli elkülönültsége gátolja ezek részvételét az energiaátadásban.

In vitro több szerzőnek sikerült a karotinoidról a klorofillra energiaátadást megfigyelni /6, 9, 10/, meg kell azonban jegyezni, hogy csak olyan esetekben, amikor a rendszer valamilyen "szilárd tartó felületet" is tar-

talmazott /6/. Így pl. Litvin és Guljaev /10/ klorofill-karotin monorétegekben, Teale /9/ detergens tartalmu klorofill-karotinoid rendszerben. Teale rendszerében pl. a fikoxantin klorofill-a energiaátadás hatékonysága 100 %-os, a lutein klorofill-a-é 50 %-os volt. A béta-karotint nem sikerült detergens rendszerbe bevinnie. Teale az energiaátadást ilyen rendszerekben vegyes dimereknek, ill. polimereknek tulajdonította.

Oldatban még nem sikerült karotinoid klorofill energiaátadást megfigyelni. Murty /11/ elképzeléseit, amely szerint a béta-karotin a klorofill-a lumineszcenciáját kioltja, Livingston és munkatársai /12/, valamint Singhal /13/ és munkatársai nem tudták megerősíteni. Az utóbbi szerzők szerint oldatban nincs is a karotinoidnál a klorofillra energiaátadás. Ugyanez a véleménye Guránovicsnak is /6/.

4. Mérési eredmények

4.1. A vizsgált anyagok. Vizsgálatainkhoz klorofill-a-t, klorofill-b-t és béta-karotint használtunk. Az oldószer ciklohexán volt. A klorofilokat a már ismertetett módszer szerint /55/ oszlopkromatográfiásan készítettük friss spenótlevélből és -8 C° -on sötétben, dietiléterben tároltuk. Ha a tisztítás szükségessé tette ismételten kromatografáltunk. A klorofill oldatokat tisztának tekin-

tettük, ha éteres oldatban a kék és vörös abszorpciós maximumok aránya klorofill-a-nál 1,3, klorofill-b-nél 3,0, továbbá a kék abszorpciós maximum és klorofill-a-nál az 505, ill. klorofill-b-nél az 520 nm-nél mért abszorpció hányadosok értéke 45-50, ill. 18-20 volt /42/.

Az adott koncentrációju oldatokat a következőképpen készítettük. Először az éteres klorofill oldat koncentrációját határoztuk meg az

$$E \equiv \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon c l$$

Beer-Lambert összefüggéssel, ahol $\lg I_0/I$ az oldat E extinkciója, c az oldat koncentrációja mol/l-ben, l a rétegvastagság cm-ben és ε a moláris dekadikus extinkciós koefficiens, $l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ -ben. Az ε a klorofill-a-nál dietiléterben, 663 nm-nél 88630, klorofill-b-nél 644 nm-nél 56265 $l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (a vörös abszorpciós maximumok helyén). Ismerve az éteres oldat koncentrációját, az oldatból megfelelő mennyiséget vákuum alatt bepároltunk, majd a klorofillt ciklohexánban, ill. keverékoldat esetében megfelelő koncentrációju béta-karotin oldatban oldottuk. A béta-karotin Merck készítmény volt. A béta-karotin koncentrációját megfelelő tömegü béta-karotin beméréséből, ill. ismert térfogatu ciklohexánban történő oldásával, egyes esetekben az előzőkben leirt módszer segítségével spektrofotometriásan állítottuk be. Munkánk során transz-béta-karotint használtunk. Arról, hogy a béta-karotin még nem

izomerizálódott az abszorpciós spektrum alapján győződ-
tünk meg: a 15-cisz, ill. a 9-cisz izomer 335 nm-nél
erős, ill. gyengébb abszorpciót mutat, míg a csupán
transz béta-karotint tartalmazó oldat abszorpciós szín-
képben ennél a hullámhossznál nincs abszorpciós maximum
/54/.

A keverékoldatok klorofill-a-t és béta-karotint,
ill. klorofill-b-t és béta-karotint tartalmaztak. A klo-
rofill-a és a klorofill-b koncentrációja 10^{-5} mol/l volt.
A klorofill-a, ill. a klorofill-b mellett a keverékoldatok
 4×10^{-6} , 8×10^{-6} , 10^{-5} , 2×10^{-5} , 4×10^{-5} , 6×10^{-5} , 8×10^{-5} és
 10^{-4} mol/l koncentrációban tartalmaztak béta-karotint.

Az oldatokat sötétben szobahőmérsékleten tartottuk.
A méréseket is szobahőmérsékleten végeztük. A méréseket
az oldatok elkészítése után 24-36 órán belül elvégeztük.
Megfigyeléseink szerint az oldatok ilyen időtartam alatt
nem szenvedtek károsodást.

4.2. Vizsgálati és kiértékelési módszer. Az energia-
átadás tanulmányozásának leggyakrabban használt módszerét,
a donor (karotin) fluoreszcencia kioltásának tanulmányo-
zását /42/ a donor fluoreszcencia kicsiny hatásfoka miatt
nem használhattuk. Ezért a klorofill-fluoreszcencia rela-
tív hatásfokának, a klorofill-fluoreszcencia szenzibili-
zálásának tanulmányozásához folyamodtunk. A fluoreszcen-
cia hatásfokának, a klorofill-fluoreszcencia szenzibili-

zálásának tanulmányozásához folyamodtunk. A fluoreszcencia hatásfokán itt a $\Phi = F/A$ hányadost értjük, ahol F a fluoreszcencia intenzitását, A a százalékos klorofill fényabszorpciót jelenti. Ha a klorofill fluoreszcenciájának hatásfoka a karotin abszorpciójának helyén gerjesztve a fluoreszcenciát a keverékoldatban megváltozik, akkor a karotin szerepet játszik a klorofill fluoreszcenciájában: ha a klorofill fluoreszcenciájának hatásfoka a karotin abszorpciójának helyén megnő, akkor a karotin a klorofill fluoreszcenciáját szenzibilizálja, a karotin gerjesztési energiájának egy részét átadja a klorofillra. A fordított esetben, ha a klorofill fluoreszcenciájának a hatásfoka a szobanforgó helyen való gerjesztésre lecsökken, a karotin a klorofill fluoreszcenciáját kioltja, a gerjesztési energia egy része a klorofillról a karotinra adódik át. A klorofill fluoreszcencia hatásfokának a gerjesztő fény hullámhosszától való változásából tehát el lehet dönteni, hogy van-e, és milyen irányu az energiaátadás a karotin és a klorofill molekulák között. A klorofill fluoreszcencia hatásfok változásából megállapítható az energiaátadás típusa és kiszámítható az illető anyagokra jellemző R_0 is.

A klorofill a klorofill-karotin keverékoldatban a karotin jelenléte miatt kevesebb fényt abszorbeál, mint a csak klorofillt tartalmazó oldatban ($A_{kl}^k < A_{kl}^0$), ezért változatlan fluoreszcencia hatásfok mellett a klorofill fluoreszcenciájának intenzitása a keverékoldatban kisebb

lesz, mint a csak klorofillt tartalmazó oldat F^0 fluoreszcencia intenzitása. Feltételezve, hogy a klorofill és a karotin az oldatban nem képez aggregátumokat, és nincsenek kémiai kölcsönhatásban, ki lehet számítani, hogy ha a karotin csak mint fénygyengítő (un. inert szűrő) volna jelen milyen F_{sz}^0 fluoreszcencia intenzitásra számíthatnánk a keverékoldat esetében. Ha $F_m^0 = F_{sz}^0$, a klorofill fluoreszcenciájának határfoka a keverékoldatban nem változott meg, a karotin gerjesztési energiáját nem adja át a klorofillnak. Ha $F_m^0 > F_{sz}^0$, a klorofill fluoreszcencia határfoka a karotin abszorpciójának helyén való gerjesztésre megnőtt, a karotin a klorofill fluoreszcenciáját szenzibilizálja. Amennyiben $F_m^0 < F_{sz}^0$, a karotin a klorofill fluoreszcenciáját kioltja. Annak megállapításához, hogy az említett három eset közül melyik áll fenn, ismereni kell F_{sz}^0 -et, amelyet a következő megfontolások alapján számíthatunk ki.

Tételezzük fel, hogy a karotin és a klorofill nincs hatással egymásra a keverékoldatban. Ennek az a bizonyítéka, hogy

$$E_{kl}^0 + E_{kar}^0 = E^0 \quad (4.1)$$

vagyis a komponensek E_{kl}^0 és E_{kar}^0 abszorpciójára jellemző optikai denzitásokból összegzéssel számított E^0 optikai denzitás egyenlő a keverékoldat mért optikai denzitásával /58/. Tételezzük fel azt is, hogy a klorofill fluo-

reszcencia hatásfoka a klorofill- és a keverékoldatban megegyezik ($\Phi^{\circ} = \Phi'_{sz}$). A fluoreszcencia hatásfok definíciójából és abból a feltételezésből, hogy $\Phi^{\circ} = \Phi'_{sz}$ következik, hogy

$$\Phi^{\circ} = \frac{F^{\circ}}{A^{\circ}_{kl}} = \Phi'_{sz} = \frac{F'_{sz}}{A'_{kl}} \quad (4.2)$$

ahol A°_{kl} és A'_{kl} a klorofill százalékos fényabszorpciója a klorofill- és a keverékoldatban. A-t a Beer-Lambert törvény alapján a következő módon határozhatjuk meg:

$$A = I_0 - I = I_0 (1 - 10^{-E}) \quad (4.3)$$

ahol I_0 a beeső, I az átmenő fény intenzitása. Keverékoldatok esetében

$$A' = I_0 (1 - 10^{-E'}) \quad (4.4)$$

Ismerve, hogy a klorofill A'_{kl} százalékos fényelnyelése a keverékoldatban ugy aránylik a keverékoldat A' fényelnyeléséhez, mint a klorofill oldat E°_{kl} extinkciója aránylik a keverékoldat E' extinkciójához, azaz (/66/, ill. Függ.2.)

$$\frac{A'_{kl}}{A'} = \frac{E^{\circ}_{kl}}{E'} \quad (4.5)$$

(4.2)-ből és (4.5)-ből következik, hogy

$$F'_{sz} = \frac{E^{\circ}_{kl}}{E'} \frac{A'}{A'_{kl}} F^{\circ} \quad (4.6)$$

Ebből kiszámítható, hogy mekkora a klorofill fluoreszcencia intenzitás a keverékoldat esetén, ha a karotin csupán szűrőként van jelen.

A klorofill fluoreszcenciájának szenzibilizálását a klorofill fluoreszcencia hatásfokának változásával, a Φ'_m / Φ'_{sz} hányadossal lehet jellemezni, ahol Φ'_m a klorofill fluoreszcencia hatásfoka a keverékoldatban. (4.7) felhasználásával a fluoreszcencia hatásfok változását az F'_m / F'_{sz} hányadossal lehet jellemezni

$$\frac{\Phi'_m}{\Phi'} = \frac{F'_m}{F'_{sz}} \quad (4.7)$$

Minél nagyobb F'_m / F'_{sz} annál hatékonyabb a karotin a klorofill fluoreszcenciájának szenzibilizálásában, és annál nagyobb n_t is.

Az F'_m / F'_{sz} koncentráció függéséből megállapítható az energiaátadás típusa is. Feltételezve, hogy a molekulák eloszlása az oldatban statisztikus, a molekulák átlagos távolsága

$$R^3 = \frac{3}{2\pi N' c_M} \quad (4.8)$$

ahol N' millimolnkénti molekulák száma, c_M az oldat koncentrációja mol/l-ben. Keverékoldatra $c_M = c_{kl} + c_{kar}$. Mivel a Förster egyenleteivel leírható lassu típusu energiaátadás esetében n_t a (2.7) összefüggés szerint R^{-6} -al, R^3 pedig (4.8) szerint c_M^{-1} -el arányos, ezért $n_t c_M^2$ -el lesz arányos. Mivel F'_m / F'_{sz} és n_t között a Stern-Volmer

egyenlet (4.17) értelmében a kapcsolat egyenes arányosság (n_t és e_t között (2.2) szerint ugyanilyen kapcsolat van), ezért F'_m/F'_{sz} -t c_M^2 függvényében ábrázolva egyenest kell kapnunk. Ha mindez teljesül, ez a Förster egyenleteknek az alkalmazhatóságát bizonyítja.

A klorofill fluoreszcencia hatásfokának változása alapján a karotin klorofill energiaátadásra jellemző R_0 értékét fluoreszcencia kioltási görbék alapján (2.11) és (2.12) segítségével /63/-ban leírt módszerrel ki lehet számítani.

Az energiaátadás kvantitatív tárgyalásakor a (4.2) alatt említett feltételezésből indulunk ki: a klorofill fluoreszcencia hatásfoka a klorofill- és a keverékoldatban megegyezik. Feltételezzük továbbá, hogy a klorofill a karotintól kapott energiát ugyanolyan Φ hatásfokkal emittálja, mint azt az energiát, amelyet maga abszorbeál. Ilyen feltételezések mellett

$$F'_m = \Phi \cdot A'_{kl} + \Phi A'_{kar} \cdot e_t \quad (4.9)$$

ahol a $\Phi A'_{kar} e_t$ szorzat a karotin által elnyelt, e_t hatásfokkal a klorofillnak átadott és Φ hatásfokkal kisugárzott fényre vonatkozik. (4.9) (4.2) felhasználásával más alakban is felírható:

$$e_t = \left(\frac{F'_m}{F'_{sz}} - 1 \right) \frac{A'_{kl}}{A'_{kar}} \quad (4.10)$$

(4.1) és (4.5) figyelembevételével - képezve a klorofill és a karotin keverékoldatban mutatott százalékos fényel-

nyelésének hányadosát - e_t a következő alakban is megadható (részletesebben lásd Füg.1-et):

$$e_t = \left(\frac{F'_m}{F'_{s2}} - 1 \right) \frac{E^{\circ}_{kl}}{E' - E^{\circ}_{kl}} \quad (4.11)$$

(4.11)-ből (4.1) felhasználásával a következő összefüggést kapjuk:

$$\frac{F'_m}{F'_{s2}} = 1 + e_t \frac{E^{\circ}_{car}}{E^{\circ}_{kl}} \quad (4.12)$$

Ha a klorofill fluoreszcencia szenzibilizálásának mértéke a karotin "fluoreszcencia" kioltás mértékének a reciproka, akkor a karotin "fluoreszcenciájának" kioltását (4.12) reciprokával lehet jellemezni:

$$\frac{F'_{s2}}{F'_m} = \frac{1}{1 + e_t \frac{E^{\circ}_{car}}{E^{\circ}_{kl}}} \quad (4.13)$$

(4.13) az idegenkioltás elméletéből ismeretes Stern-Volmer /67/ formulára emlékeztet, amelyet a következő alakban szokás megadni:

$$\frac{\Phi}{\Phi^{\circ}} = \frac{1}{1 + k_B c_B} \quad (4.14)$$

ahol Φ a kioltott Φ° a kioltatlan donor (karotin) fluoreszcencia hatásfoka, k_B a kioltási konstans, c_B pedig az idegen kioltó koncentrációja. k_B -re a következő összefüggést szokás megadni:

$$k_B = 4\pi N'DR_0\tau \quad (4.15)$$

ahol D a diffúziós állandó. (4.14)-et más alakban is meg szokták adni:

$$\frac{\Phi}{\Phi^0} = \frac{1}{1 + z\tau} \quad (4.16)$$

ahol z az időegységre eső "effektív ütközések" száma, a donor gerjesztett állapotának élettartama, z értelem-szerűen n_t -vel egyenlő. Figyelembe véve a karotin fluo-reszcenciájáról mondottakat n_t -t a következő összefüg-géssel lehet megadni:

$$n_t = \frac{1}{\tau} \left(\frac{F'_m}{F'_{s2}} - 1 \right) \quad (4.17)$$

A vizsgálatok célja az, hogy megvizsgáljuk F'_m/F'_{s2} koncentrációtól való függését és kiszámítsuk e_t -t mind a béta-karotin klorofill-a mind a béta-karotin klorofill-b rendszerre, továbbá megadjuk az energiaátadás jellemzőit.

4.3. Abszorpciós szinképek. Abszorpciós szinképen az $E = f(\lambda)$ függvényt értjük, ahol E az extinkció λ a fény hullámhossza nm-ben. "E"-t spektrofotométerrel mérik, mi CF-4 DR típusu Optica Milano kétsugaras regisztráló spektrofotométert használtunk. Az abszorpciómérések pontossága 1 %, ha $E = 0,2-0,8$. E pontos mérése céljá-



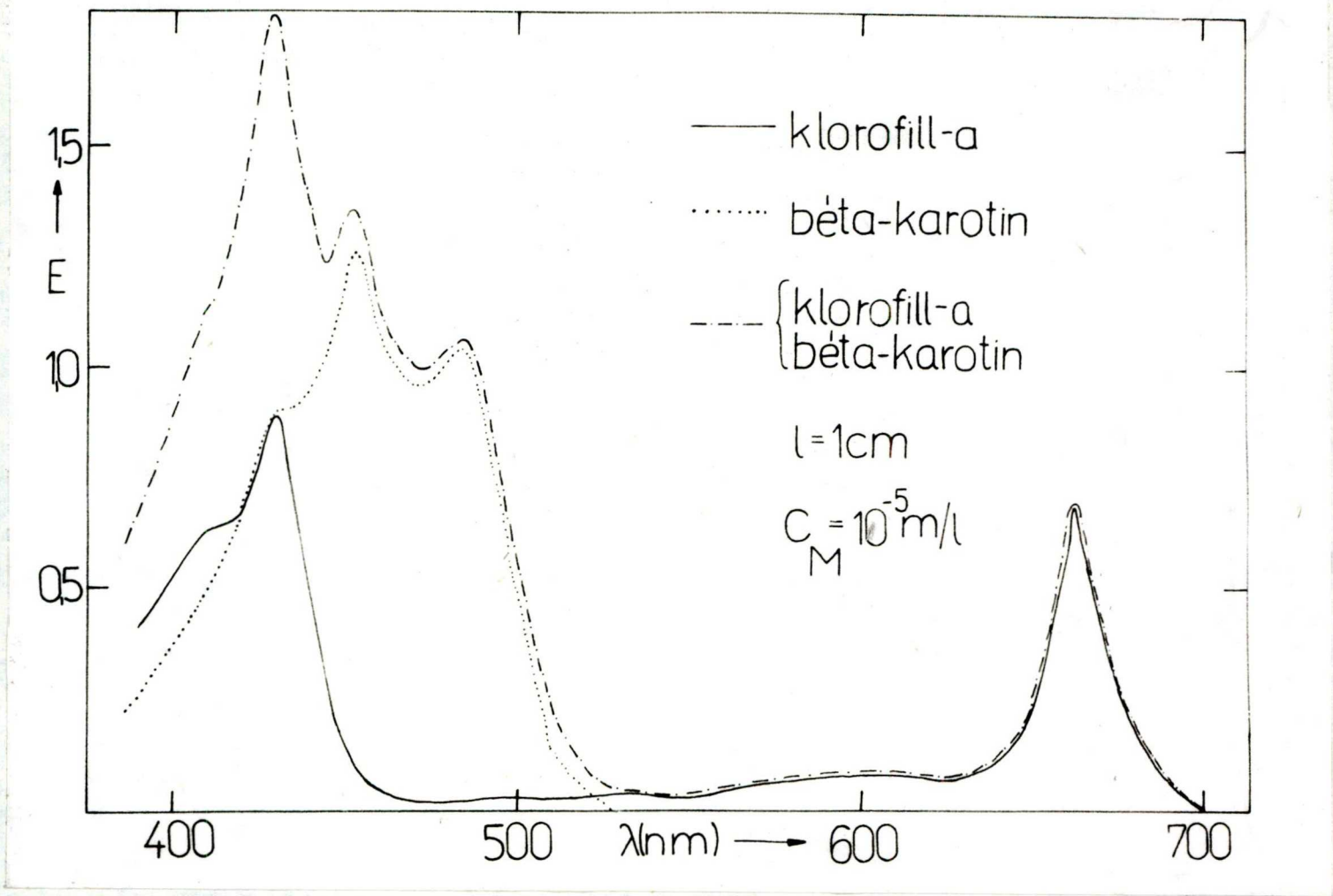
ból a követők l vastagságát úgy választottuk meg, hogy E az említett értékek között legyen /41/. Ha a nagyobb E -k esetén l -et nem csökkenthettük, úgy a referencia fényutba ismert E_{sz} extinkciójú fénygyengítő hálót helyeztünk. Ilyenkor a mért E_m extinkció E_{sz} értékének alkalmas megválasztásával E_m , a mért extinkció 0,2-0,8 között lehet. Az E ilyen megoldás esetén a következő összefüggéssel adható meg:

$$E = E_{sz} + E_m \quad (4.18)$$

Amennyiben szükséges volt, a rétegvastagságok figyelembevételével a Beer-Lambert törvény felhasználásával korrekciót végeztünk. A számításoknál, az ábrák elkészítésénél minden E értéket ugyanakkora ($l = 1$ cm) értékhez rendeltünk.

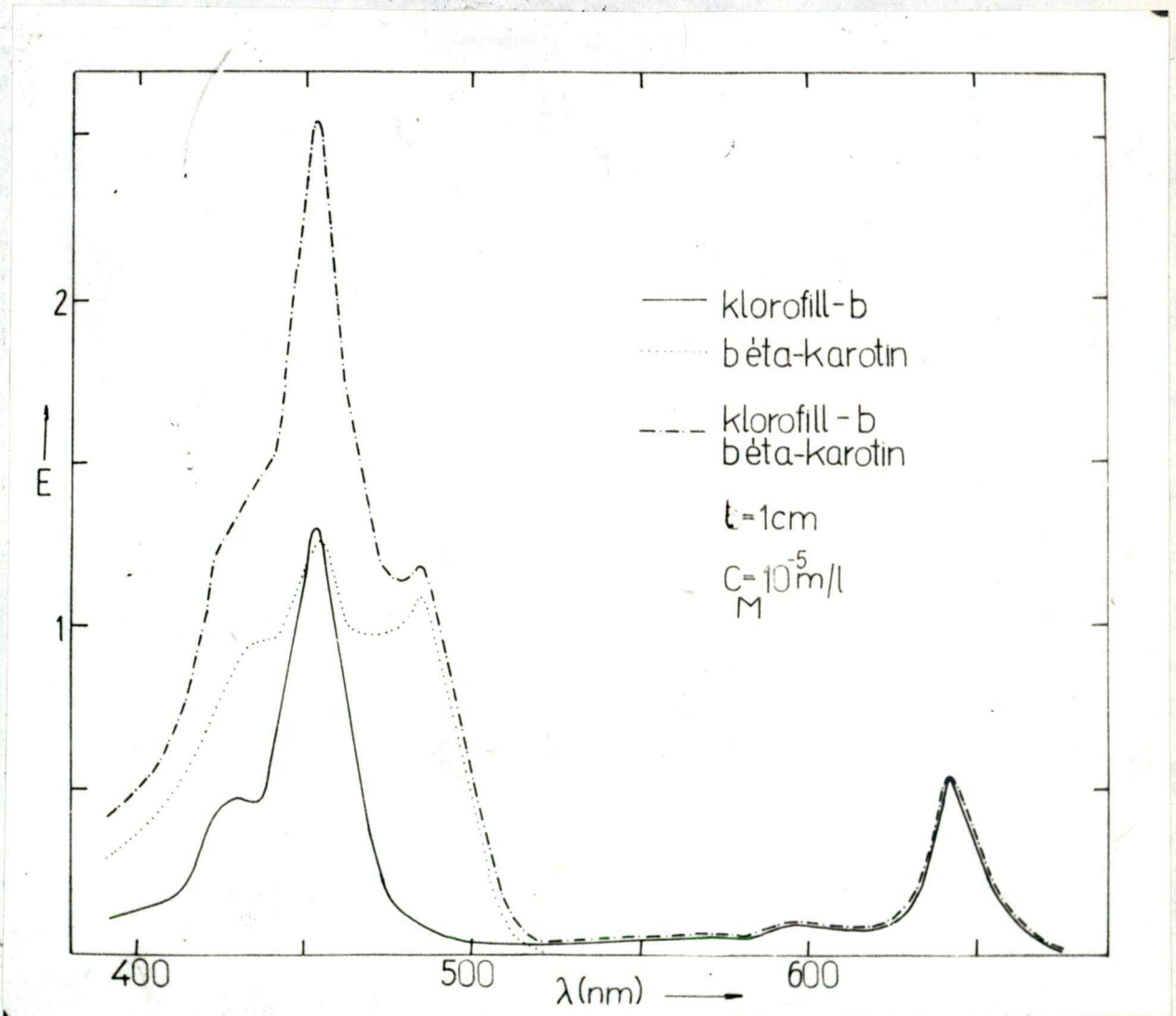
E értékeit három célra használtuk: 1. Annak eldöntésére, hogy van-e kölcsönhatás az oldatban a klorofill és a karotin molekulák között, vagyis használható-e a (4.6) összefüggés F'_{sz} kiszámítására. 2. A százalékos abszorpció kiszámítására. 3. e_t és n_t értékeinek kiszámítására.

Külön-külön megmértük a klorofill, a karotin és a keverékoldat abszorpcióját is. Az 5. ábrán a 10^{-5} mol/l koncentrációjú klorofill-a, a 10^{-5} mol/l koncentrációjú béta-karotin és a kettő ugyanilyen koncentrációjú keverékoldatának abszorpciós szinképet tüntettük fel. Az $E_{kl}^0 + E_{kar}^0 = E_{sz}^0$, a klorofill és a karotin abszorpció-

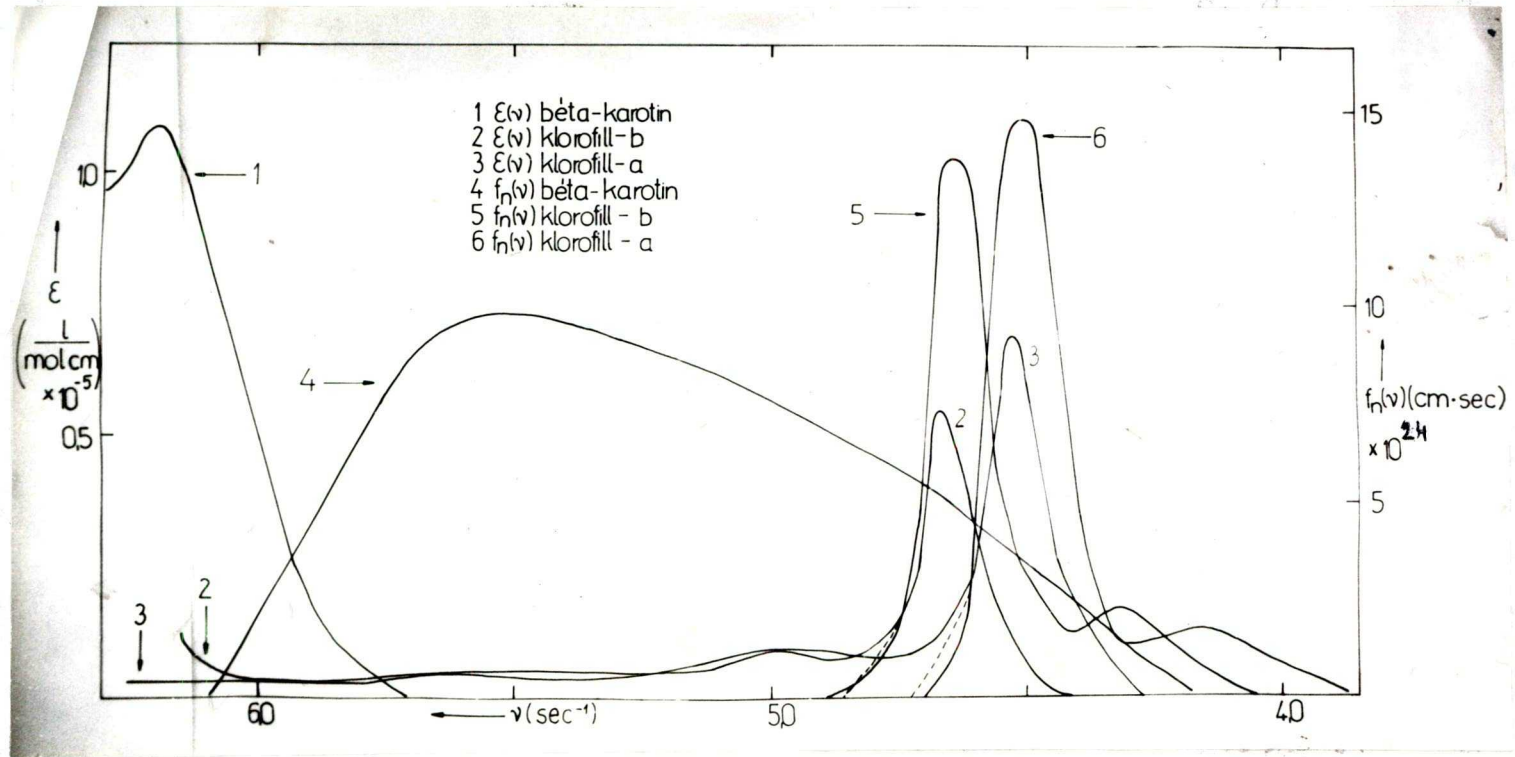


5. ábra Klorofill-a oldat (—), béta-karotin oldat (.....) és klorofill-a béta-karotin keverékoldat (- · - · -) abszorpciós szinképe. $c_M = 10^{-5} \text{ mol/l}$, $l = 1 \text{ cm}$

jából összegzéssel számított abszorpciós spektrum a keverékoldat abszorpciós spektrumától $\pm 3\%$ -al tért el, emiatt E'_{sz} -t az ábrán nem is tüntettük fel. A 6. ábra a klorofill-b, a béta-karotin és a klorofill-b béta-karotin keverékoldatának abszorpciós spektrumát tünteti fel az 5. ábrán látott koncentrációviszonyok mellett.



6. ábra Klorofill-b oldat, béta-karotin oldat és klorofill-b béta-karotin keverékoldat abszorpciós szinképe. (A koncentrációk és a jelölések az 5. ábrával egyeznek.)

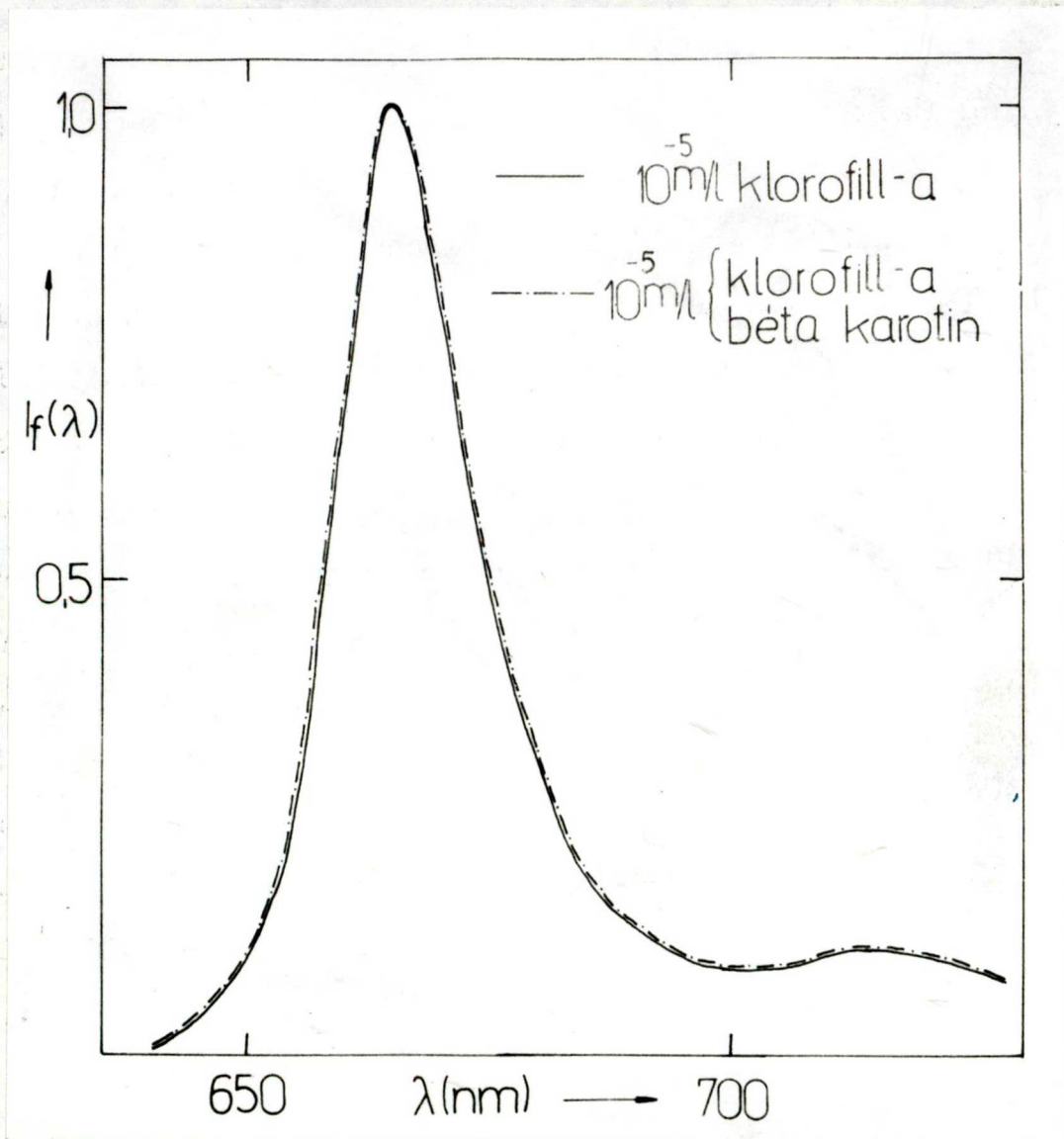


7. ábra Moláris dekadikus extinkciósoefficiensek klorofill-a-(3), klorofill-b-(2) és béta-karotinra (1), valamint a klorofill-a (6), klorofill-b (5) és béta-karotin (4) normált emisszióspektruma. Részletesebben lásd 5.4.-ben

Ciklohexánban a klorofill-a 430 és 663, a klorofill-b 452 és 643, míg a béta-karotin 455 és 458 nm-nél mutat abszorpciós maximumot.

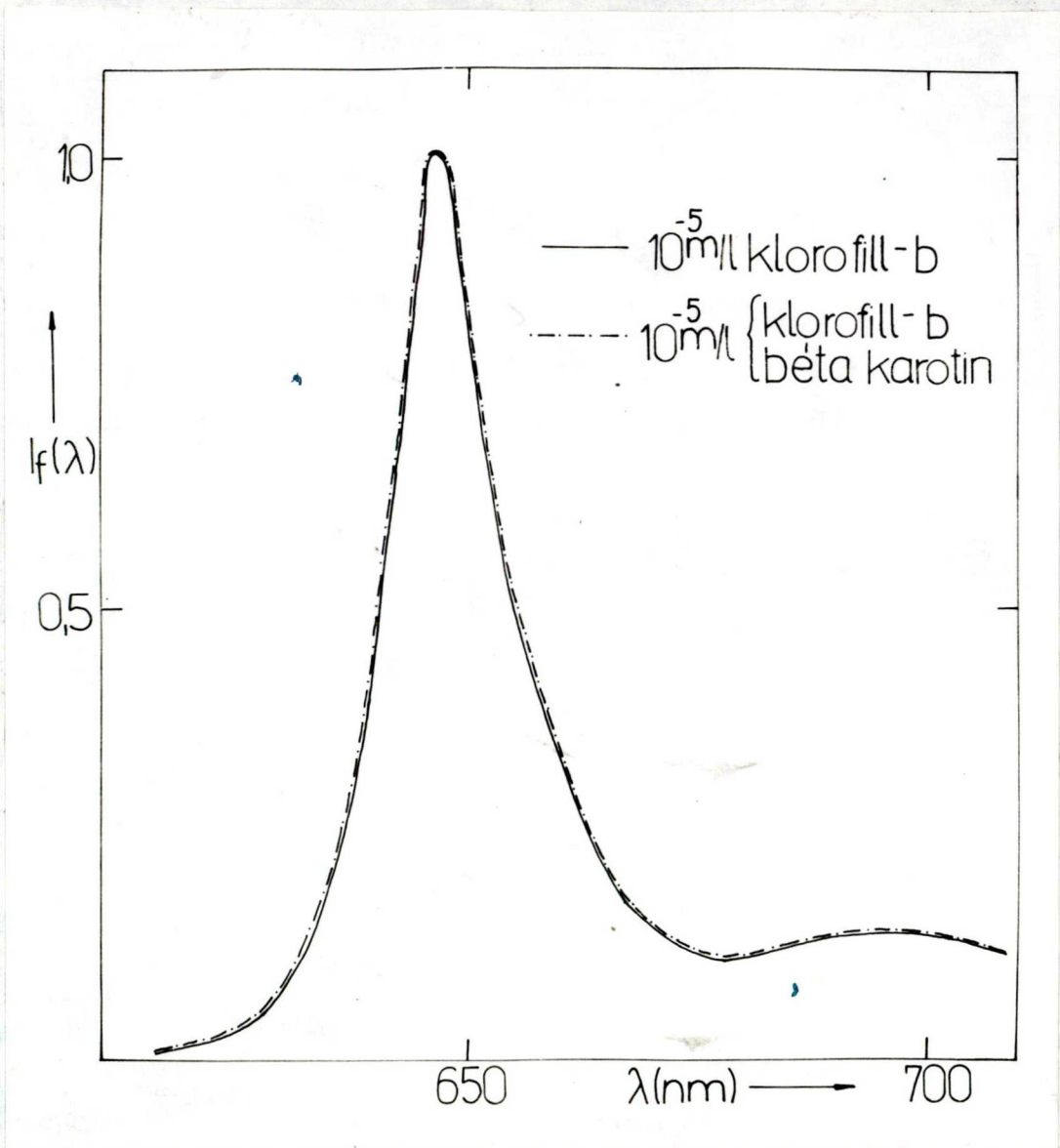
Az abszorpciós szinkép alapján győződünk meg arról is, hogy a béta-karotin transz módosulat volt /54/. Ugyan- is a béta-karotin izomerek szemben a transz módosulattal 335 nm-nél erősen abszorbeálják a fényt. Az abszorpciós szinképek alapján ellenőriztük az oldatok klorofill és béta-karotin tartalmát is, ami az esetleges korrekcióhoz volt szükséges. Ugyancsak az abszorpciós szinképek alap- ján, a Beer-Lambert törvény felhasználásával számítottuk ki a moláris dekadikus extinkciós koefficienseket. Ezeket az értékeket a 7. ábrán tüntettük fel. ε értékeit R_0 ki- számításához használtuk fel. A_{kl}^0 és A' értékeit (4.3), ill. (4.4)-el ugyancsak az abszorpciós szinképekből számi- tottuk ki. A_{kl}^0 és A' értékei F_{sz}' kiszámításához szükségesek.

4.4. Fluoreszcencia szinképek. Fluoreszcencia szin- képen az $F = f(\lambda)$ függvényt értjük, amely megmutatja az emittált fluoreszcencia spektrális eloszlását. A klorofill és a keverékoldatok fluoreszcencia szinképeinek ismereté- ben is el lehet dönteni, hogy a klorofill és a karotin mo- lekulák között van-e kölcsönhatás, és képeznek-e fluoresz- káló aggregátumokat. Ezért mértük meg a klorofill-a, a klorofill-b és a klorofill-a béta-karotin, ill. a kloro- fill-b béta-karotin keverékoldatok emissziós spektrumát. A 8. ábrán a 10^{-5} mol/l koncentrációju klorofill-a és a



8. ábra Klorofill-a oldat (—) és klorofill-a béta-karotin keverékoldat (- · - · -) relatív fluoreszcencia szinképe. $c_M = 10^{-5}$ mol/l, $l = 0,1$ cm.

10^{-5} mol/l koncentrációjú ekvimoláris klorofill-a béta-karotin keverékoldat relatív fluoreszcencia szinképe ($F/F_{\max}=1$) látható. A 9. ábra ugyanilyen koncentrációjú klorofill-b és klorofill-b béta-karotin oldatok fluoreszcencia spektrumát mutatja.



9. ábra Klorofill-b oldat és klorofill-b béta-karotin keverékoldat relatív fluoreszcencia szinképe. (A koncentráció és a jelölések a 8. ábrával azonosak.)

Az emisszió méréseket egy, már ismertetett spektrofluoriméteren végeztük el /59/. A 436 nm-es hullámhosszúságú gerjesztő fényt egy 500 W-os HBO nagynyomású higanylámpa fényéből SIF-436-os interferenciás szűrővel álli-

tottuk elő. A gerjesztés a kűvetta első felületén történt. A gerjesztő és a fluoreszcencia fény-nyalábok által bezárt szög $3-5^{\circ}$ -os volt. A fluoreszcencia fényt egy SPM-1-es típusu prizmás monokromátor bontotta. A megfigyelt fluoreszcencia fény sávszélessége ≈ 1 nm volt. A fluoreszcencia fényt EMI-9558/A vörösérzékeny fotoelektronsokszorozóval detektáltuk. A fotoelektronsokszorozó fotoáramát a fotoelektronsokszorozóval sorbakötött galvanométerrel mértük. A fluoreszcencia spektrumokat a készülék spektrális érzékenységének megfelelően korrigáltuk. Az oldatot tartalmazó kűvetta rétegvastagságát úgy választottuk meg, hogy a klorofill oldat extinkciója a fluoreszcencia maximum helyén $E \leq 0,2$ legyen. Ilyen rétegvastagság, ill. extinkció mellett lehet elhanyagolni a fluoreszcencia fény reabszorpcióját, ill. a szekunder lumineszcenciát /58/. A fluoreszcencia spektrumokat R_0 értékeinek kiszámítására is felhasználtuk. A béta-karotin fluoreszcencia spektrumát nem tudtuk felvenni, ezért a Cherry és munkatársai /45/ által közölt spektrumot használtuk fel számításainkhoz. R_0 számításához a fluoreszcencia spektrumokat (4.19)

$$f(\nu) = \frac{\lambda^2}{c} f(\lambda) \quad (4.19)$$

alapján frekvencia függővé alakítottuk, majd (2.8) szerint normáltuk. A béta-karotin, a klorofill-a és a klorofill-b normált emissziós spektrumát a 7. ábra tünteti

fel. Cherry és munkatársai szerint a béta-karotin emissziós maximuma 457 nm-nél van.

4.5. Fluoreszcencia hatásfok. A fluoreszcencia relatív hatásfokát a többi között a fluoreszcencia gerjesztési szinképek alapján lehet meghatározni. A fluoreszcencia gerjesztési szinképén az egységnyi gerjesztő fényenergiára jutó fluoreszcencia fényintenzitásnak a gerjesztő fény hullámhosszától való függését megadó függvényt értjük /60/. A gerjesztési szinkép valamely hullámhosszához tartozó F fluoreszcencia intenzitást az ugyanehhez a hullámhosszhoz tartozó A százalékos fényabszorpcióval osztva a $\Phi = F/A$ fluoreszcencia relatív hatásfokának értékét kapjuk. Φ^0 értéke a klorofilok esetében a Soret sávban a gerjesztő fény hullámhosszától független /42/. Ha Φ^0 a keverékoldatban a karotin abszorpciójának helyén megváltozik, akkor a karotin és a klorofill molekulák között energiaátadás történik. Az energiaátadást (4.7) szerint a $\Phi_m / \Phi^0 = F'_m / F'_{sz}$ hányadossal lehet jellemezni.

A fluoreszcencia gerjesztési szinképnek az energia-vándorlásban betöltött használhatóságára mutattuk meg a 4. ábrát.

A gerjesztési szinképek felvételénél is figyelembe kell venni a készülék spektrális érzékenységét, mert a gerjesztő fény intenzitása a hullámhossztól függ. Számításaink szempontjából csak F^0 és F'_m értékei bírnak jelentőséggel, mivel csak a fluoreszcencia hatásfokának rela-

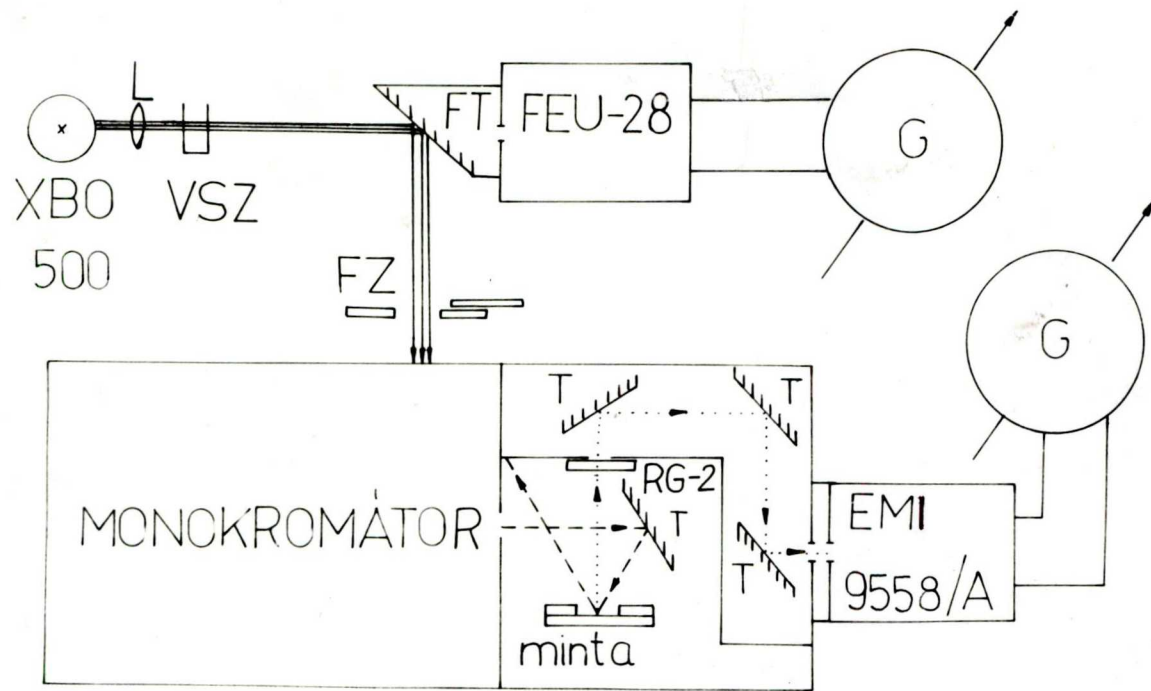
tív értékére, Φ'_m / Φ'_{sz} értékére vagyunk kíváncsiak, Φ'_m / Φ'_{sz} pedig F'_m / F'_{sz} -al egyenlő (lásd (4.7)-et). Tehát méréseink során csak a klorofill- és a keverékoldat fluoreszcencia intenzitását kell megmérni ugyanolyan körülmények között. F'_m és F^0 értékeit a 10. ábrán látható berendezéssel mértük meg.

A klorofill fluoreszcenciáját a 400 és 500 nm közötti tartományban gerjesztettük. A gerjesztő fényt nagynyomású xenonlámpa fényéből nyertük monokromátor segítségével. A gerjesztő fény sávszélessége 450 nm-nél 0,2 mm-es résszélesség mellett 3 nm. A FEU-28-as fotoelektronszorzóval a gerjesztő fény intenzitását figyeltük, és a fotoelektronszorzó I_{FEU} fotoáramának ismeretében - ha szükséges volt - korrekciót végeztünk. A korrekciót a következő összefüggés alapján végeztük:

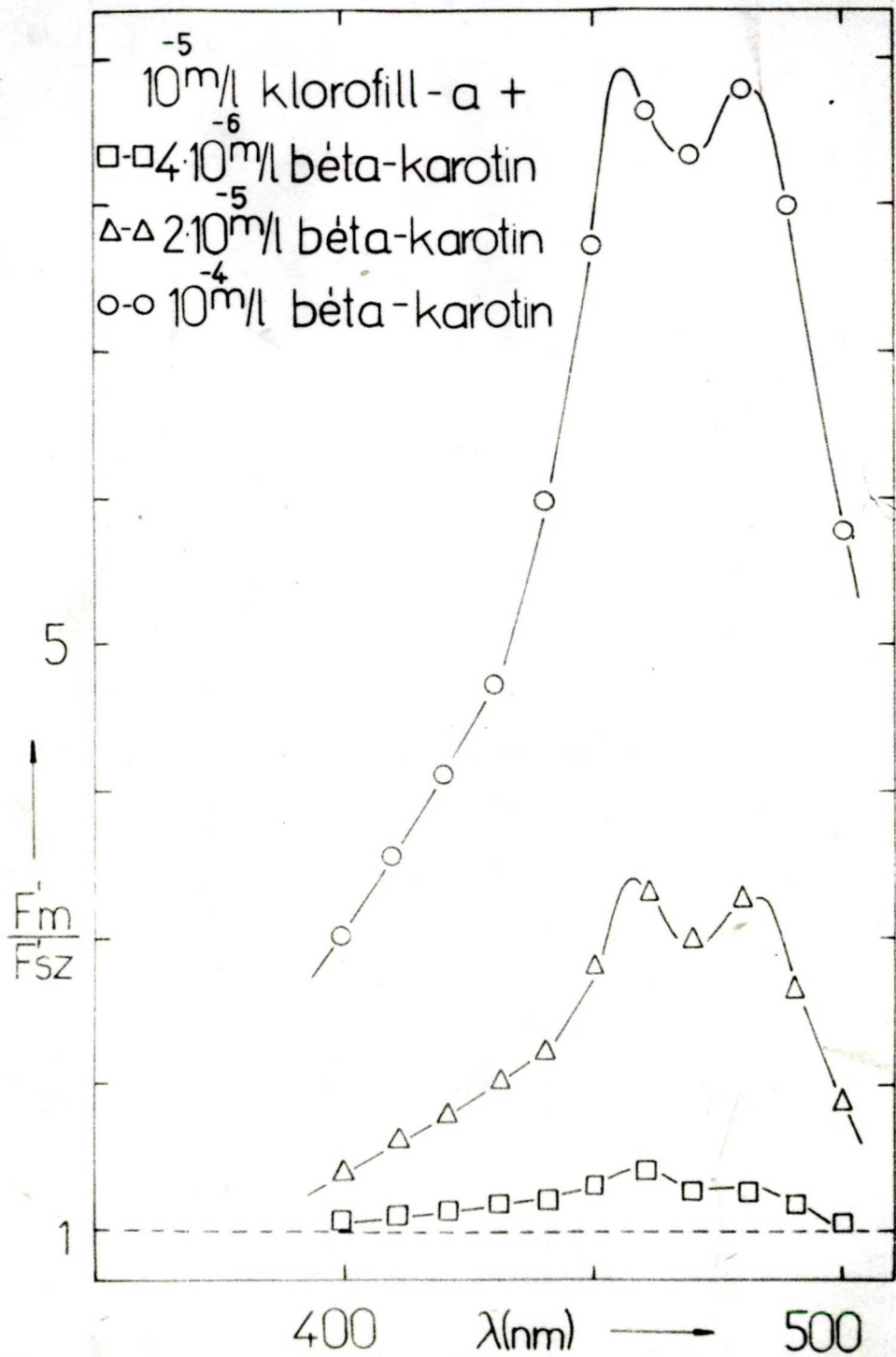
$$I_{FEU} / I_{EMI} = \text{konstans} \quad (4.20)$$

Ennek a feltételnek minden gerjesztőfény intenzitásra érvényesnek kell lenni, tehát a fluoreszcencia fény intenzitása a fotoárammal és a gerjesztő fény intenzitásával is arányos. A szóródó gerjesztő fényt RG-2-es Schott üvegszűrővel választottuk el a fluoreszcencia fénytől. Méréseink során a teljes fluoreszcencia fény intenzitását mértük meg.

E^0_{kl} , E' , F^0 és F'_m ismeretében (4.6)-al kiszámítottuk F'_{sz} , majd F'_{sz} ismeretében F'_m / F'_{sz} értékét. A 11. áb-



10. ábra F_m^0 és F^0 mérésére alkalmas berendezés. XBO-500 = 500 W-os nagyomású xenon lámpa, L = lencse, VSz = vízszűrő, FT = féligáteresztő tükör, T = tükör, FZ = fényzáró lemez, RG-2 = Schott üvegszűrő, G = galvanométer, FEU-28 és EMI 9558/A fotoelektronsokszorozók

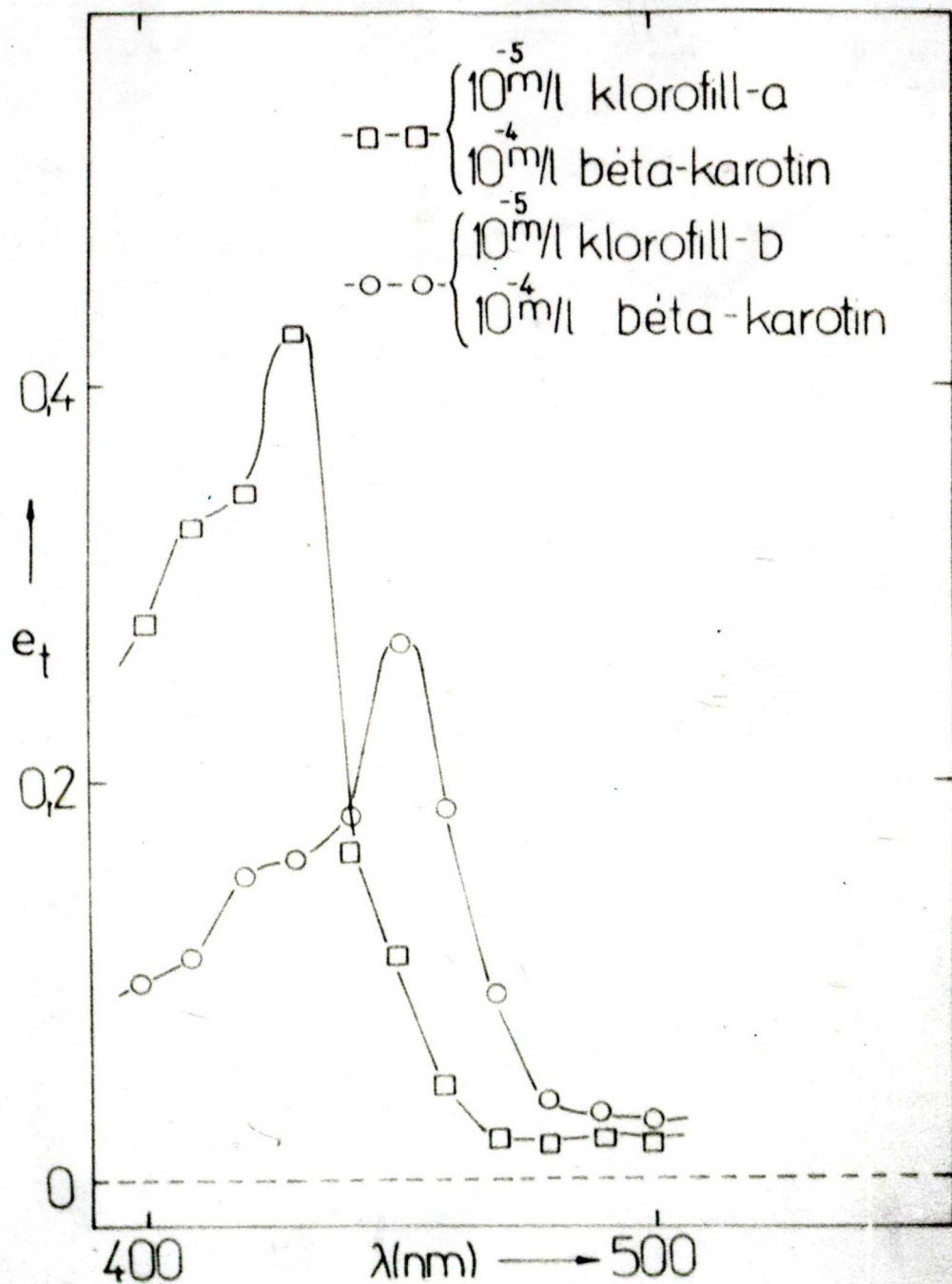


11. ábra F_m^*/F_{sz}^* értékeinek hullámhossz függése béta-karotin klorofill-a keverékoldatokra. A klorofill-a koncentrációja 10^{-5} mol/l, a béta-karotiné $4 \cdot 10^{-6}$ (- □ -), $2 \cdot 10^{-5}$ (- Δ -) és 10^{-4} mol/l (- ○ -)

ra R'_m/F'_{sz} értékeinek változását mutatja a hullámhossz függvényében klorofill-a béta-karotin keverékoldatokra. Az $F'_m/F'_{sz} = 1$ értéknél húzott vonal jelöli azt az értéket, amelynél kisebb F'_m/F'_{sz} értékek esetén a karotin a klorofill fluoreszcenciáját kioltja. Mivel F'_m/F'_{sz} értékeinek hullámhossz függése klorofill-b béta-karotin keverékoldatokra ugyanolyan mint a klorofill-a-t tartalmazó keverékoldatok esetében, ezért ezeket a Φ értékeket külön nem tüntettük fel.

F'_m és F'_{sz} , valamint E^0_{kl} és E' , a klorofill- és a keverékoldat extinkciójának ismeretében (4.11)-el az energiaátadás hatékonyságát is ki lehetett számítani. e_t értékeit a hullámhossz függvényében a 12. ábra tünteti fel béta-karotin klorofill-a és béta-karotin klorofill-b keverékoldatokra. $e_t = 0$ érték ugyanolyan szerepet tölt be, mint a 12. ábrán az $F'_m/F'_{sz} = 1$ érték.

A klorofill és a béta-karotin abszorpciós és emissziós spektrumainak ismeretében (2.7)-(2.9) és a Beer-Lambert törvény alapján R_0 értékét különböző donor-akceptor pigmentpárookra ki tudtuk számítani. A ciklohexán törésmutatója 1,4263. Φ_d , a donor fluoreszcencia hatásfokának értéke klorofill-a-ra 0,32 /3/, klorofill-b-re 0,25. A béta-karotin fluoreszcencia hatásfokára az általánosan becsült /2/, /45/, 10^{-4} -nyi értéket használtuk számításainkhoz. A 4.1. táblázatban R_0 értékeit tüntettük fel különböző donor akceptor pigmentpárookra.



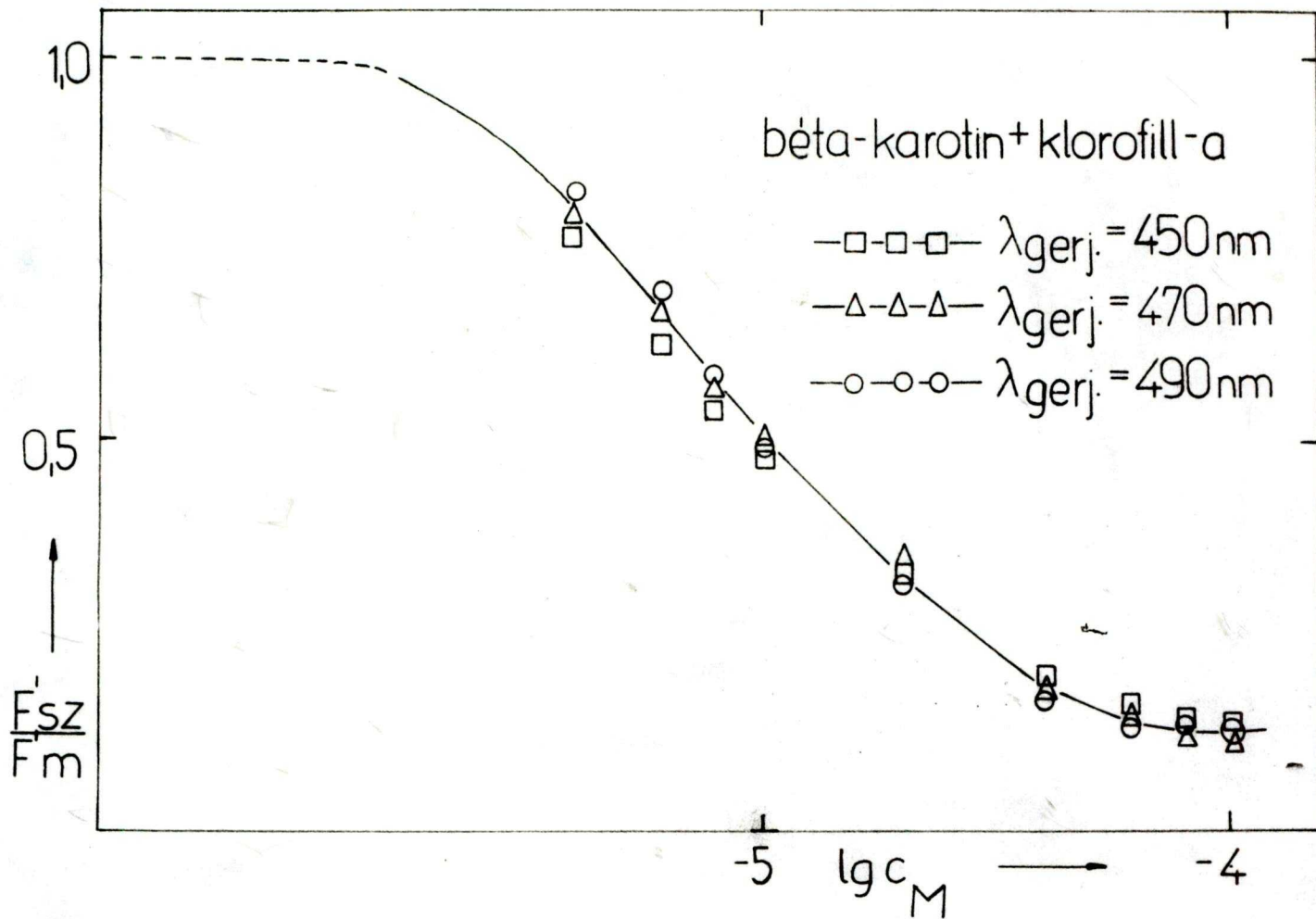
12. ábra e_t hullámhossz függése béta-karotin klorofill-a (- \square -) és béta-karotin klorofill-b (- \circ -) keverékoldatban. A klorofill-a és a klorofill-b koncentrációja 10^{-5} mol/l, a béta-karotiné 10^{-4} mol/l

akceptor donor	kloro- fill-a	kloro- fill-b	béta- -karotin
Klorofill-a	34,6	35,3	0
Klorofill-b	36,7	27,8	0
Béta-karotin	8,50 (23,2)	8,45 (18,4)	5,50

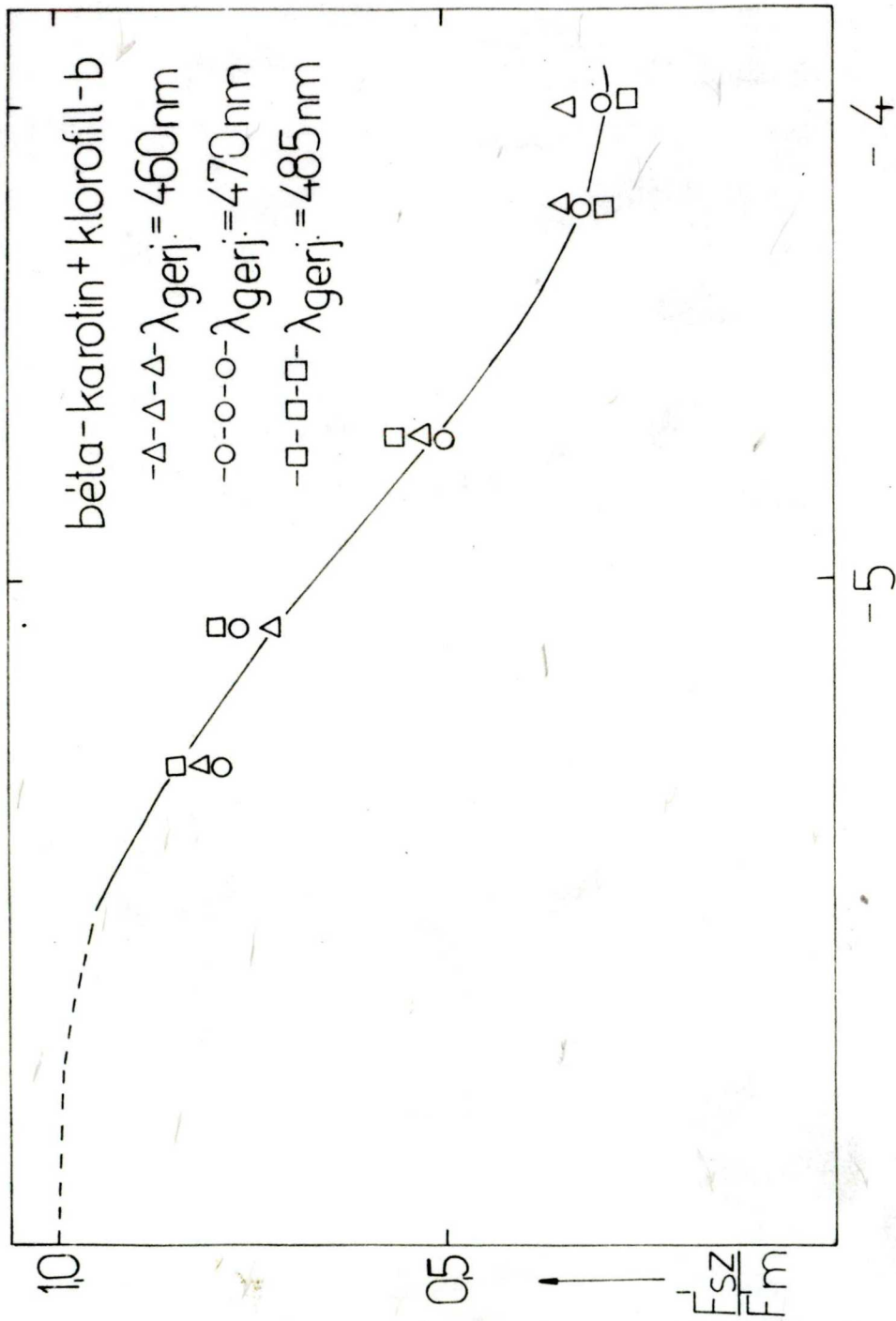
4.1. táblázat: R_0 klorofill-a, klorofill-b és béta-karotinból kiválasztott pigmentpárokra. Zárójelben a kioltási görbék alapján számított R_0 értékek.

Förster /62/ (2.12) és (2.13) alatt említett összefüggéseivel az energiaátadásra jellemző R_0 -t /65/-ben említett módszerrel kioltási görbék alapján is ki lehet számítani. Itt a béta-karotin mint donor, a klorofill-a, ill. a klorofill-b mint akceptor szerepel. A klorofill fluoreszcencia hatásfokának gyarapodása (aminek (4.7) szerint az F'_m/F'_{sz} hányados a jellemzője) a karotin fluoreszcencia hatásfokának a reciproka. Ezért a béta-karotin fluoreszcencia kioltását az F'_{sz}/F'_m hányados reprezentálhatja. Az $F'_{sz}/F'_m = f(\lg c_M)$ függvényt nevezzük kioltási görbének. A 13. ábra a béta-karotin klorofill-a rendszerre mutat kioltási görbét 450, 470 és 490 nm-es hullámhosszúságu gerjesztés esetén. A 14. ábra béta-karotin klorofill-b rendszerre mutatja a kioltási görbét 460, 470 és 485 nm-es hullámhosszúságu gerjesztő fény mellett.

A kioltási görbék olyan hullámhosszaknál, ahol a klorofill abszorpciója kicsi - amint azt a 13. és 14. áb-



13. ábra Kioltási görbe béta-karotin klorofill-a rendszerre 450 (- □ -), 470 (- △ -) és 490 nm-es (- ○ -) hullámhosszúságu gerjesztés esetén



14. ábra Kioltási görbe béta-karotin klorofill-b rendszerre 460 (- Δ -), 470 (- o -) és 485 nm-es (- □ -) hullámhosszúságu gerjesztés esetén

ra mutatja - csaknem egybeesnek. Olyan gerjesztő hullámhosszaknál, ahol a klorofilok abszorpciója kifejezett, a kioltási görbék az előbb említettektől eltérnek. A fenti tapasztalatnak megfelelően a kioltási görbék alapján számított R_0 értékek is változnak a gerjesztő fény hullámhosszának megfelelően. Olyan gerjesztő hullámhossz tartományban, ahol főleg a béta-karotin abszorbeál (460-500 nm között) R_0 értéke állandó; a béta-karotin klorofill-a rendszerre 23,2, a béta-karotin klorofill-b rendszerre 18,4 Å. Olyan gerjesztő hullámhosszaknál, ahol a klorofilok is abszorbeálják a fényt, R_0 értéke a fent említettektől eltér; a béta-karotin klorofill-a rendszerre 430 nm-nél, a klorofill-a abszorpciós maximumának helyén $R_0 = 19,3$ Å, a béta-karotin klorofill-b rendszerre 452 nm-nél, a klorofill-b abszorpciós maximumának helyén $R_0 = 18,8$ Å.

A kioltási görbék alapján számított R_0 értékeinek ismeretében (2.10) és (2.3)-al 10^{-5} mol/l klorofillt és 10^{-4} mol/l béta-karotint tartalmazó keverékoldatokra számítottuk n_f értékeit. τ_d -t, a béta-karotin gerjesztett állapotának természetes élettartamát az oszcillátorerősség definíciója alapján (4.21) és (4.22)-vel számítottuk ki. Tolman és Perrin /47/ formulája szerint valamely molekula gerjesztett állapotának természetes élettartama:

$$\tau_d = 1500 \frac{g_u}{g_l} \frac{1}{\bar{\nu}_0^2 f} \quad (4.21)$$

ahol

$$f = 4,319 \cdot 10^{-9} \int \varepsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu} \quad (4.22)$$

egy elektronátmenet oszcillátorerőssége $\bar{\nu}$ a hullámszám (cm^{-1}), $\bar{\nu}_0$ az emissziós spektrum maximumhelyének megfelelő hullámszám, a g_{II}/g_1 hányados a gerjesztett és az alapállapot multiplicitásának hányadosa. (4.21) és (4.22) alapján τ_d , a béta-karotin gerjesztett állapotának természetes élettartama $1,85 \cdot 10^{-9}$ sec-nak adódott. R-t, a klorofill és a karotin molekulák közötti átlagos távolságot (4.8)-al számítottuk ki. A 10^{-5} mol/l klorofillt és 10^{-4} mol/l karotint tartalmazó keverékoldatban a klorofill és karotin molekulák közötti átlagos távolság 194 \AA . n_t kiszámításánál a kioltási görbék alapján számított R_0 -ak közül azokat vettük figyelembe, amelyeket a 450-500 nm-es hullámhossz tartományban kaptunk: Béta-karotin klorofill-a rendszerre 23,2, béta-karotin klorofill-b-re pedig 18,4 \AA . Ezek alapján n_t értékére $1,85 \cdot 10^3 \text{ sec}^{-1}$, ill. $0,46 \cdot 10^3 \text{ sec}^{-1}$ -t kaptunk. A (4.17) alapján számított n_t értékére ugyanebben a hullámhossz tartományban béta-karotin klorofill-a rendszerre $3 \cdot 10^5 \text{ sec}^{-1}$, béta-karotin klorofill-b rendszerre $1,9 \cdot 10^5 \text{ sec}^{-1}$ értéket kaptunk.

e_t -t, az energiaátadás hatékonyságát - n_t -hez hasonlóan - kétféle módon tudtuk kiszámítani. (4.11) alapján n_t értékére a 450-500 nm-es hullámhossztartományban béta-karotin klorofill-a rendszerre 0,021, béta-karotin klo-

rofill-b rendszerre 0,035 adódott, míg olyan hullámhosszaknál, ahol a klorofillok is abszorbeálnak, ez az érték 0,42, ill. 0,28 volt (a maximális abszorpció helyén).

(22) szerint $e_t = n_t/n$. Mivel $n = 1/\tau$, és $\tau = \tau_d / \Phi$ ezért

$$e_t = n_t \frac{\tau_d}{\Phi} \quad (4.23)$$

Az energiaátadás hatékonyságát (4.23)-al is meg lehet határozni, a már említett n_t , τ_d és Φ értékek felhasználásával. Így a béta-karotin klorofill-a rendszerre a 450-500 nm-es hullámhossz tartományban 0,029, a béta-karotin klorofill-b rendszerre 0,007 adódott.

5. Az eredmények értékelése

5.1. Az abszorpciós szinképek eredményeinek értékelése. A klorofill-a, klorofill-b és a béta-karotin oldatok, valamint a keverékoldatok abszorpciós szinképeit az 5. és a 6. ábrák mutatják. Mind a klorofill-a béta-karotin, mind a klorofill-b béta-karotin keverékoldatokra fennáll, hogy a keverékoldat abszorpciós spektruma a komponensek abszorpciójából összegzéssel számított spektrummal egybeesik. A számított és a mért abszorpciós spektrumok közötti eltérés még a 10^{-4} mol/l koncentrációju béta-karotint tartalmazó oldat esetében is kisebb volt, mint 3 %. Ezek alapján megállapíthatjuk, hogy

1) A klorofill-a, ill. a klorofill-b és a béta-karotin között a jelen körülmények között a kapcsolat nem erős.

2) 10^{-5} mol/l klorofill koncentrációnál, ill. 10^{-5} mol/l klorofill és 10^{-4} mol/l béta-karotin koncentrációnál nem képződnek sem klorofill sem karotin sem pedig vegyes dimerek, ill. magasabbrendű aggregátumok.

Az aggregátumok jelenléte az oldatok spektrális-lumineszcens tulajdonságait erősen befolyásolná. Ez a megfigyelésünk egyezik az irodalomban már ismerttetett adatokkal /6, 52/.

E két észrevétel lehetővé tette a (4.6) összefüggés használatát. E_0 és E^* , ill. E_0 és E^* alapján A_0 és A^* értékeit is az abszorpciós spektrumok alapján határoztuk meg és használtuk fel F_{sz}^* értékének kiszámítására.

Az abszorpciós szinképet az oldat, ill. az oldott anyagok tisztaságának, ill. koncentrációjának ellenőrzésére is felhasználtuk. A béta-karotin 335 nm környékén mutatott abszorpciója alapján győződünk meg arról, hogy az csupán transz-béta-karotin volt. Izomerek jelenlétét az abszorpciós szinkép nem mutatta.

A klorofill-a és a klorofill-b tisztaságát a klorofill oldatok kék és vörös abszorpciós maximumainak hányadosa alapján ellenőriztük. A klorofill-a 430 és 662 nm-nél mutatott abszorpcióinak hányadosa ciklohexánban 1,29, míg klorofill-b-re a 452 és a 644 nm-nél mutatott abszorpciók hányadosa 2,45 volt, egyezésben az irodalmi adatokkal. Mivel a béta-karotin a klorofilok vörös abszorpciójának helyén nem mutat abszorpciót, a 663, ill. a 644 nm-nél mért extinkciók alapján tudtuk oldataink klorofill tartalmára következtetni.

5.2. Az emissziós szinképek eredményeinek értékelése.
A 8. és 9. ábrán a klorofill-a és a klorofill-a béta-karotin, ill. a klorofill-b és a klorofill-b béta-karotin keverékoldat ciklohexánban felvett relatív emissziós szinképeit tüntettük fel. Az emissziót 436 nm hullámhosszúságú fényvel gerjesztettük /59/. A klorofill-a és a klorofill-a béta-karotin keverékoldat relatív emissziós szinképei fedik egymást. Ez a megállapítás a klorofill-b és a klorofill-b béta-karotin rendszerre is érvényes. A kloro-

fill-a tartalmu oldatok 666, mig a klorofill-b-t tartalmazók 646 nm-nél mutatnak emissziós maximumot. Az emissziómérések eredményei is arra utalnak tehát, hogy a klorofill és a béta-karotin molekulák között a jelen feltételek mellett erős kölcsönhatás nincs. Egyuttal azt is mutatják, hogy nem képződtek sem egy-, sem különmemű aggregátumok (vagy legalábbis nem olyanok, amelyek emissziószinképe a klorofill-a, ill. a klorofill-b emissziószinképtől különbözne).

Az emissziós spektrumok is megerősítették a (4.6) összefüggésnek az általunk használt rendszerre való alkalmazhatóságát. Az emissziós szinképeket R_0 , ill. n_t és e_t értékeinek kiszámítására is felhasználtuk.

5.3. A fluoreszcencia hatásfok-vizsgálatok eredményeinek értékelése. Már említettük, hogy a fluoreszcencia hatásfokának gyarapodása a keverékoldatban a klorofill fluoreszcencia szenzibilizálását, az energiaátadás jelenlétét mutatja. Az energiaátadás jellemzőjeként - amint azt (4.7)-ben említettük - jelen esetben az F'_m/F'_{sz} hányados értéke szolgál, ahol F'_m a keverékoldat mért, F'_{sz} pedig a (4.6) alapján számított fluoreszcencia intenzitását jelöli, feltételezve, hogy $\Phi_0 = \Phi'_{sz}$, a klorofill fluoreszcencia hatásfoka ugyanakkora a klorofill mint a keverékoldatban. Amint azt a 11. ábrán látható, F'_m/F'_{sz} értéke minden általunk vizsgált oldat esetében nagyobb volt mint 1, ami azt mutatja, hogy a mért fluoreszcencia intenzitás minden bé-

ta-karotin koncentrációjánál és gerjesztő hullámhosszánál nagyobb volt a számított fluoreszcencia intenzitásánál. Ez arra utal, hogy a béta-karotin által elnyelt fényenergia egy része átmegey a klorofillra. Ilymódon a 11. ábra a béta-karotin klorofill energiaátadást bizonyítja. Nagy béta-karotin koncentrációjánál az F_m^*/F_{sz}^* hányados értéke béta-karotin klorofill-a rendszerre kb. 8, míg a béta-karotin klorofill-b-re kb. 5. F_m^*/F_{sz}^* értékeit a hullámhossz függvényében feltüntetve (11. ábra) olyan görbét kapunk, amely a béta-karotin abszorpciós spektrumára emlékeztet.

Azt az elgondolást, hogy a béta-karotin klorofill energiaátadás bizonyos hullámhossz-tartományban történő gerjesztés esetén valóban a lassu típusba tartozik az a meggondolás mutathatja, hogy F_m^*/F_{sz}^* értékeit elosztva az ugyanahhoz a hullámhosszhoz tartozó E_{kar}^0 értékekkel a mérési hibák határain belül konstans értéket kapunk. Ez érthető is, mivel a fluoreszcencia relatív hatásfoka annál inkább gyarapodhat, minél több fényt abszorbeál a béta-karotin, minél több gerjesztési energiát adhat át a klorofillnak. Mivel tehát az egységnyi béta-karotin abszorpcióra eső klorofill fluoreszcencia hatásfok változás konstans a 450-500 nm-es hullámhossz tartományban (függetlenül a gerjesztő fény hullámhosszától) arra gondolhatunk, hogy ilyen viszonyok között az energiaátadást Förster egyenleteivel le lehet írni. Ebből a megállapításból az is következik, hogy jelen körülmények között a béta-ka-

rotin és klorofill molekulák között a kapcsolat igen gyenge. Ez várható is, hiszen a 10^{-5} mol/l klorofillt és 10^{-4} mol/l béta-karotint tartalmazó keverékoldatban a béta-karotin és klorofill molekulák közötti 194 \AA -nyi átlagos távolság nagy a $10-20 \text{ \AA}$ -nyi molekulaméretekhez képest. Ez a megállapítás egyezik azzal, amely szerint a fukoxantin klorofill energiaátadás Förster egyenletével leírható /1/.

5.4. Az R_0 számítás eredményeinek értékelése. R_0 értékeit (2.9) alapján számítottuk ki. R_0 értékeinek kiszámításakor két feltételezést tettünk. Feltételeztük, hogy:

1. Φ_d , a béta-karotin fluoreszcencia hatásfoka 10^{-4} . (Φ_d értékére más szerzők is ilyen értéket tételeznek fel.)
2. A béta-karotin fluoreszcencia spektrális eloszlásáról feltételeztük, hogy megegyezik Cherry és munkatársai /45/ által közölt spektrummal. A normált fluoreszcencia spektrumokat a 7. ábra mutatja. $\varepsilon(\lambda)$ adatait $\Sigma(\lambda)$ adataiból nyertük 5. és 6. ábra alapján. R_0 értékeinek kiszámításakor feltételeztük, hogy az energiaátadásban csak a fluoreszcens állapot vesz részt. Ezért az átfedési integrál értékének meghatározásánál a klorofillok abszorpciós spektrumának csak a vörös abszorpcióju, fluoreszcens sávját vettük figyelembe, aminek a nagyobb frekvenciák felé eső részét a 7. ábrán szaggatott vonal jelöli. A (2.9) összefüggéssel kiszámított R_0 értékeket a 4.1. táblázat mutatja. A táblázat adatai alapján megállapít-

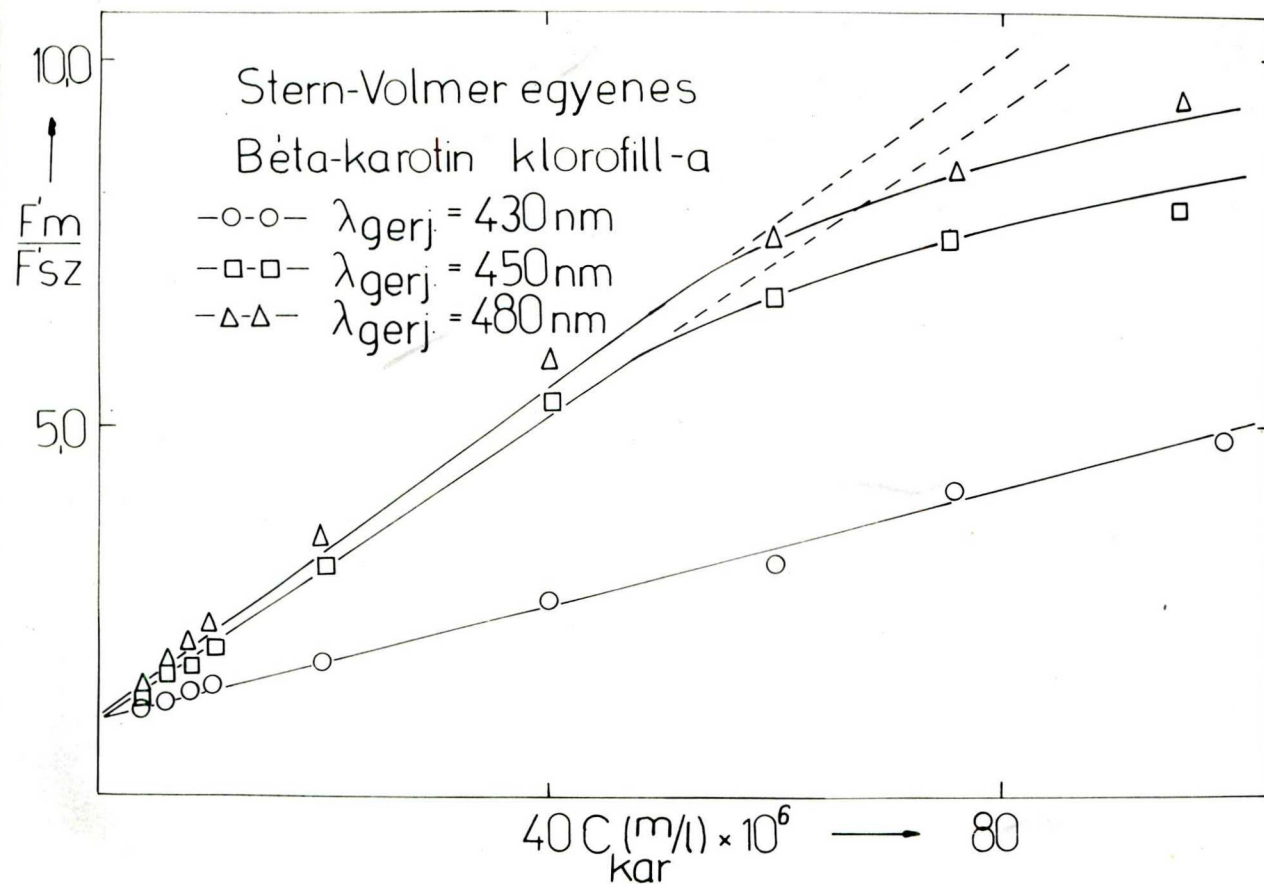
hatjuk, hogy: 1. A legvalószínűbb energiaátadás a klorofill-b-ről a klorofill-a-ra irányul, ezt már több szerző /1, 35, 41, 42, 59, 64/ jelezte. 2. A klorofillról a karotinra - mivel a klorofill emissziós spektruma a karotin abszorpciós spektrumát nem fedi át - nem megy át az elektromongerjesztési energia. 3. A karotinról a klorofillra megy át a gerjesztési energia, mégpedig közel azonos valószínűséggel a klorofill-b-re és a klorofill-a-ra, annak ellenére, hogy a klorofill-b vörös abszorpciós sávja jobban át fedi a béta-karotin emissziós spektrumát mint a klorofill-a-é. Annak, hogy a béta-karotin klorofill-b rendszerre jellemző R_0 érték nem nagyobb a béta-karotin klorofill-a-éra jellemzőnél az az oka, hogy a klorofill-b abszorpciója a vörös sávban kisebb mint a klorofill-a-é. A Förster formulák alapján a fenti feltételezések szem előtt tartásával nem lehet megerősíteni a klorofill-b-nek arról a szerepéről alkotott elképzeléseket, hogy az gerjesztési energia továbbító a béta-karotin és a klorofill-a között. A béta-karotin klorofill energiaátadásra jellemző kritikus távolság értéke - mint azt a 4.1. táblázat mutatja - $8,5 \text{ \AA}$. Ez azt jelenti, hogy a karotin klorofill energiaátadás csak nagy pigmentkoncentrációnál hatékony. 4. Béta-karotin molekulák között is van energiaátadás, bár ennek hatékonysága - mint azt az $R_0 = 5,5 \text{ \AA}$ is mutatja - nagyon kicsi.

5.5. A fluoreszcencia kioltás eredményeinek értékelése. Vegyük figyelembe a 3.6. alatt mondottakat. Esetünkben a béta-karotin mint donor, a klorofill mint akceptor szerepel. A klorofill fluoreszcencia hatásfokának gyarapodása (aminek az F_m^0/F_{sz}^0 hányados a jellemzője) a karotin fluoreszcencia hatásfok csökkenésének a reciproka. Ezért a béta-karotin fluoreszcencia hatásfokának csökkenését az F_{sz}^0/F_m^0 hányados reprezentálhatja. Amint azt a 13. és 14. ábra mutatja, az $F_{sz}^0/F_m^0 = f(\lg c_M)$ függvény képe valóban tipikus kioltási görbe, amelynek alapján a béta-karotin klorofill rendszerre jellemző R_0 értéket ki lehet számítani. A kioltási görbék alapján számított R_0 értékek azonban olyan hullámhossznál, amelynél a klorofill abszorpciója is erős hullámhossz függést mutatnak, holott Förster elmélete alapján R_0 -nak konstansnak kellene lenni. Olyan hullámhossz tartományban, ahol a klorofilok abszorpciója kicsi (450-500 nm között) a kioltási görbék alapján számított R_0 értékek nem függenek a gerjesztő fény hullámhosszától. Ezek a megfigyelések is alátámasztják az 5.4. alatt mondottakat, hogy a karotin klorofill energiaátadás csak bizonyos hullámhosszaknál történő gerjesztés esetén írható le Förster egyenleteivel. Olyan hullámhossznál történő gerjesztés esetén, ahol a klorofilok is abszorbeálnak, ahol e_t és n_t is függ gerjesztő fény hullámhosszától R kitevőjét nem lehet pontosan megállapítani, és ilyen hullámhosszokra kapott R_0 értékei félrevezetőek, téves információt hordoznak.

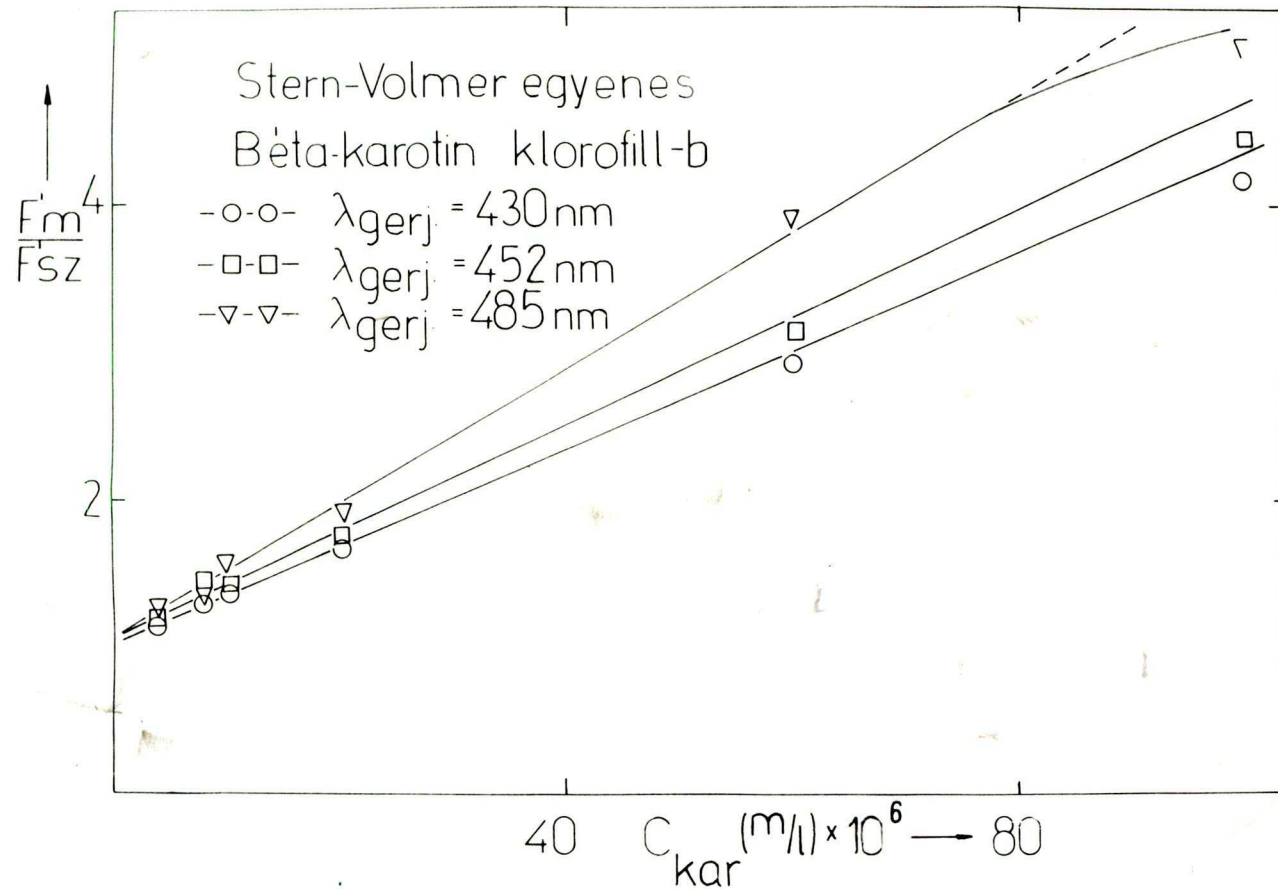
A kioltási görbék alapján béta-karotin klorofill rendszerre számított R_0 -ak nagyobbak az abszorpciós és emissziós spektrumok alapján számítottaknál. Ennek egyik oka az lehet, hogy a béta-karotin fluoreszcencia spektruma a valóságban különbözik a Cherry és munkatársai /45/ által közölttől. Az is lehetséges, hogy a béta-karotin fluoreszcencia hatásfoka nem 10^{-4} , hanem nagyobb. A kioltási görbék alapján számított R_0 értékek mindenképpen valószínűbbek mint azok, amelyeket a spektrumok alapján számítottunk.

A kioltási görbék azt mutatják, hogy a béta-karotinról nagyobb valószínűséggel megy át a gerjesztési energia a klorofill-a-ra, mint a klorofill-b-re, hiszen a béta-karotin klorofill-a rendszerre jellemző kritikus távolság értéke nagyobb mint a béta-karotin klorofill-b-re jellemzőé. Ez a tény ellene szól annak a feltételezésnek, hogy a klorofill-b mint energia továbbító szerepeljen a béta-karotin és a klorofill-a között olyan rendszerekben, ahol mindkét klorofill és a béta-karotin is jelen van. Ez azonban nem zárja ki azt a lehetőséget, hogy a klorofill-b is átveszi a béta-karotin gerjesztési energiáját és továbbítja a klorofill-a felé, csak annak a folyamatnak kisebb a valószínűsége. Mindamellet a következő pontban látni fogjuk, hogy a kérdés megítélésében egyéb szempontoknak is szerepük van.

A 4.2.-ben mondottak alapján (4.13)-al meggyőződhetünk arról, hogy keverékadatainkban idegen kioltási fo-



15. ábra Stern-Volmer egyenes béta-karotin klorofill-a rendszerre 430 (-○-), 450 (-□-) és 480 nm-es (-△-) gerjesztő hullámhosszak mellett



16. ábra Stern-Volmer egyenes béta-karotin klorofill-b rendszerre 430 (- o -), 452 (- □ -) és 485 nm-es (- ▽ -) gerjesztő hullámhosszak mellett

lyamatok játszódnak le. Mivel $E_{kar}^0 = \epsilon_{kar} c_{kar} l$ és $E_{kl}^0 = \epsilon_{kl} c_{kl} l$, (4.13)-nak a reciproka ilyen alakban is felírható:

$$\frac{F'_m}{F'_{sz}} = 1 + \chi c_{kar} \quad (5.1)$$

ahol

$$\chi = e_t \frac{\epsilon_{kar}}{\epsilon_{kl}} \frac{1}{c_{kar}} \quad (5.2)$$

(5.1) értelmében $F'_m/F'_{sz} = f(c_{kar})$ függvény képe egyenes, un. Stern-Volmer-féle egyenes. A 15. és 16. ábrán Stern-Volmer egyenesek láthatók béta-karotin klorofill-a és béta-karotin klorofill-b rendszerre 3-3 gerjesztő hullámhossznál. A 15. és 16. ábrák alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a klorofill-a, ill. a klorofill-b mint idegen kioltó, kioltja a béta-karotin fluoreszcenciáját.

5.6. Az energiaátadási frekvencia és hatékonyság eredményeinek értékelése. Amint azt a 12. ábra mutatja, abban a hullámhossz tartományban, ahol a klorofill és a béta-karotin is abszorbeálja a fényt e_t értéke függ a gerjesztő fény hullámhosszától. A 12. ábrán a görbék lefutása a klorofill-a, ill. a klorofill-b abszorpciós szinképére emlékeztet. Ennek alapján azt mondhatjuk, hogy az energiaátadás e_t hatékonysága akkor nagy, ha a béta-karotint olyan hullámhossznál gerjesztjük, ahol a gerjesztő fényt a klorofill is elnyeli. Ilyen esetben az energiaátadás

hatékonysága 10^{-5} mol/l klorofillt és 10^{-4} mol/l karotint tartalmazó keverékoldatban 0,3-0,4, míg olyan hullámhosszaknál, ahol a fényt főleg a béta-karotin abszorbeálja 0,02-0,03. Mivel a klorofill-b abszorpciós szinképe a béta-karotin abszorpciós szinképét jobban átfedi, mint a klorofill-a-é (5. és 6. ábra), elképzelhető, hogy klorofill-a-t, klorofill-b-t és béta-karotint tartalmazó keverékrendszerben - mint pl. a kloroplastban is - a béta-karotin által elnyelt fényenergia nagyobb hatékonysággal megy át a klorofill-b-re, mint a klorofill-a-ra. A klorofill-b-ről a gerjesztési energia nagy hatékonysággal megy át a klorofill-a-ra. A klorofill-b klorofill-a energiaátadásról már tudjuk, hogy kis klorofill koncentrációknál is nagyon hatékony /41, 42, 64/. Így mégis megvan annak a lehetősége, hogy a klorofill-b mint gerjesztési energia továbbító is szerepeljen a béta-karotin és a klorofill-a között.

n_t értéke 10^{-5} mol/l klorofill és 10^{-4} mol/l béta-karotint tartalmazó keverékoldatban 10^3-10^5 sec $^{-1}$. Az in vivo karotin és klorofill koncentrációknál n_t értéke 10^8-10^9 sec $^{-1}$ vagy nagyobb, ami azt jelenti, hogy a karotin klorofill energiaátadás nagyon hatékony lehet. Mivel a klorofill és a karotin in vivo koncentrációja 10^{-1} mol/l-nyi, a karotin és klorofill molekulák közötti átlagos távolság 20 Å-nyi, várhatóan a karotin klorofill energiaátadás hatékonysága ≈ 100 %.

6. Összefoglalás

Kísérleteink során a béta-karotin klorofill-a és a béta-karotin klorofill-b között keverékkoldatokban lejátszódó energiaátadási folyamat meglétét mutattuk ki. Ezen túlmenően a karotin klorofill energiaátadás néhány jellemzőjét is megállapítottuk. Kísérleti módszerként a klorofill fluoreszcencia hatásfok változásának, a fluoreszcencia szenzibilizálásának módszerét használtuk. Legfontosabb eredményeinket a következőkben foglaljuk össze.

1. Az eddigi ismeretek szerint a karotinoidok gerjesztési energiája csak olyan rendszerekben adódik át a klorofillokra, amelyek valamilyen "szilárd" tartó felületet tartalmaznak, mint pl. karotint és klorofillt tartalmazó pigmentrétegekben, és detergens tartalmu keverékkoldatokban. A karotin klorofill energiaátadás hatékonyságát in vivo rendszerekben 30-50 %-osnak, sőt bizonyos körülmények között 100 %-osnak becsülték. Mi ugy találtuk, hogy a karotin klorofill energiaátadás hatékonysága abban a tartományban, ahol a klorofill is abszorbeálhatja a fényt, függ a gerjesztő fény hullámhosszától, klorofill-a esetében 400-430, klorofill-b esetében 400-450 nm között. Nagy karotin és klorofill koncentráció mellett (mint pl. in vivo is) ilyen hullámhossz-tartományban a karotin klorofill energiaátadás hatékonysága gyakorlatilag 100 %. Ezért ugy véljük, hogy az in vivo rendszerre tapasztalt 30-50 %-os érték átlagérték: bizonyos karotin molekulák nagy, mások igen alacsony

hatékonysággal vesznek részt az energiaátadásban. Ezeknek a karotin molekuláknak valószínűleg más szerepük van a kloroplasztban és esetleg térben elkülönítettek a klorofill molekuláktól.

2. A karotin klorofill energiaátadás mechanizmusáról egyesek feltételezték, hogy Förster egyenleteivel leírható ún. lassu típusba tartozik, mások pedig azt, hogy valamilyen eddig ismeretlen mechanizmus szerint játszódik le.

Mi arra a következtetésre jutottunk, hogy a karotin klorofill energiaátadás keverékadatainknál lényegében a lassu típusba tartozik. Azt a tényt azonban, hogy az energiaátadás hatékonyságát jellemző kritikus távolság és az energiaátadás hatékonysága bizonyos hullámhossz tartományban hullámhossztól függ, nem lehet Förster elméletével magyarázni. Eredményeink azt mutatják, hogy az energiaátadásban a klorofillok második szingulett gerjesztett - az ún. Soret sávnak megfelelő - állapota is részt vesz. Eszerint a karotin klorofill energiaátadás kevert típusu: a lassu típusu energiaátadásra egy gyors, a klorofillok második gerjesztett állapotának részvételét feltételező energiaátadás szuperponálódik. Emellett a feltételezés mellett érthető az a tapasztalat is, hogy a karotin klorofill energiaátadás hatékonysága olyan hullámhossz tartományban, ahol a klorofill gyakorlatilag nem abszorbeál, a karotin klorofill energiaátadás hatékonysága független a gerjesztő fény hullámhosszától, tisztán lassu típusu.

Az energiaátadás hatékonyságának a gerjesztő fény hul-

lámhosszától való függését ujabban többen megfigyelték különböző típusu molekuláknál, így klorofill-b klorofill-a keverékoldatok esetében is. Ugy látszik tehát, hogy a Förster elméletet ki kell bővíteni.

3. Fluoreszcencia kioltási görbék, abszorpciós és emissziós spektrumok alapján kiszámítottuk az energiaátadásra jellemző kritikus távolság, energiaátadási frekvencia értékét, valamint az energiaátadás hatékonyságát is. A kioltási görbék alapján számított R_0 kritikus távolság értékek olyan hullámhossz tartományban, ahol a karotin és a klorofill is abszorbeálja a fényt, hullámhossz függőek. Olyan hullámhossz tartományban, ahol főleg a béta-karotin abszorbeál R_0 értéke független a gerjesztő fény hullámhosszától, értéke $18,4 \text{ \AA}$ béta-karotin klorofill-b, $23,8 \text{ \AA}$ béta-karotin klorofill-a rendszerre. Az energiaátadási frekvencia értéke 10^{-5} mol/l klorofill és 10^{-4} mol/l béta-karotin tartalmu keverékoldatban 10^3 - 10^5 sec^{-1} között váltakozik a gerjesztő fény hullámhosszának megfelelően. Az energiaátadás hatékonysága az említett koncentrációviszonyok mellett olyan gerjesztő hullámhossznál, ahol a karotin és a klorofill is abszorbeál 0,3-0,4, míg olyan hullámhosszaknál, ahol főleg a béta-karotin abszorbeál 0,02-0,03. A kioltási görbék és az emissziós és abszorpciós spektrumok alapján számított R_0 értékeket figyelembe véve arra a következtetésre jutottunk, hogy a béta-karotin fluoreszcencia hatásfokára, vagy a béta-karotin fluoreszcencia szinképére vonatkozó feltételezések pontatlanok.

4. A klorofill-b-nek az energiaátadásban betöltött szerepe vizsgálataink szerint kettős. A klorofill-b mint járulékos pigment fényt abszorbeál, és azt átadja a klorofill-a-nak, másrészt a karotin által elnyelt fényenergia egy részét átveszi a karotintól és a klorofill-a felé továbbítja. Reálisak tehát azok az elképzelések, amelyek szerint a karotin klorofill-a energiaátadás hatékonysága klorofill-b jelenlétében megnő. Az *in vivo* pigmentkoncentrációk ismeretében arra a következtetésre jutottunk, hogy *in vivo* a karotin klorofill energiaátadás hatékonysága közel 100 %-os. Emiatt elfogadhatónak látszik az az elképzelés, hogy az *in vivo* rendszerek esetében tapasztalt 30-50 %-os karotin klorofill energiaátadás határfoka egy átlagérték, amelynek létrejöttében bizonyos térbelileg elkülönített karotinoid molekulák inaktív abszorpciója játszik szerepet.

Ugy gondoljuk, a karotinoid klorofill energiaátadás tanulmányozását érdemes volna más karotinoid pigmentekre is kiterjeszteni, különösen fontos volna a xantofilloknak az energiaátadásban betöltött szerepét tisztázni: a jelenlegi ismereteink szerint *in vivo* a xantofillok nem adják át gerjesztési energiájukat a klorofilloknak, *in vitro* is csak detergens tartalmu oldatokban és pigment egyrétegekben. Hasznos volna a karotinoid klorofill energiaátadást nagyobb pigmentkoncentrációkra kiterjeszteni, más vizsgálati módszereket is alkalmazni. Ily módon pontosabb információkat nyerhetnénk a karotinoid klorofill energiaátadás jellemzőiről.

7. Függelék

7.1. (4.9) szerint

$$F'_m = \Phi A'_{kl} + \Phi A'_{kar} e_t \quad (4.9)$$

(4.9)-ből e_t -t kifejezve a következő összefüggést kapjuk:

$$e_t = \frac{1}{A'_{kar}} \left(\frac{F'_m}{\Phi} - A'_{kl} \right) \quad (F.1)$$

(4.2) szerint

$$\Phi^{\circ} = \Phi' = \frac{F'_{sz}}{A'_{kl}}$$

(4.2)-t (F.1)-be behelyettesítve a következő összefüggést kapjuk:

$$e_t = \frac{A'_{kl}}{A'_{kar}} \left(\frac{F'_m}{F'_{sz}} - 1 \right) \quad (F.2)$$

(4.5) szerint

$$\frac{A'_{kl}}{A'} = \frac{E^{\circ}_{kl}}{E'} \quad \text{és} \quad \frac{A'_{kar}}{A'} = \frac{E^{\circ}_{kar}}{E'}$$

(4.5)-öt fel lehet írni A'_{kl} és A'_{kar} -ra is, és a két összefüggés hányadosát képezve a következő egyenletet kapjuk:

$$\frac{A'_{kl}}{A'_{kar}} = \frac{E^{\circ}_{kl}}{E^{\circ}_{kar}} \quad (F.3)$$

Mivel $E' = E^{\circ}_{kar} + E^{\circ}_{kl}$, (F.2) -t más alakban is felírhatjuk:

$$e_t = \left(\frac{F'_{m1}}{F'_{s2}} - 1 \right) \frac{F'_{t2}}{F' - F} \quad (4.11)$$

Ez az összefüggés pedig a már látott (4.11).

7.2. $A'_{kl}/A' = E'_{kl}/E'$ (4.5) érvényességéről. A'_{kl} a klorofill százalékos fényelnyelése a keverékoldatban, A' a keverékoldat százalékos fényelnyelése, E'_{kl} a klorofill oldat, E' a keverékoldat extinkciója.

A Beer-Lambert törvény szerint

$$I = I_0 \cdot e^{-icb} \quad (F.5)$$

ahol I_0 a beeső, I az l rétegvastagságu mintán áthaladt fény intenzitása, i az extinkciós koefficiens, c a fényt abszorbeáló anyag koncentrációja. i és ε , a moláris dekadikus extinkciós koefficiens között a következő összefüggés áll fenn:

$$i = 2,3026 \cdot \varepsilon \quad (F.6)$$

A , a minta által abszorbeált fény mennyisége

$$A = I_0 - I \quad (F.7)$$

Az l vastagságu minta Δx vastagságu rétegében abszorbeált fény mennyisége

$$\Delta A = ic I(x) \Delta x \quad (F.8)$$

ahol $I(x)$ jelenti a fény intenzitását a Δx rétegnél. Az l vastagságban elnyelt fény mennyiségét megkapjuk, ha (F.8)-at 0 és l között integráljuk:

$$A = \int_0^l i_0 I(x) dx \quad (\text{F.9})$$

(F.9)-ből az integrálás után (F.5)-höz jutunk. Keverékoldatban $I(x)$, a fény intenzitása a Δx vastagságu réteg elején

$$I(x) = I_0 e^{-(i_{kl} c_{kl} + i_{kar} c_{kar})x} \quad (\text{F.10})$$

Ha csak a klorofill fényelnyelésére vagyunk kíváncsiak

$$A'_{kl} = \int_0^l i_{kl} c_{kl} I_0 e^{-(i_{kl} c_{kl} + i_{kar} c_{kar})x} dx \quad (\text{F.11})$$

Az integrálást elvégezve (F.12)-t kapjuk:

$$A'_{kl} = I_0 i_{kl} c_{kl} \frac{1 - e^{-(i_{kl} c_{kl} + i_{kar} c_{kar})l}}{i_{kl} c_{kl} + i_{kar} c_{kar}} \quad (\text{F.12})$$

Mivel

$$A' = I_0 \left(1 - e^{-(i_{kl} c_{kl} + i_{kar} c_{kar})l} \right) \quad (\text{F.13})$$

és

$$E^0_{kl} = \epsilon_{kl} c_{kl} l = \frac{i_{kl} c_{kl} l}{2,3026} \quad (\text{F.14})$$

Valamint

$$E' = (\varepsilon_{kl} c_{kl} + \varepsilon_{kar} c_{kar}) l = \frac{(i_{kl} c_{kl} + i_{kar} c_{kar}) l}{2,3026} \quad (\text{F.15})$$

(F.12) így is írható:

$$A'_{kl} = A' \cdot \frac{E^{\circ}_{kl}}{l} \cdot \frac{1}{\frac{E'}{l}} \quad (\text{F.16})$$

Tehát

$$\frac{A'_{kl}}{A'} = \frac{E^{\circ}_{kl}}{E'} \quad (\text{4.5})$$

I R O D A L O M

- /1/ Duysens, L.N.M.: Thesis, Uthrecht 1952.
- /2/ Goedheer, J.C.: in Progress in Photosynthesis Research
Vol. II. ed.: H. Metzner, Tübingen, 811, 1969.
- /3/ Duysens, L.N.M.: Photosynthesis, in Progress in
Biophys. and Molecular Biology, Vol. XIV.
1, 1964.
- /4/ Goedheer, J.C.: Biochem. et Biophys. Acta 172, 252,
1969.
- /5/ Rabinowitch, E., Govindjee: Photosynthesis, ed.: J.
Willey and Sons, New York - London - Sidney -
- Toronto, 1, 1969.
- /6/ Loszev, A.P., G.P. Gurinovics: Biofizika, 14, 110, 1969.
- /7/ Whittingham, C.P.: in Chemistry and Biochemistry of
Plant Pigments. ed.: T.W. Goodwin. Acad.
Press. New York - London, 360, 1965.
- /8/ Franczkowiak, D., Z. Salamon: Photochem. Photobiol.
11, 559, 1970.
- /9/ Teale, F.W.J.: Nature, 181, 415, 1958.
- /10/ Litvin, F.F., Guljaev: Dokl. A.N. SzSzsR, 162,
1184, 1965.
- /11/ Murty, N., E. Rabinowitch: J. Chem. Phys., 41, 602,
1964.
- /12/ Truscott, T.G., M. Chessin, R. Livingstone: J. Chem.
Phys., 43, 3409, 1965.
- /13/ Singhal, G.S., J. Hevesi, E. Rabinowitch: J. Chem.
Phys., 49, 5206, 1968.

- /14/ Emerson, R.: *Ann. Rev. Plant Physiol.* 9, 1, 1958.
- /15/ Kreutz, W.: in *Progr. in Photosynthesis Research*,
Vol. I., ed. H. Metzner, Tübingen, 91, 1969.
- /16/ Menke, W.: in *Biochemistry of Chloroplasts*, ed.:
T.W. Goodwin, Acad. Press, New York - London,
3, 1966.
- /17/ Bertsch, W., J.R. Azzi, J.B. Davidson: *Biochem.*
Biophys. Acta, 143, 129, 1967.
- /18/ Fork, D.C., J. Amesz: *Biochem. Biophys. Acta*, 143,
266, 1967.
- /19/ Clayton, R.K.: *The Chlorophylls*, Acad. Press. New
York - London, 610, 1966.
- /20/ Kok, B.: *Biochem. Biophys. Acta*, 64, 294, 1961.
- /21/ Burnett, J.H.: in *Chemistry and Biochemistry of*
Plant Pigments, ed.: T.W. Goodwin, Acad.
Press. New York - London, 381, 1965.
- /22/ Bogorad, L.: in *Chemistry and Biochemistry of Plant*
Pigments, ed.: T.W. Goodwin, Acad. Press.
New York - London, 53, 1965.
- /23/ Faludi-Dániel, Á., F. Láng: in *Biochemistry of*
Chloroplasts, Proceedings of a NATO Advanced
Study, Aberystwyth, ed.: T.W. Goodwin, Acad.
Press. New York - London, 232, 1966.
- /24/ Krinsky, N.I.: in *Biochemistry of Chloroplasts*,
Proceedings of a NATO Advanced Study,
Aberystwyth, ed.: T.W. Goodwin, Acad. Press.
New York - London, 423, 1966.

- /25/ Donohue, H.V., T.O.M. Nakayama, C.O. Chichester:
in Biochemistry of Chloroplasts, Proceedings
of a NATO Advanced Study, Aberystwyth, ed.:
T.W. Goodwin, Acad. Press. New York - London,
431, 1966.
- /26/ Mathis, P.: in Progress in Photosynthesis Research,
Vol. II. ed.: H. Metzner, Tübingen, 218,
1969.
- /27/ Baltscheffsky, M.: in First European Biophys. Congress.,
Baden, Vol. IV., 49, 1971.
- /28/ Platt, R.J.: Science, 129, 372, 1959.
- /29/ Wolf, Ch., H.T. Witt: Z. Naturforschg. 24b, 1031,
1969.
- /30/ Fork, D.C.: in Progress in Photosynthesis Research, Vol. II.
ed.: H. Metzner, Tübingen, 300, 1969.
- /31/ Hildreth, W.W.: Biochem. Biophys. Acta, 153, 197, 1968.
- /32/ Hoch, G., R.S. Knox: in Primary Processes in Photo-
synthesis, Vol. III. ed.: A.C. Giese, Acad.
Press. New York, 225, 1968.
- /33/ Förster, T.H.: Comprehensive Biochemistry, Vol.
XXII., ed.: Elsevier, Amsterdam, 61, 1967.
- /34/ Boriszov, A.Yu., Z.G. Fetiszova: Molekularnaja
Biologija, 5, 509, 1971.
- /35/ Zienkievics, E.I., A.P. Loszev, G.P. Gurinovics:
Migrácijá energii mezsdu pigmentami foto-
szinteticseskava apparata rasztenyij,
Minszk, A.N. Belorusszkoj SzSzSzR, 1971.

- /36/ Lamola, A.A., N.J. Turro: Energy Transfer and Organic Photochemistry, ed.: P.A. Leermakers and A. Weissberger, Interscience Publ. New York - London - Sidney - Toronto, 1969.
- /37/ Seybold, P.G.: Thesis, Harvard University Cambridge, Massachusetts, 1967.
- /38/ Pearlstein, R.M.: Brookhaven Symposia in Biology, 19, 8, 1966.
- /39/ Robinson, G.W.: Brookhaven Symposia in Biology, 19, 16, 1966.
- /40/ Goedheer, J.C., F. Birnie: Biochim. Biophys. Acta, 94, 579, 1965.
- /41/ E. Rabinowitch, E., L. Szalay, E. Tombácz: közlés alatt.
- /42/ Bauer, R.K., E. Rabinowitch, L. Szalay, E. Tombácz: közlés alatt.
- /43/ Boriszov, A.Yu., Z.G. Fetiszova: Molekularnaja biologija 5, 509, 1971.
- /44/ Tomita, G.: Biophysik, 4, 296, 1968.
- /45/ Cherry, R.J., D. Chapman, J. Langelaar: Transactions of the Faraday Society, Vol. 64, 2304, 1968.
- /46/ Wolf, F.T., M.V. Stevens: Photochem. Photobiol., 6, 597, 1967.
- /47/ Kasha, M.: Radiation Res., Supplement, 2, 243, 1960.
- /48/ Anderson, R.S., G. Weber: Biochem. 8, 371, 1969.
- /49/ Kelly, A.R., F.R.S. Porter: Proc. Roy. Soc. London A., 315, 149, 1970.

- /50/ Kelly, A.R., F.R.S. Porter: Proc. Roy. Soc. London A., 324A, 117, 1971.
- /51/ Quinlon, K.P.: Arch. Biochem. Biophys., 127, 31, 1968.
- /52/ Gurinowitch, G.P., A.N. Szevcsenko, K.N. Szolovjev: Szpektrosszkopiya klorofilla i rodstvennyikh szoedinyenii. Izdatyelsztvo Nauka i Tekhnika Minszk, 1968.
- /53/ Jacobs, E.E., A.E. Vatter, A.S. Holt: Arch. Biochem. Biophys. 53, 228, 1954.
- /54/ Zechmeister, L.: Isomeric Carotenoid Pigments. in Fortschritte d. Chem. org. Naturst. XVIII, 45, 1961.
- /55/ Rabinowitch, E., G.S. Singhal: in Int. Conf. on Photosynthetic Unit, Gathlinburg U.S.A. Abstract No. F-17, 1970.
- /56/ Cho, F., Govindjee: Biochem. Biophys. Acta, 216, 139, 1970.
- /57/ Cho, F., Govindjee: Biochem. Biophys. Acta, 216, 151, 1970.
- /58/ Dombi, J.: Lumineszkáló keverékoldatokban lejátszó-
dó energiaátadási folyamatokról, Kandidátusi
értekezés, Szeged, 1967.
- /59/ Dombi, J.: Acta Phys. Hung., 25, 287, 1968.
- /60/ Kozma, L., E. Tombácz: Biofizika gyakorlatok, Aka-
adémiai Kiadó, Budapest, 1968.
- /61/ Duysens, L.N.M.: Nature, 168, 548, 1951.

- /62/ Förster, Th.: Fluoreszenz Organischer Verbindungen.
ed: Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen,
1951.
- /63/ Duysens, L.N.M.: in First European Biophys. Congr.,
Baden. Vol.: IV., 13, 1971.
- /64/ Watson, J., R. Livingston: J. Chem. Phys. 18, 802,
1950.
- /65/ Várkonyi, Z.: Az elektrongerjesztési energia vándor-
lásának vizsgálata viszkózus keverékoldatok-
ban. Egyetemi doktori értekezés, Szeged, 1967.
- /66/ Dhar, N.R.: The Chemical Action of Light
- /67/ Pringsheim, F.: Fluorescence and Phosphorescence,
Interscience Publ. Inc. New York - London,
1942.

Az egyetemi doktori értekezés a JATE Biofizikai Tanszékén és az Alkalmazott Lumineszcencia és Félvezető Kutató Csoport keretein belül készült. A szerző ezen a helyen is köszönetét fejezi a Biofizikai Tanszék vezetőjének, dr. Szalay László egyetemi tanárnak és az Alkalmazott Lumineszcencia Kutató Csoport vezetőjének, dr. Ketskeméty István egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tették a vizsgálatok lefolytatását.

Külön is köszönetet mondok dr. Szalay László egyetemi tanárnak azért a sokoldalú segítségért, amelyet a vizsgálatok során, valamint az értekezés összeállításakor nyújtott.

Köszönettel tartozik a szerző Erdész Ilonának a kísérleti munka során nyújtott segítségéért és Fajszai Csabának a disszertáció matematikai részének átnézéséért.

