

Spektrale Dynamik und photophysikalische Charakterisierung von  
einzelnen Molekülen:

Konjugierte Polymere, Nanographene und Chlorophylle

---

---

Stefan Thoms

Dissertation

---

---

2019



**Spektrale Dynamik und photophysikalische  
Charakterisierung von einzelnen Molekülen:  
Konjugierte Polymere, Nanographene und Chlorophylle**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)**

am Fachbereich Chemie, Pharmazie,  
Geographie und Geowissenschaften  
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

vorgelegt von

**Stefan Thoms**

geboren in Hamburg

23. Januar 2020, Mainz

1. Berichtstatter:

2. Berichtstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Januar 2020





---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Theoretische Grundlagen</b>	<b>7</b>
2.1	Photophysik eines Farbstoffmoleküls . . . . .	7
2.1.1	Photophysikalische Prozesse . . . . .	7
2.1.2	Einzelphotonenemission im 3-Niveau-System . . . . .	12
2.2	Wechselwirkung zwischen Farbstoffmolekülen . . . . .	17
2.2.1	Inkohärenter Energietransfer . . . . .	17
2.2.2	Kohärente Kopplung . . . . .	19
2.3	Grundlagen zur konfokalen Einzelmolekülmikroskopie . . . . .	21
2.3.1	Konfokales Prinzip . . . . .	22
2.3.2	Geometrische Detektionseffizienz . . . . .	24
<b>3</b>	<b>Experimentelle Aufbauten und Methoden</b>	<b>25</b>
3.1	Ensemblespektroskopie . . . . .	25
3.2	Experimentelle Aufbauten der konfokalen Mikroskopie . . . . .	26
3.2.1	Anregungslaser . . . . .	26
3.2.2	Konfokale Mikroskopie . . . . .	28
3.2.3	Kryostat . . . . .	32
3.2.4	Filterkonfigurationen für die Messungen . . . . .	33
3.3	Experimentelle Durchführung & Auswertemethoden . . . . .	34
3.3.1	Allgemeine Informationen zur experimentellen Durchführung . . . . .	34
3.3.2	Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute . . . . .	39
3.3.3	Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer . . . . .	39
3.3.4	Berechnung der Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ . . . . .	40
3.3.5	Charakterisierung photophysikalischer Prozesse . . . . .	41
<b>4</b>	<b>Probensysteme und -präparation</b>	<b>49</b>
4.1	LPPentP . . . . .	49
4.2	DBOV-DMEP . . . . .	50
4.3	Chlorophyll <i>a</i> . . . . .	52
4.4	Water-Soluble Chlorophyll Protein (WSCP) . . . . .	55
<b>5</b>	<b>LPPentP</b>	<b>59</b>
5.1	Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble . . . . .	60
5.2	Einzelmolekülspektroskopie an LPPentP . . . . .	61
5.2.1	Klassifizierung der Spektrentypen . . . . .	61
5.2.2	Untersuchungen bei Raumtemperatur . . . . .	63

5.2.3	Untersuchungen zur Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer . . . .	71
5.2.4	Messungen bei tiefen Temperaturen . . . . .	73
5.2.5	Untersuchungen mit dem AFM . . . . .	78
5.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	81
<b>6</b>	<b>DBOV-DMEP</b>	<b>89</b>
6.1	Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble . . . . .	89
6.2	Einzelmolekülspektroskopie an DBOV-DMEP . . . . .	91
6.2.1	Spektrale Charakterisierung . . . . .	91
6.2.2	Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei Raumtemperatur .	94
6.2.3	Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei 4.5 K . . . . .	97
6.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	103
<b>7</b>	<b>Chlorophyll <i>a</i></b>	<b>107</b>
7.1	Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble . . . . .	107
7.1.1	Fluoreszenzlebensdauer . . . . .	110
7.1.2	Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute $Y_f$ . . . . .	111
7.2	Einzelmolekülspektroskopie an Chl <i>a</i> . . . . .	112
7.2.1	Photostabilität . . . . .	112
7.2.2	Spektrale Charakterisierung und Fluoreszenzlebensdauer . . . . .	114
7.2.3	Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei 4.5 K . . . . .	117
7.2.4	Anregungsspektren . . . . .	121
7.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	122
<b>8</b>	<b>Water-Soluble Chlorophyll Protein (WSCP)</b>	<b>135</b>
8.1	Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble . . . . .	135
8.2	Einzelmolekülspektroskopie an WSCP . . . . .	139
8.2.1	Untersuchungen bei Raumtemperatur . . . . .	140
8.2.2	Untersuchungen bei tiefen Temperaturen . . . . .	146
8.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	151
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>157</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>163</b>
<b>A</b>	<b>Anhang</b>	<b>179</b>







---

# 1 Einleitung

Vor wenigen Jahrzehnten galt es noch als visionär Materie auf atomarer oder molekularer Ebene sichtbar zu machen, zu untersuchen oder gar manipulieren zu können. 1982 gelang es G. Binnig mit der Entwicklung der Rastertunnelmikroskopie (STM) [1] die Tür zur Abbildung einzelner Atome auf Oberflächen aufzustoßen. 1986 folgte darauf ebenfalls von G. Binnig die Vorstellung der Rasterkraftmikroskopie (AFM) [2].

Die ersten Versuche von optischen Untersuchungen einzelner Quantensysteme sind an ionisierten Atomen in der Gasphase unternommen worden [3–5]. Etwas später folgte dann der Durchbruch der spektroskopischen Einzelmoleküldetektion. W. E. Moerner und L. Kador gelang es 1989 das Absorptionssignal eines einzelnen Pentacen-Moleküls, eingebettet in einem *p*-Terphenyl-Kristall, bei tiefen Temperaturen (1.6 K) zu detektieren [6–8]. Die Methode beruhte auf einer Frequenz/ Stark - Doppelmodulationstechnik und gestaltete sich experimentell äußerst aufwendig. M. Orrit und J. Bernard gelang es wenig später am gleichen Probensystem, über den methodisch einfacheren Ansatz der Anregungsspektroskopie, die Fluoreszenz einzelner Moleküle zu detektieren [9, 10]. Beide Experimente wurden realisiert durch das Verwenden eines schmalbandigen Anregungslasers und das Ausnutzen der bei tiefen Temperaturen ebenfalls sehr schmalen elektronischen Übergänge (Nullphononlinie) von Chromophoren. Durch eine inhomogene Verteilung der Übergangsfrequenzen sind diese voneinander separiert und die Adressierung eines einzelnen Moleküls über spektrale Selektion realisierbar. Diese Methodik ist allerdings nur bei kryogenen Temperaturen durch die Kühlung mit flüssigem Helium anwendbar. Bei höheren Temperaturen verhindert das Überlappen der thermisch verbreiterten Absorptionsspektren eine isolierte Anregung der einzelnen Moleküle.

Mit der Einzelmolekülspektroskopie gelang es nun charakteristische Phänomene von Einzelphotonenemittern nachzuweisen. Dazu zählen das *anti-bunching* [11] von Photonen sowie das Beobachten von Quantensprüngen zwischen Singulett- und Triplettzustand [12], welches auf längeren Zeitskalen wiederum zu einem *bunching* der Photonen führt [13].

Die erste Beobachtung von Fluoreszenz eines einzelnen Moleküls bei Raumtemperatur machten schließlich Brooks et al. 1990 zunächst in Lösung [14], bevor es E. Betzig und J. Chichester 1993 gelang einzelne, räumlich isolierte und immobilisierte Moleküle bei Raumtemperatur mit

Hilfe der Nahfeldmikroskopie abzubilden [15]. Diesem methodischen Ansatz folgte eine Entwicklung hin zur konfokalen Mikroskopie. Diese verschaffte dem Forschungsfeld einen vergleichsweise einfachen experimentellen Zugang und hat heute einen sehr großen Stellenwert in der Einzelmolekülspektroskopie, wie zahlreiche Veröffentlichungen, Artikel und Bücher belegen [16–25]. Sowohl in der Physik und Chemie als auch in der Biologie stellt die Einzelmolekülspektroskopie heute eine etablierte und wichtige Analysemethode dar.

Die Spektroskopie eröffnet den Zugang zu photophysikalischen und quantenmechanischen Eigenschaften von Systemen, die mit elektromagnetischer Strahlung wechselwirken. Die Fähigkeit, einzelne Emittier isoliert beobachten zu können, bietet die Möglichkeit deren charakteristische Eigenschaften zu bestimmen ohne, dass über eine große Anzahl von Emittieren gemittelt wird und sich verschiedene Effekte überlagern können. Hierdurch wird auflösbar, ob sich einzelne Parameter über die Zeit ändern, ob unterschiedliche Eigenschaften sich aufeinander auswirken und inwiefern sie miteinander korrelieren.

Ein messtechnisch limitierender Faktor der Einzelmolekülspektroskopie ist die geringe Emissionsrate der Fluoreszenz, sowie eine endliche Anzahl an emittierten Photonen. Sowohl Absorption als auch Fluoreszenz eines einzelnen Moleküls sind inhärent gering. Zudem tritt je nach untersuchtem Emittier nach einer gewissen Messdauer in der Regel ein Photobleichen des Moleküls auf [26–32]. Eine Möglichkeit die Ausbeute an Photonen eines einzelnen Emittiers zu erhöhen, besteht in der Verringerung der Temperatur. Das Abkühlen bewirkt typischerweise eine deutliche Erhöhung der Photostabilität und eröffnet die Möglichkeit Fluoreszenz über einen längeren Zeitraum zu messen. Hierdurch kann eine größere Anzahl an emittierten Photonen detektiert werden. Eine Ursache hierfür ist, dass Messungen bei tiefen Temperaturen es bedingen vorab Sauerstoff und andere Gase (deren Sublimations- oder Siedetemperaturen unterhalb der Messtemperatur liegen) aus dem Probenraum zu entfernen, da diese ansonsten während des Abkühlens kondensieren, erstarren oder resublimieren und somit optische Messungen behindern würden. Die erhöhte Photostabilität stellt einen ausschlaggebenden Grund dar, weshalb in dieser Arbeit ein großer Teil der Untersuchungen bei tiefen Temperaturen durchgeführt wurden. Zudem sind dadurch erst bestimmte Informationen zugänglich, wie z.B. die Untersuchung von thermisch aktivierten Prozessen oder das Auflösen von Schwingungsstrukturen.

Wie zuvor bereits anhand von Beispielen benannt, weist ein Einzelphotonenemitter charakteristische Eigenschaften auf (*anti-bunching*, Quantensprünge, *bunching*). Hieraus resultieren Fluktuationen der Fluoreszenzintensität, die gut über die Fluoreszenzintensitäts - Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  veranschaulicht und analysiert werden können. Darüber ist es möglich, Zugang zu Übergangsraten zwischen den einzelnen Energieniveaus innerhalb dieses Systems

zu erhalten, welche im Ensemble nicht oder nur schwer zugänglich sind. Dies wurde in der Literatur bereits häufig für die Bestimmung der *intersystem crossing* - Rate ( $k_{ISC}$ ) oder der Tripletrate ( $k_T$ ) genutzt und gezeigt [13, 33–36]. Auch in Teilen dieser Arbeit wurde die Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$  genutzt, um unter anderem  $k_{ISC}$  und  $k_T$  zu bestimmen. Zudem wurde simultan die Emissionsrate der Fluoreszenz ermittelt und beschrieben, um hierüber Zugang zu weiteren photophysikalischen Größen, wie der inneren Konversionsrate ( $k_{IC}$ ), zu erhalten.

Des Weiteren können über spektroskopische Eigenschaften - beispielsweise die Emissionswellenlänge oder Fluoreszenzlebensdauer und deren Verteilungen - Informationen über den Zustand eines Farbstoffs und über dessen Homogenität der Umgebung gewonnen werden. Einzelne Moleküle sind teilweise sehr sensitiv auf die lokale Umgebung und können somit als Sonden eingesetzt werden. So ist es möglich über die Dynamik der Fluoreszenz Rückschlüsse auf veränderliche Wechselwirkungen mit der Umgebung oder auf geometrische Veränderungen, wie z.B. Konformationsänderungen, ziehen zu können. Eine solche Methodik wird häufig in der Biologie eingesetzt, beispielsweise zur Detektion von Konformationsänderungen fluoreszenzmarkierter Enzyme [37–41]. Ebenfalls wird die Emission von fluoreszierenden Polymeren beziehungsweise deren spektrale Dynamik investigativ bezüglich Konformationsdynamiken, Aggregatbildung oder chemischen Veränderungen eingesetzt [42–48].

Die Gliederung der vorliegenden Arbeit ist so gestaltet, dass im folgenden Kapitel zunächst einige theoretische Grundlagen vorgestellt werden, die für das Verständnis dieser Arbeit dienlich sind. Anschließend folgt ein Kapitel, welches die verwendeten experimentellen Aufbauten und Methoden beschreibt und ein weiteres, welches Informationen über die vier untersuchten organischen Emitter und deren Probenpräparation enthält. Die organischen Emitter bestehen aus einem konjugierten leiterartig verknüpften Polymer (*laddertype*) Poly(pentaphenylen) (LPPentP), einem polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoff Dibenzo[*hi,st*]ovalen mit zwei Dimethylphenyl Seitengruppen (DBOV - DMEP), der einen Graphenausschnitt darstellt, dem natürlichen Farbstoff Chlorophyll *a* (Chl *a*) und einem wasserlöslichen Chlorophyll bindenden Protein (*water-soluble chlorophyll protein*, WSCP), welches vier Chl *a* - Moleküle beinhaltet. Die experimentellen Ergebnisse sind in weitere vier Kapitel unterteilt, von denen jedes inhaltlich jeweils eines der vier organischen Emitter behandelt. Der Aufbau dieser vier Kapitel ist jeweils so gestaltet, dass zu Beginn stets eine Charakterisierung des organischen Emitters in Lösung stattfindet, meist gefolgt von einer kurzen Einordnung in die aktuellen Erkenntnisse der Literatur. Anschließend erfolgt die Darstellung zu den Untersuchungen an einzelnen Molekülen. Eine Diskussion der Ergebnisse, die sich vorrangig an den Resultaten der Einzelmolekülspektroskopie orientiert, schließt das jeweilige Kapitel ab.

Am Ende dieser Arbeit erfolgt in einem weiteren Kapitel eine Zusammenfassung, in welcher Ergebnisse und Erkenntnisse der gesamten Arbeit übersichtlich zusammengetragen sind.

Nachfolgend eine kurze Einführung bezüglich der vier behandelten organischen Emitter sowie eine Darstellung der jeweiligen Thematik, Motivation beziehungsweise Fragestellung in dieser Arbeit.

Zunächst werden Untersuchungen zum Fluoreszenzverhalten von **LPPentP** [49] vorgestellt, welches von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Müllen des Max - Planck - Instituts für Polymerforschung (Mainz) zur Verfügung gestellt wurde. Es zählt zu einer Gruppe von Polyphenylenen mit guten Halbleiter - Eigenschaften sowie einer starken blauen Emission und gilt daher als potentieller Kandidat für den Einsatz in organischen Leuchtdioden (*organic light emitting diode*; OLED). Unter Einfluss von Hitze oder Beleuchtung zeigen diese Polymere häufig eine unerwünschte, zu niedrigen Energien verschobene Emissionsbande (*“green emission”*), deren Ursprung in der Literatur kontrovers diskutiert wird und nicht abschließend geklärt ist [44, 45, 50–59]. Zu den prominentesten Erklärungsmodellen zählen Photooxidation (insbesondere Keto - Defekte) und inter - / intramolekulare Aggregation, die zu einer Bildung von Excimeren führen könnte. Die daraus resultierenden spektralen Verschiebungen zeigen dabei, unabhängig von der exakten chemischen Struktur des Polymers, oftmals identische Intensitätsverläufe [44, 45, 48].

In dieser Arbeit lag mit LPPentP ein Polymer mit vergleichsweise hoher Steifigkeit vor, wodurch Konformationsänderungen gegenüber minder steifen Systemen weniger begünstigt sein sollten. Es wurden die spektralen Veränderungen und Verschiebungen der Fluoreszenz von einzelnen Polymeren auf der Zeitskala von Sekunden analysiert. Die dabei gemessenen charakteristischen Spektren wurden in Klassen eingeordnet und das Sprungverhalten studiert. Dies geschah bei Raumtemperatur in einer Messreihe mit variierten Umgebungen: In einer Polymermatrix und auf Glas, jeweils in einer sauerstoffarmen Argonatmosphäre und unter Luft. Anhand dieser Variation der Messbedingungen sollte untersucht werden, ob hieraus Unterschiede bezüglich der spektralen Sprünge resultieren, mit dem Ziel Rückschlüsse auf den Ursprung der spektralen Veränderungen ziehen zu können. Diese Untersuchung des spektralen und zeitlichen Sprungverhaltens wurde dann ergänzend bei niedrigeren Temperaturen im Kryostaten durchgeführt, um weitere Erkenntnisse bezüglich eines etwaigen thermisch - aktivierten Verhaltens gewinnen zu können. Zudem wurden durch Untersuchungen mit einem *atomic force microscope* (AFM) Informationen über die geometrische Struktur der LPPentP - Moleküle gewonnen.

Im folgenden Kapitel werden Untersuchungen an dem Farbstoff **DBOV - DMEP** vorgestellt, welcher ebenfalls von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Müllen zur Verfügung gestellt wurde. Dabei handelt es sich um eine Spezies einer aktuell interessanten Klasse von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen, die auch 'Nanographene' genannt werden. DBOV(-

DMEP) zeichnet sich durch eine hohe Photo - als auch thermische Stabilität aus, bei zugleich hoher Fluoreszenzintensität und Fluoreszenzquantenausbeute [60–63]. Aufgrund der genannten optischen Eigenschaften stellt DBOV - DMEP einen interessanten Einzelphotonenemitter dar, der insbesondere für den Bereich der zukünftigen Optoelektronik attraktiv werden könnte. Er ist zudem gut geeignet, um umfassende Analysen an einzelnen Molekülen durchzuführen, wie anregungsleistungsabhängige Studien, bei denen eine hinreichende Photostabilität notwendig ist. Über die Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion erfolgte eine umfassende Charakterisierung der photophysikalischen Eigenschaften, sowohl bei Raumtemperatur als auch bei tiefer Temperatur (4.5 K) und hierüber eine Bestimmung aller photophysikalischen Übergangsraten des Moleküls. Charakteristische Phänomene, wie das *anti - bunching* sowie *bunching* von Photonen, wurden ebenfalls beobachtet und analysiert.

Die weiteren zwei Kapitel der experimentellen Ergebnisse handeln von Untersuchungen des Farbstoffs **Chl *a***. Zunächst werden Ergebnisse zu einzelnen Chl *a* - Molekülen dargestellt. Darauf folgt ein Kapitel, welches von dem wasserlöslichen Chlorophyll bindenden Protein **WSCP** handelt. Sowohl die einzelnen Chlorophyllmoleküle als auch das rekombinante WSCP sind von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. H. Paulsen vom Institut für Molekulare Physiologie der Universität Mainz gewonnen bzw. hergestellt und zur Verfügung gestellt worden.

Im Falle von Chl *a* wurde eine spektrale Charakterisierung der Fluoreszenz von Einzelmolekülen vorgenommen. Nach aktuellem Kenntnisstand ist keine Veröffentlichung bekannt, in welcher Einzelmolekülspektren von Chl *a* gezeigt sind. Dies ist überraschend, da es sich bei Chlorophyll um ein sehr prominentes Molekül von großer Bedeutung in der Natur handelt, das bereits seit Jahrzehnten untersucht wird. Daher sind grundlegende, photophysikalische Größen und Eigenschaften von besonderem Interesse für das Verständnis der Funktionsweise von in der Natur vorkommenden komplexen Proteinen, die Chlorophylle beinhalten (beispielsweise Lichtsammelkomplexe; engl.: *light - harvesting complex*, LHC). Einzelmoleküluntersuchungen an derartigen komplexen Proteinstrukturen sind der Literatur bereits zu entnehmen [64–68]. Diese Strukturen beinhalten allerdings meist eine hohe Anzahl an interagierenden und gekoppelten Farbstoffmolekülen (LHC: 42 Chlorophylle und 12 Carotinoide) und stellen somit ein kleines Ensemble an beteiligten Fluoreszenzemittern dar.

Neben der genannten spektralen Charakterisierung von Chl *a*, werden zudem zeitaufgelöste Messungen und Untersuchungen zur Photostabilität vorgestellt. Außerdem fand, analog zu den Studien an DBOV - DMEP zuvor, eine umfassende Analyse der photophysikalischen Eigenschaften mittels einer anregungsleistungsabhängigen Beschreibung der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  statt. Im starken Kontrast zu DBOV - DMEP, zeigte sich Chl *a* (in isolierter Form) allerdings äußerst anfällig gegenüber Photooxidation und die photophysikalischen Eigenschaften der Einzelmoleküle heterogen. Daher erfolgte diese Analyse ausschließlich bei

tiefen Temperaturen (4.5 K).

Darauf folgend werden Ergebnisse von Untersuchungen an dem bereits genannten WSCP vorgestellt. Alle Experimente wurden an einem Typus aus *Lepidium virginicum* (LvWSCP) der Klasse II durchgeführt, der rekombinant hergestellt wurde und vier Chl *a* - Moleküle in paarweise angeordneten Dimeren enthält. Die Funktion von WSCPs in der Natur ist zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht abschließend geklärt. Bereits bekannt ist, dass sie eine besondere Stabilität betreffend ihres Denaturierungsverhaltens aufweisen [69–72]. Dies gilt sowohl gegenüber extremen pH - Werten als auch gegenüber hohen Temperaturen (100 °C), was WSCP zu einem interessanten System aktueller Forschung macht. Aufgrund der geringen Anzahl an gebundenen und miteinander gekoppelten Chlorophyllen stellt WSCP zudem ein ideales Modellsystem für das Studium von interagierenden Chlorophyllen dar.

Es wird gezeigt, dass es im Rahmen dieser Arbeit gelang, Spektroskopie an einzelnen WSCP - Molekülen WSCP auf Glas sowohl bei Raumtemperatur als auch bei tiefen Temperaturen (4.5K) durchzuführen. Nach aktuellem Kenntnisstand existieren dazu bisher ebenfalls keine vergleichbaren Ergebnisse in der Literatur. Es werden, neben einigen allgemeinen spektralen Typisierungen, erneut Ergebnisse zur Analyse der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  gezeigt und darüber u.a. die Übergangsraten  $k_{ISC}$  und  $k_T$  ermittelt. Auch hier war es, aufgrund mangelnder Photostabilität, nur bei 4.5 K möglich eine leistungsabhängige Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion vorzunehmen. So konnte bei Raumtemperatur nur eine Abschätzung der beiden Parameter ( $k_{ISC}$  und  $k_T$ ) erfolgen.

Es wird zusätzlich eine zeitaufgelöste und temperaturabhängige Untersuchung (180 K - 4.5 K) von einzelnen WSCP - Molekülen in einer Glycerinlösung vorgestellt. In einer nachfolgenden Diskussion wird anhand der Ergebnisse unter anderem der H - artige Charakter der eingebetteten Chlorophylldimerere besprochen.



---

## 2 Theoretische Grundlagen

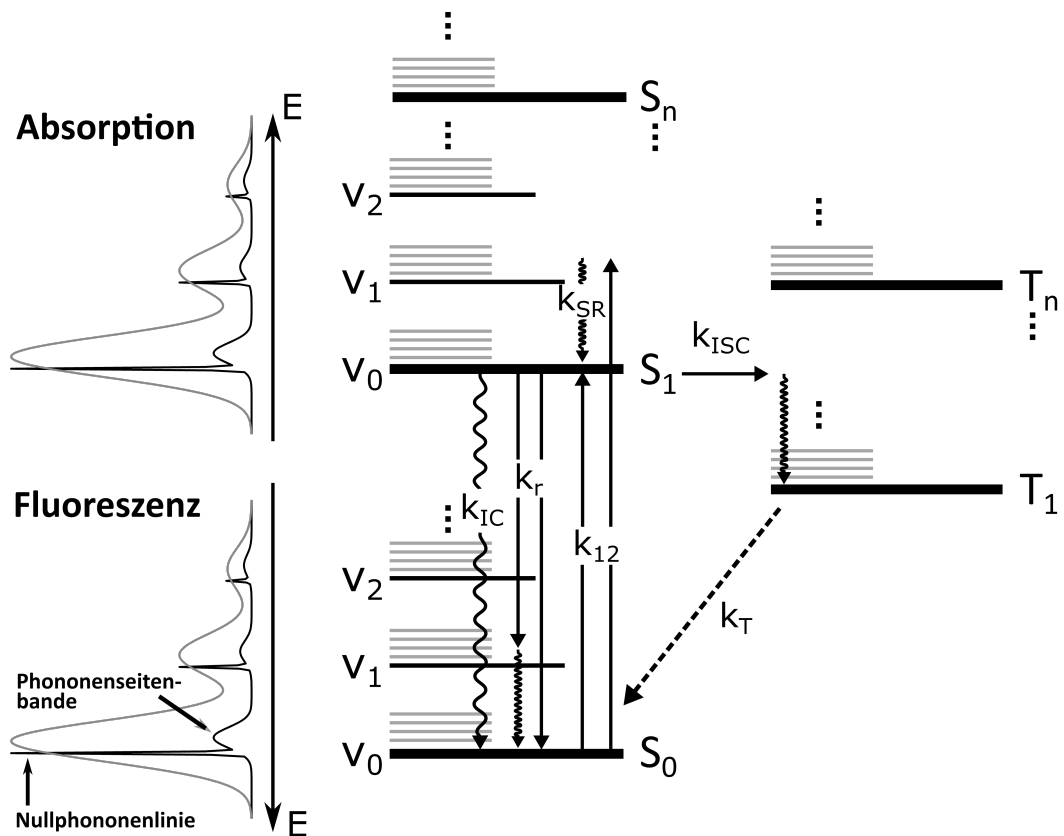
In diesem Kapitel sollen einige theoretische Grundlagen vorgestellt werden, die zum Verständnis der gezeigten Experimente und Ergebnisse dienen sollen. Dabei liegt der Fokus auf der Wechselwirkung von elektromagnetischer Strahlung und einzelnen Farbstoffmolekülen. Es werden Modelle vorgestellt, mit Hilfe derer die Fluoreszenzemission sowohl energetisch als auch in ihrer Dynamik beschrieben werden kann. So wird u.a. erläutert, wie sich energetisch die Niveaus von kohärent gekoppelten Farbstoffmolekülen gegenüber einem Monomer entwickeln. Abschließend folgt ein kurzer theoretischer Unterbau zur konfokalen Mikroskopie.

### 2.1 Photophysik eines Farbstoffmoleküls

Vieles von der im Anschluss vorgestellten Theorie zählt zu lang bekannten und allgemeinen Grundlagen der elektronischen Spektroskopie von Molekülen und ist ausreichend im Detail in einschlägiger Literatur beschrieben (beispielsweise [73–77]). Daher soll hier nur ein knapper Überblick über die photophysikalischen Prozesse zwischen den elektronischen Niveaus eines Moleküls erfolgen, für weitere Details sei auf die Standardliteratur verwiesen.

#### 2.1.1 Photophysikalische Prozesse

Die wesentlichen Übergänge, die in einem Farbstoffmolekül stattfinden, können anhand eines Jablonski - Diagramms dargestellt werden. In Abbildung 2.1 ist ein Ausschnitt eines solchen abgebildet. Es zeigt auf der Ordinate die energetischen Lagen der elektronischen Niveaus von Singulett - ( $S_0, S_1, S_n$ ) und Triplett - ( $T_1, T_n$ ) Zuständen sowie einige dazugehörige Schwingungsniveaus ( $\nu_i$ ), deren energetische Abstände hier in Näherung äquidistant abgebildet sind. Ebenfalls angedeutet sind Gitterschwingungen (Phononen) einer umgebenden Gastmatrix (in grau), die an die vibronischen Zuständen des Farbstoffmoleküls ankoppeln können.



**Abbildung 2.1:** Jablonski-Diagramm eines typischen Farbstoffmoleküls mit den möglichen Übergangsraten  $k_i$  zwischen den gezeigten Energieniveaus und beispielhaften Fluoreszenz- und Absorptionsspektren. Weitere Erläuterungen im Text. Nach [78]

Die unterschiedlichen Pfeile stehen für mögliche Übergänge zwischen den Niveaus mit den dazugehörigen Übergangsraten  $k_i$ . In der optischen Spektroskopie (an organischen Farbstoffmolekülen) ist häufig eine ausreichende Beschreibung aller vorkommenden Übergänge durch ein 3-Niveau-System gegeben, bestehend aus  $S_0$ ,  $S_1$  und  $T_1$ . Auf die energetisch höher liegenden Niveaus  $S_n$  und  $T_n$  wird daher nicht weiter eingegangen.

Bei Raumtemperatur wird meist näherungsweise davon ausgegangen, dass sich ein Farbstoffmolekül ohne äußere Störung aufgrund der geringen thermischen Energie ( $kT \approx 25 \text{ meV} / 200 \text{ cm}^{-1}$ ) im Schwingungsgrundzustand  $\nu_0$  des elektronischen Grundzustands  $S_0$  ( $S_{0,0}$ ) befindet. Niederfrequente Schwingungsmoden können zwar besetzt sein, viele Moden befinden sich allerdings in einem Bereich zwischen  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$  und sind demnach in der Regel nicht besetzt. Durch die Einstrahlung von Licht mit ausreichender bzw. passender Energie, kann die Absorption eines Photons zur Anregung in einen höheren elektronischen Zustand führen. Der Übergang ist hier mit  $k_{12}$  gekennzeichnet. Die Länge des Pfeils von  $k_{12}$  steht für die Energie eines Photons  $E_{\text{ph}} = h\nu_{\text{exc}}$  und bestimmt in welches vibronische Niveau angeregt

wird ( $h$ : Plancksches Wirkungsquantum,  $\nu_{\text{exc}}$ : Frequenz des anregenden Photons).

In Abbildung 2.1 sind, links an das Jablonski - Diagramm anschließend, schematisch Absorptionsspektren abgebildet, sowohl für Raumtemperatur (grau) als auch für tiefe Temperaturen (schwarz). Das Fluoreszenzspektrum, das ebenfalls gezeigt ist und auf welches später eingegangen wird, verhält sich analog zu dem Absorptionsspektrum.

Die Übergangsrate  $k_{f \leftarrow i}$ , für einen **Absorptionsübergang** zwischen einem Anfangszustand  $\Psi_i$  und einem Endzustand  $\Psi_f$ , ist im Allgemeinen nach *Fermis Goldener Regel*<sup>a</sup> proportional zu [74, 75, 80]

$$k_{f \leftarrow i} \propto \left| \langle \Psi_f | \vec{E}_{\text{exc}} \cdot \hat{\mu} | \Psi_i \rangle \right|^2 \delta(E_f - E_i + h\tilde{\nu}_{\text{exc}}). \quad (2.1)$$

Dabei steht  $\vec{E}_{\text{exc}}$  für die anregende elektrische Feldstärke und  $\hat{\mu}$  für den elektrischen Dipoloperator. Der Ausdruck [74]

$$\vec{\mu}_{fi} = \langle \Psi_f | \hat{\mu} | \Psi_i \rangle \quad (2.2)$$

wird als Übergangsdipolmoment bezeichnet und ist ein Maß für die Stärke der Wechselwirkung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Farbstoffmolekül.

In der Absorptionsspektroskopie steht der molare dekadische Absorptionskoeffizient  $\varepsilon(\tilde{\nu})$  einer Absorptionsbande, für den Übergang  $\Psi_{f \leftarrow i}$ , direkt in proportionaler Beziehung zum Betragsquadrat des dazugehörigen Absorptions - Übergangsdipolmoments  $|\mu_{fi}|^2$  [74, 81]:

$$\int_{f \leftarrow i} \frac{\varepsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}} d\nu = \frac{1}{3} \frac{\pi N_A}{\varepsilon_0 c \hbar \ln(10)} |\mu_{fi}|^2 \quad (2.3)$$

Das gewichtete Integral auf der linken Seite der Gleichung wird als *integrale Absorption* bezeichnet. Auf der rechten Seite stehen als Proportionalitätsfaktoren fast ausschließlich Naturkonstanten ( $N_A$ : Avogadro -Konstante,  $\varepsilon_0$ : Dielektrizitätskonstante des Vakuums,  $c$ : Lichtgeschwindigkeit,  $\hbar$ : Reduziertes Plancksches Wirkungsquantum). Der Faktor 1/3 stellt einen Korrekturfaktor da und entstammt der Annahme, dass ein Ensemble mit isotrop orientierten Übergangsdipolmomenten vorliegt (z.B. in Lösung).

Das in Gleichung 2.3 angegebene  $|\mu_{fi}|^2$  gibt die Stärke einer gesamten Absorptionsbande an. Um einen Ausdruck für die Wahrscheinlichkeiten eines einzelnen vibronischen Übergangs

---

<sup>a</sup>Theoretische Vorhersage für Übergänge eines quantenmechanischen Systems unter dem Einfluss einer Störung [79].

zu erhalten, kann mit Hilfe der *Franck-Condon-Näherung*<sup>b</sup> (analog zur *Born-Oppenheimer-Näherung*) eine Separation des elektronischen ( $e$ ) und vibratorischen ( $v$ ) Übergangsdipolmoments vorgenommen werden. Demnach ändert sich Gleichung 2.3 zu [81]

$$\int_{e'v' \leftarrow ev} \frac{\varepsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu} = \frac{1}{3} \frac{\pi N_A}{\varepsilon_0 c \hbar \ln(10)} |\mu_{ee'}|^2 |S_{(ev)(e'v')}|^2, \quad (2.4)$$

wobei  $|\mu_{ee'}|^2$  nun den rein elektronischen Beitrag des Übergangsdipolmoments darstellt und  $|S_{(ev)(e'v')}|^2$  als *Franck-Condon-Faktor* bezeichnet wird. Letzterer steht für das Betragsquadrat des Überlappungsintegral der beteiligten Schwingungswellenfunktionen  $\varphi_{ev}$  [74, 75, 81]:

$$|S_{(ev)(e'v')}|^2 = |\langle \varphi_{e'v'} | \varphi_{ev} \rangle|^2 \quad (2.5)$$

Des Weiteren kann der molare dekadische Absorptionskoeffizient  $\varepsilon(\tilde{\nu})$  über [76]

$$\sigma(\tilde{\nu}) = \frac{1}{N_A \ln(10)} \varepsilon(\tilde{\nu}) \quad (2.6)$$

als molekularer Absorptionsquerschnitt ausgedrückt werden. Aus diesem ergibt sich über

$$k_{12}(\tilde{\nu}_{\text{exc}}) = \sigma(\tilde{\nu}_{\text{exc}}) \frac{I_{\text{exc}}}{h\tilde{\nu}_{\text{exc}}} \quad (2.7)$$

die **Anregungsrate**  $k_{12}$ , bei der Anregungsenergie  $h\tilde{\nu}_{\text{exc}}$  und Anregungsintensität  $I_{\text{exc}}$ . Die Dauer eines Anregungsprozesses liegt im Bereich von einigen Femtosekunden.

Sofern die Anregung nicht in den vibratorischen Grundzustand des angeregten elektronischen Zustands stattfindet, folgt ihr innerhalb von etwa Pikosekunden eine **Schwingungsrelaxation** ( $k_{\text{SR}}$ ) in den Schwingungsgrundzustand  $S_{1,0}$ . Dieser Zustand hat in Farbstoffmolekülen eine typische Lebensdauer von einigen Nanosekunden. In der Regel stehen sich nun drei konkurrierende Prozesse gegenüber. Zum einen kann **intersystem crossing** ( $k_{\text{ISC}}$ ) stattfinden. Dabei handelt es sich um einen isoenergetischen Übergang in den Triplettzustand, der aufgrund der einhergehenden Änderung des Spins eigentlich verboten ist. Durch Spin-Bahn-Kopplung kann dieser allerdings mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit dennoch auftreten. Gleiches gilt für die Rückkehr in den Singulettzustand, weshalb die Lebensdauer des  $T_1$ -Zustands typischerweise vergleichsweise lang ist ( $\mu\text{s}$  bis  $\text{s}$ ). Diese Übergänge in den Singulettzustand ( $k_{\text{T}}$ ) finden dann entweder strahlungslos oder unter Emission eines Photons statt (Phosphoreszenz).

Neben dem *intersystem crossing* kann aus dem angeregten Singulettzustand  $S_{1,0}$  auch **innere Konversion** ( $k_{\text{IC}}$ ) stattfinden. Dabei handelt es sich ebenfalls um einen isoenergetischen Über-

<sup>b</sup>Beruhet auf der Annahme, dass sich aufgrund der unterschiedlichen Massen von Elektronen und Kernen der elektronische Übergang so schnell vollzieht, dass sich der Zustand der Kerne für diesen Zeitraum nicht ändert.

gang von  $S_{1,0}$  in einen höheren vibratorischen Zustand des elektronischen Grundzustands  $S_{0,v}$ , auf welchen Schwingungsrelaxation in  $S_{0,0}$  folgt (in Schema zu einem Pfeil zusammengefasst). Der Übergang ist daher strahlungslos und die gesamte Energie geht in Schwingungsenergie über.

Die Wahrscheinlichkeit der inneren Konversion  $k_{IC}$  ist in der Regel deutlich kleiner als der dritte in Konkurrenz stehende Prozess: Die **strahlende Rate** ( $k_r$ ). Bei dieser findet die Rückkehr in den elektronischen Grundzustand ( $S_{0,v \leftarrow 1,0}$ ) unter Emission eines Photons statt (**Fluoreszenz**). Diese kann, analog zur Absorption, ebenfalls unter Beteiligung von vibratorischen oder phononischen Moden des Moleküls bzw. einer Gastmatrix stattfinden. Die Bezeichnung und Bedeutung aller photophysikalischen Prozesse / Übergangsraten, die in dieser Arbeit genannt werden, sind übersichtlich in einer Tabelle im Anhang zusammengetragen (siehe Tabelle A.1). Auf der linken Seite von Abbildung 2.1 sind, analog zur Absorption zuvor, schematisch Fluoreszenzspektren gezeigt. Bei Raumtemperatur (grau) sind die Hauptbanden thermisch stark verbreitert. Bei tiefen Temperaturen ist dagegen diese Verbreiterung stark reduziert und schmalbandige Schwingungsniveaus sind detektierbar. Der schmale, dominante Peak der Emission (Absorption) bei höchstmöglicher (niedrigstmöglicher) Energie, kennzeichnet die Emission (Absorption) ohne Beteiligung von Phononen und wird *Nullphononenlinie* genannt (engl: *zero-phonon line*, ZPL). Sich dem anschließend folgt zu niedrigeren (höheren) Energien die Phononenseitenbande (PSB), etwa  $20 - 200 \text{ cm}^{-1}$  neben der ZPL. Deren Ausprägung ist von der Kopplung des Farbstoffmoleküls mit seiner Umgebung abhängig (Elektron - Phonon - Kopplung).

#### Fluoreszenz

Die Dauer, mit welcher ein Molekül sich im angeregten  $S_1$  -Zustand befindet, wird als **Fluoreszenzlebensdauer**  $\tau_f$  bezeichnet. Diese entspricht experimentell dem Zeitraum, in dem spontan emittierte Photonen nach strahlendem Übergang ( $k_r$ ) detektiert werden können. Sie wird beschrieben durch den Kehrwert der Summe aller Raten, die den  $S_1$  -Zustand depopulieren. Im gezeigten Schema aus Abbildung 2.1 ergibt sich demnach für  $\tau_f$ :

$$\frac{1}{\tau_f} = k_f = k_r + k_{ISC} + k_{IC} \quad (2.8)$$

Die Anzahl von detektierbaren Zerfällen (detektierten Photonen) pro Zeiteinheit ist Poisson-verteilt, weshalb in einer zeitaufgelösten Detektion die Fluoreszenzintensität einem exponen-

tiellen Abklingverhalten folgt:

$$I_f(t) = I_0 \exp[-t/\tau_f] \quad (2.9)$$

$\tau_f$  stellt dabei die Zerfallskonstante dar.  $I_0$  steht für die Fluoreszenzintensität zum Zeitpunkt  $t = 0$ , direkt nach der Anregung des Systems.

Existieren  $N$  verschiedene Zerfallskomponenten, kann das zeitliche Abklingverhalten der Fluoreszenzintensität durch die Summe von  $N$  Exponentialfunktionen mit unterschiedlichen Amplituden  $A_j$  beschrieben werden:

$$I_f(t) = \sum_{i=1}^N A_i \exp[-t/\tau_{f,i}] \quad (2.10)$$

Das Produkt aus strahlender Rate  $k_r$  und Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  ergibt die **Fluoreszenzquantenausbeute**  $Y_f$  nach

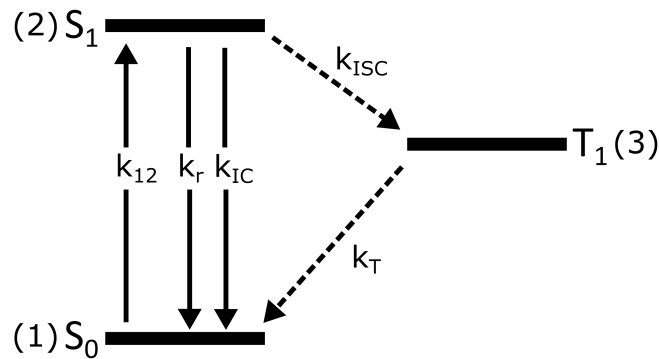
$$Y_f = k_r \cdot \tau_f = \frac{k_r}{k_r + k_{ISC} + k_{IC}} \quad (2.11)$$

und stellt eine wichtige Kenngröße für die Güte eines fluoreszierenden Farbstoffmoleküls dar. Sie gibt an, wie hoch bei einem angeregten Farbstoffmolekül der Anteil der strahlenden Übergänge bezüglich der gesamten depopulierenden Prozesse ist. Analog dazu lässt sich ebenfalls auch eine Quantenausbeute für das *intersystem crossing*  $Y_{ISC}$  ausdrücken:

$$Y_{ISC} = k_{ISC} \cdot \tau_f = \frac{k_{ISC}}{k_r + k_{ISC} + k_{IC}} \quad (2.12)$$

### 2.1.2 Einzelphotonenemission im 3-Niveau-System

Im Folgenden wird die Emission eines Einzelphotonenemitters auf Grundlage eines 3-Niveau-Systems beschrieben, sowohl für den stationären als auch den zeitabhängigen Fall. Die Herleitung stammt dabei hauptsächlich aus [80] und kann dort im Detail nachvollzogen werden. Abbildung 2.2 zeigt ein Jablonski - Diagramm, reduziert auf die drei relevanten elektronischen Niveaus zur Beschreibung der photophysikalischen Prozesse eines typischen Farbstoffmoleküls. Dies sind die Singulettzustände  $S_0$  und  $S_1$  sowie der niederenergetischste Triplettzustand  $T_1$ .  $T_1$  besteht durch die Nullfeldaufspaltung genau genommen aus drei Subniveaus ( $t_x, t_y, t_z$ ). Die Aufspaltung ist allerdings gering, sodass sie hier zunächst vernachlässigt wird. Ebenfalls sind in der reduzierten Darstellung höhere vibronische Zustände und etwaig auftretende Schwingungsrelaxationen ( $k_{SR}$ ) nicht berücksichtigt worden.  $k_{SR}$  findet auf deutlich



**Abbildung 2.2:** Reduziertes Jablonski - Diagramm eines Farbstoffmoleküls mit drei elektronischen Niveaus und die relevanten Übergänge zwischen den Niveaus. Weitere Erläuterungen im Text.

kürzeren Zeitskalen ( $\approx 10^{-12}$  s) statt als die übrigen abgebildeten Übergänge und kann für die Betrachtung der geschwindigkeitsbestimmenden Prozesse vernachlässigt werden. Die Notation der Übergangsraten ist identisch zu der aus Abbildung 2.1.

Alle Beschreibungen die folgen, gehen von einer nicht - resonanten Anregung aus, weshalb auf Effekte durch stimulierte Emission nicht eingegangen werden muss.

### Ratengleichungen

Die einzelnen Besetzungswahrscheinlichkeiten  $p_i$  des in Abbildung 2.2 gezeigten 3-Niveau-Systems können anhand der angegebenen Übergangsraten mithilfe eines gekoppelten Differentialgleichungssystems beschrieben werden:

$$\dot{p}_1 = -k_{12}p_1 + (k_r + k_{IC})p_2 + k_T p_3 \quad (2.13)$$

$$\dot{p}_2 = k_{12}p_1 - (k_r + k_{IC} + k_{ISC})p_2 \quad (2.14)$$

$$\dot{p}_3 = k_{ISC}p_2 - k_T p_3 \quad (2.15)$$

Die Summe aller Besetzungswahrscheinlichkeiten sei dabei normiert mit

$$1 = p_1 + p_2 + p_3. \quad (2.16)$$

### Stationäre Lösung

Zunächst betrachten wir die Gleichungen 2.13 - 2.16 in einem stationären Zustand. Das bedeutet, dass die Besetzungswahrscheinlichkeiten aller Zustände zeitlich konstant sind und dem-

nach  $\forall \dot{p}_i = 0$  gilt. Des Weiteren gilt für die Beschreibung der Emissionsrate  $R'$  (Fluoreszenz) des Systems

$$R' = p_2 k_r, \quad (2.17)$$

da für  $R'$  nur die Besetzungswahrscheinlichkeit des angeregten Singulettzustands und die strahlende Rate ( $k_r$ ) entscheidend sind. Im stationären Zustand lassen sich die Ratengleichungen leicht für  $p_2$  lösen, woraus sich für die Emissionsrate  $R'(I_{\text{exc}})$  ergibt:

$$R'(I_{\text{exc}}) = R_\infty \frac{I_{\text{exc}}/I_S}{1 + I_{\text{exc}}/I_S} \quad (2.18)$$

$R_\infty$  steht für die maximale Emissionsrate, die erreicht wird für eine Anregungsintensität  $I_{\text{exc}} \rightarrow \infty$ .  $I_S$  bezeichnet die Sättigungsintensität, bei der  $R'(I_S) = R_\infty/2$  gilt. Beiden Konstanten liegen die Übergangsraten aus Abbildung 2.2 zugrunde:

$$R_\infty = k_r \frac{k_T}{k_{\text{ISC}} + k_T} \quad (2.19)$$

$$I_S = \frac{(k_r + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}})k_T}{k_{\text{ISC}} + k_T} \frac{h\nu_{\text{Ph}}}{\sigma}. \quad (2.20)$$

Dabei steht  $h\nu_{\text{Ph}}$  für die Energie eines Photons des anregenden Lichts und  $\sigma$  für den Absorptionsquerschnitt bei dieser Energie.

Für die Emissionsrate  $R$ , die experimentell bestimmt wird, muss die Detektionseffizienz  $\eta_{\text{Det}}$  des gesamten Aufbaus berücksichtigt werden. Demzufolge gilt

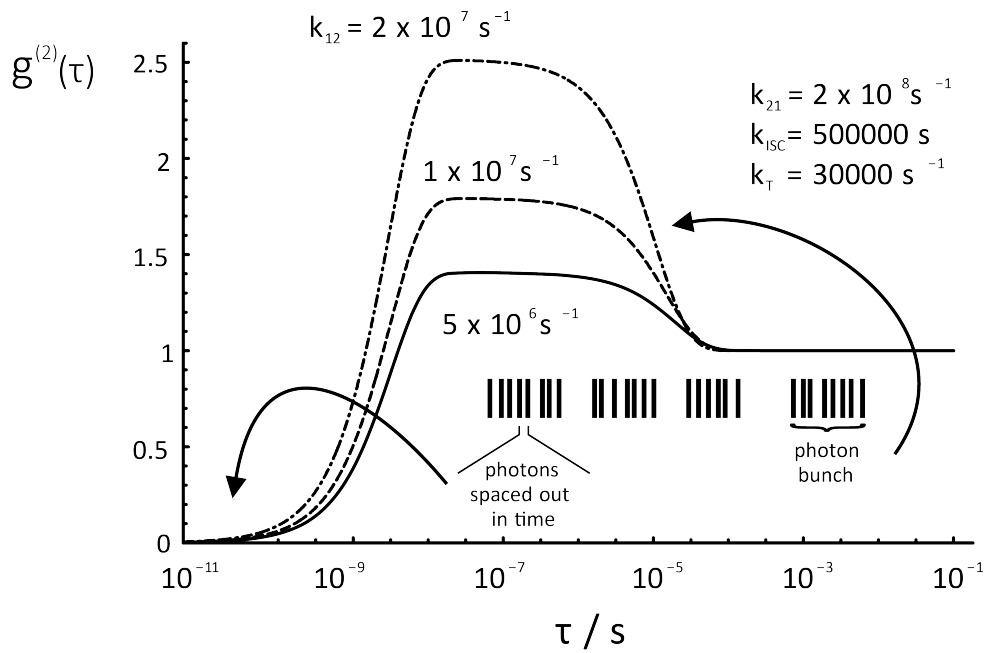
$$R(I_{\text{exc}}) = \eta_{\text{Det}} R'(I_{\text{exc}}). \quad (2.21)$$

### Zeitabhängige Lösung und Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$

Nach der stationären Betrachtung der Emissionsrate  $R$  der Fluoreszenz, soll diese nun auch im zeitlichen Verlauf betrachtet und beschrieben werden. Einzelphotonenemitter sind nicht-klassische Lichtquellen und zeigen charakteristische Fluktuationen in der Fluoreszenzemission. Diese Fluktuationen können erfasst und analysiert werden über die Autokorrelationsfunktion zweiter Ordnung  $g^{(2)}(\tau)$  der Fluoreszenzemission. Diese ist unter Verwendung von Gleichung 2.17 mit der Besetzungswahrscheinlichkeit von  $p_2$  verknüpft:

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} = \frac{p_2(\tau)}{p_2(\tau \rightarrow \infty)} \quad (2.22)$$





**Abbildung 2.3:** Berechnete Autokorrelationsfunktionen einer Einzelphotonenquelle für unterschiedliche Anregungsraten  $k_{12}$ .  $k_{21}$  geht hier als Summe aus  $k_r + k_{IC}$  ein. Modifiziert aus [80].

Allgemein gibt die Funktion an, wie die Wahrscheinlichkeit einer Fluoreszenzintensität  $I^c$  zum Zeitpunkt  $t + \tau$  gegenüber der Intensität  $I$  zum Zeitpunkt  $t$  ist. Das heißt gleichbedeutend, dass  $g^{(2)}(\tau)$  angibt, wie wahrscheinlich es ist zum Zeitpunkt  $t + \tau$  ein Photon zu detektieren, wenn zum Zeitpunkt  $t$  bereits eines detektiert wurde. Der Nenner von Gleichung 2.22 stellt nur einen Normierungsfaktor für die Autokorrelationsfunktion der zweiten Ordnung dar.

Für eine nicht - klassische Lichtquelle ergibt sich, dass  $g^{(2)}(0) = 0$  gelten muss, aufgrund der Normierung aus Gleichung 2.16 und der Annahme, dass sich zum Zeitpunkt  $t = 0$  das System im Grundzustand befindet. Dieses charakteristische Verhalten wird *antibunching* genannt. Des Weiteren spricht man von einem *bunching* - Verhalten, sofern  $g^{(2)}(\tau)$  Werte  $> 1$  annimmt, also für einen gewissen Zeitbereich um  $t + \tau$  eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für das erneute Detektieren eines Photons vorliegt.

Mit Hilfe einer Laplace - Transformation können die Ratengleichungen aus den Gleichungen 2.13 - 2.16 für  $p_2(\tau)$  gelöst werden. Daraus ergibt sich letztendlich als Lösung für die Autokorrelationsfunktion der Ausdruck [80]:

$$g^{(2)}(\tau) = -(1 + C) e^{\lambda_a \tau} + C e^{\lambda_b \tau} + 1. \quad (2.23)$$

Der erste exponentielle Term der Funktion beschreibt das charakteristische *antibunching* -

<sup>c</sup> $I$  steht hier für die Emissionsrate  $R$  der detektierten Photonen  $R_{exp}$  und ist in diesem Fall die gebräuchliche Standardnotation.

Verhalten, der zweite das ebenfalls charakteristische *bunching* - Verhalten eines Einzelphotonenemitters.  $C$  steht für den Kontrast (des *bunchings*) und demnach  $\lambda_a$  &  $\lambda_b$  für die Anstiegszeit bzw. Zerfallszeit von  $g^{(2)}(\tau)$ . Den drei Parameter liegen folgende Beziehungen zu Grunde:

$$\lambda_{a,b} = \frac{1}{2} \left( a + d \mp \sqrt{(a - d)^2 + 4bc} \right) \quad (2.24)$$

$$C = -\lambda_a \frac{1 + \lambda_b/f}{\lambda_a - \lambda_b} \quad (2.25)$$

Die Parameter  $a$ ,  $b$ ,  $c$  und  $d$  können durch die Übergangsraten ausgedrückt werden:

$$a = -(k_{12} + k_T) \quad (2.26)$$

$$b = (k_r + k_{IC} - k_T) \quad (2.27)$$

$$c = k_{12} \quad (2.28)$$

$$d = -(k_r + k_{IC} + k_{ISC}) \quad (2.29)$$

$$f = k_T \quad (2.30)$$

Abbildung 2.3 zeigt den gesamten Verlauf von drei berechneten  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktionen nach Gleichung 2.23 mit variierten Anregungsraten  $k_{12}$ . Die restlichen Übergangsraten sind für alle drei Funktionen identisch und in der Abbildung angegeben. Hier sind schön die charakteristischen Bereiche der Autokorrelationsfunktion zu sehen: Der *antibunching* - Bereich für kleine  $\tau$  sowie der anschließende *bunching* - Bereich mit steigendem Kontrast für höhere Anregungsraten  $k_{12}$  (Anregungsintensitäten  $I_{exc}$ ). Eine schematische Abfolge von zeitlich aufeinanderfolgenden Photonen veranschaulicht das Verhalten eines Einzelphotonenemitters, welches dem Verlauf von  $g^{(2)}(\tau)$  zugrunde liegt: Es kann nur ein Photon zur Zeit  $\tau = 0$  detektiert werden (*antibunching*) und ein Übergang in den langlebigen Triplettzustand ( $T_1$ ; *intersystem crossing*) hat dunkle Phasen ohne emittierte Photonen zur Folge. Die Photonen werden daher in 'Bündeln' mit zwischenzeitigen Dunkelphasen emittiert (*bunching*).

Im Sinne der Vollständigkeit sei noch erwähnt, dass die Parameter  $C$  und  $\lambda_{a,b}$  für viele Einzelphotonenemitter vereinfacht werden können, sofern folgende Bedingungen erfüllt sind:

$$k_{21} \geq k_{12} \gg k_{ISC} \geq k_T$$

---

Ist dies gegeben, so können näherungsweise folgende Ausdrücke mit  $k_{21} = k_r + k_{IC}$  verwendet werden:

$$\lambda_a \cong -(k_{12} + k_{21}) \quad (2.31)$$

$$\lambda_b \cong -\left(k_T + \frac{k_{12}k_{ISC}}{k_{12} + k_{21}}\right) \quad (2.32)$$

$$C \cong \frac{k_{12}k_{ISC}}{k_T(k_{12} + k_{21})} \quad (2.33)$$

In dieser Arbeit ist allerdings unter der Prämisse vorgegangen worden, weitestgehend auf Näherungen dieser Art zu verzichten, da das Erfüllen der Bedingungen teilweise nicht sicher schien.

## 2.2 Wechselwirkung zwischen Farbstoffmolekülen

Da in Teilen dieser Arbeit multichromophore Systeme behandelt werden, soll in dem folgenden Abschnitt die Kopplung und der Energietransfer zwischen Farbstoffmolekülen kurz umrissen werden. Für eine detailliertere Behandlung sei auf die einschlägige Literatur verwiesen (zum Beispiel [73, 82]).

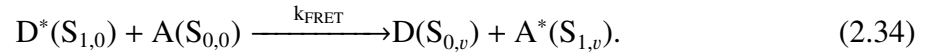
Je nach Art und Stärke der Kopplung kann die Wechselwirkung zwischen Farbstoffmolekülen zu Energietransfer führen und auch einen starken Einfluss auf die spektroskopischen Eigenschaften haben.

### 2.2.1 Inkohärenter Energietransfer

Bei einem inkohärenten Energietransfer liegt eine vergleichsweise schwache Kopplung zwischen Farbstoffmolekülen vor, bei der die elektronische Anregung auf jeweils einem Molekül lokalisiert ist. Die Energie kann allerdings über Energietransfer strahlungslos an einen anderen Farbstoffmolekül abgegeben werden. Zu dem wichtigsten Vertreter zählt der Förster-Resonanzenergietransfer, der eine relativ große Reichweite von 1 - 6 nm besitzt [73, 82]. Für deutlich kleinere Abstände ( $< 5 \text{ \AA}$ ) sei als weitere Form des Energieübertrags der Dexter-Energietransfer erwähnt.

### Förster-Resonanzenergietransfer (FRET)

Im Falle des Förster-Resonanzenergietransfers (FRET, nach Th. Förster [83]) wird in einem nicht-strahlenden Prozess ( $k_{\text{FRET}}$ ) die Energie eines angeregten Farbstoffmoleküls (Donors D) auf ein zweites Farbstoffmolekül (Akzeptor A) durch elektrische Dipol-Dipol-Wechselwirkung übertragen:



In den theoretischen Betrachtungen wird dabei von zwei punktförmigen Dipolmomenten ausgegangen. Durch die schwache Kopplung der beteiligten Farbstoffmoleküle sind die jeweiligen Wellenfunktionen auf Donor und Akzeptor lokalisiert. Die Energietransferrate des Förster-Transfers  $k_{\text{FRET}}$  lässt sich über folgenden Zusammenhang ausdrücken [83]:

$$k_{\text{FRET}} = \frac{1}{\tau_D} \left( \frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (2.35)$$

Die Variable  $\tau_D$  steht für die Fluoreszenzlebensdauer des reinen Donors, also für den Fall, dass kein Akzeptor vorliegt. Die Größe  $R_0$  wird als *Förster-Radius* bezeichnet und steht für den Abstand  $r$  zwischen Donor und Akzeptor, bei dem in 50 % der Fälle ein angeregter Donor seine Energie mittels Energietransfer auf den Akzeptor überträgt. Der *Förster-Radius* lässt sich über folgende Größen beschreiben:

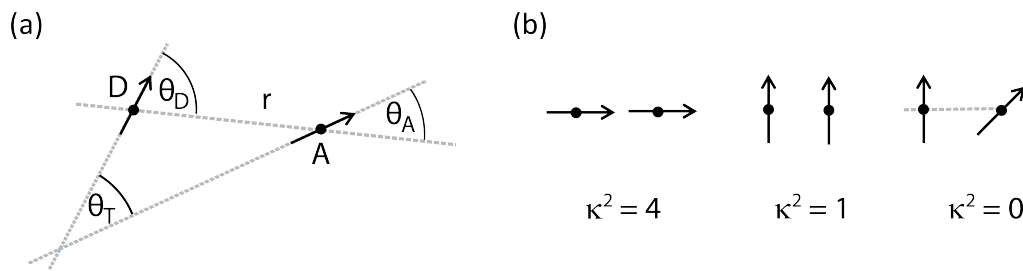
$$R_0 = \left[ \frac{900 \cdot \ln(10)}{128 \cdot \pi^5 \cdot N_A} \cdot \frac{\kappa^2 Y_D}{n^4} \int_0^\infty \frac{\Psi_{\text{norm}}^D \varepsilon_A}{\tilde{\nu}^3 \tilde{\nu}} d\tilde{\nu} \right]^{\frac{1}{6}} \quad (2.36)$$

Er ist demnach abhängig von der Wahl des Lösemittels bzw. dessen Brechungsindex  $n$ , der Quantenausbeute des reinen Donors  $Y_D$  (ohne Akzeptor), einem Orientierungsfaktor  $\kappa^2$  und dem sogenannten Überlappungsintegral (auch häufig mit  $J$  bezeichnet). Dies steht für die Größe des Überlapps des flächennormierten Fluoreszenzspektrums des Donors  $\Psi_{\text{norm}}^D$  mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors  $\varepsilon_A$ .

Der Orientierungsfaktor  $\kappa^2$  ergibt sich aus der relativen Orientierung der Übergangsdipolmomente des Donors  $\vec{\mu}_D$  und des Akzeptors  $\vec{\mu}_A$ . Abbildung 2.4a illustriert beispielhaft einen Fall und kennzeichnet die Winkel, mit denen  $\kappa^2$  nach

$$\kappa^2 = (\cos \theta_T - 3 \cos \theta_D \cos \theta_A)^2 \quad (2.37)$$

ermittelt werden kann. Zudem sind in Abbildung 2.4b Grenzfälle von Orientierungen mit resultierenden Werten für  $\kappa^2$  dargestellt.



**Abbildung 2.4:** (a) Relative Orientierung von einem Übergangsdipolmoment eines Donors (D) und eines Akzeptors (A) im Abstand  $r$ . Ebenfalls angegeben die relativen Winkel zur Berechnung des Orientierungsfaktors  $\kappa^2$  (Gleichung 2.37). (b) Grenzfälle des Orientierungsfaktors  $\kappa^2$ . Modifiziert nach [82].

### Dexter -Energietransfer

Ein weiterer Energietransfer, der für deutlich kleinere Abstände als beim Förster-Transfer relevant wird, stellt der Dexter -Energietransfer dar [84]. Bei diesem findet die Energieübertragung durch den Austausch von Elektronen statt. Die Abhängigkeit für die Übergangsrates ist nach [82]

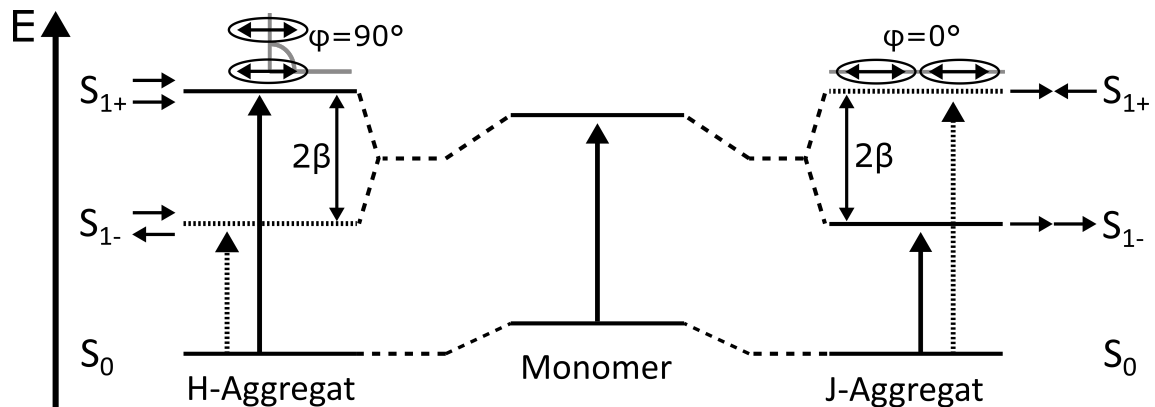
$$k_{\text{DET}} \propto \exp\left[-\frac{2r}{L}\right] J \quad (2.38)$$

gegeben. Wie der Förster-Resonanztransfer ist die Übergangsrates entscheidend abhängig von sowohl dem Abstand  $r$  zwischen Donor und Akzeptor als auch von dem Überlappungsintegral  $J$  (s.o.). Die Größe  $L$  steht für die Summe von *van der Waals*-Radien<sup>d</sup> von Donor und Akzeptor.

## 2.2.2 Kohärente Kopplung

Im Falle einer kohärenten Kopplung liegt eine starke elektronische Wechselwirkung zwischen den beteiligten Farbstoffmolekülen vor. Dies sei hier gleichbedeutend mit einer elektronischen Delokalisierung der Anregung. Im Folgenden soll eine Betrachtung nach Kasha [86] für die Kopplung von zwei Farbstoffmolekülen des gleichen Typs erfolgen. Dabei ist für die spektroskopischen Eigenschaften dieses Dimers entscheidend, wie die Übergangsdipolmomente der einzelnen Monomere zueinander orientiert sind. Abbildung 2.5 zeigt schematisch zwei Grenzfälle der relativen Orientierung. In der Mitte ist das reduzierte Bandschema eines Monomers mit den Singulettzuständen  $S_0$  und  $S_1$  abgebildet. Nach außen folgen die Fälle einer kohärenten Kopplung. Durch Coulomb -Wechselwirkungen sinkt die Grundzustandsenergie des Dimers.

<sup>d</sup>Steht für eine imaginäre harte Kugel eines Atoms/ Moleküls, die eine kleinst mögliche Annäherung eines zweiten Atoms/ Moleküls vorgibt [85].



**Abbildung 2.5:** Energiediagramm für die Entwicklung vom Monomer zu einem Dimer mit H- bzw. J- Charakter. Dafür sind die Orientierungen von zwei beteiligten Monomeren entscheidend, die mit Pfeilen neben dem Diagramm links und rechts skizziert sind. Abbildung nicht maßstabsgetreu; weitere Erläuterungen im Text. Nach [87, 88]

Der angeregte Zustand spaltet sich energetisch durch die resonante Wechselwirkungsenergie um  $2\beta$  in  $S_{1-}$  und  $S_{1+}$  auf [86].

Im linken Fall liegt eine parallele *sandwich*-Anordnung der Übergangsdipolmomente vor (siehe Abbildung 2.5). In der Kombination einer entgegengesetzten Ausrichtung der Übergangsdipolmomente bewirkt dies eine attraktive Wechselwirkung und führt demnach zu einer Energieabsenkung ( $S_{1-}$ ). Allerdings ergibt die Summe beider Übergangsdipolmomente für diesen Fall Null, weshalb der Übergang optisch verschwindet. Für die Kombination einer gleichgerichteten Orientierung erhöht sich die Energie ( $S_{1+}$ ) und die Übergangsdipolmomente verstärken sich. Der optische Übergang ist daher ebenfalls verstärkt. Eine solche Anordnung wird H-Aggregat genannt (aufgrund des hypsochromen Effekts).

Ein anderer Grenzfall ist auf der rechten Seite der Abbildung 2.5 gezeigt. Hier befinden sich die Übergangsdipolmomente in einer kollinearen Anordnung, was in einer analogen Argumentation zu einer optischen Verstärkung des abgesenkten Zustands  $S_{1-}$  und zu einem optischen Verschwinden des energetisch höheren Zustands  $S_{1+}$  führt. Diese Anordnung wird J-Aggregat genannt, benannt nach einem der Entdecker E.E. Jelley [89] (ebenfalls unabhängig entdeckt von G. Scheibe [90]).

Bezüglich der spektroskopischen Eigenschaften zeichnen sich H-Aggregate durch eine blau verschobene Absorption mit verschwindender Intensität der Fluoreszenz aus. Bei ausreichend starker Kopplung (Aufspaltung  $2\beta > kT$ ) folgt nach optischer Anregung eine Relaxation in das niederenergetische Niveau, das (im Grenzfall) kein resultierendes Übergangsdipolmoment besitzt und aus dem daher kein strahlender Übergang stattfinden kann.

In der Realität existieren stufenlos Fälle, die zwischen den beiden gezeigten Grenzfällen liegen. Für den Übergang von der *sandwich* zur kollinearen Anordnung kann die Aufspaltung

---

des Exzitonenbandes mit Hilfe des Scherwinkels  $\varphi$  nach [91]

$$2\beta = \frac{2|\mu|^2}{r^3} (1 - 3\cos^2\varphi) \quad (2.39)$$

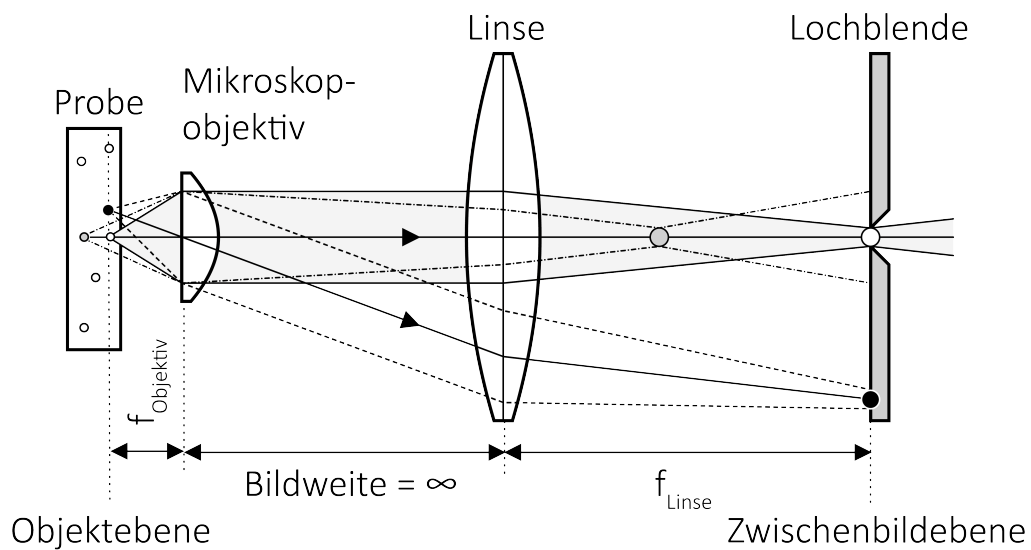
ermittelt werden (Scherwinkel  $\varphi$  ebenfalls in Abbildung 2.5 eingezeichnet). Neben dem Scherwinkel  $\varphi$  hängt die Größe der Aufspaltung vom Übergangsdipolmoment  $\mu$  und dem Abstand  $r$  der zwei Farbstoffmoleküle des Dimers ab.

Die Anordnung von Übergangsdipolmomenten lässt sich für eine beliebige Anzahl von beteiligten Farbstoffmolekülen fortsetzen und führt schlussendlich zu der Ausbildung von H- und J-Bändern. Einen detaillierteren Einblick liefert da beispielsweise eine Veröffentlichung von Spano und Silva [92]. Grundsätzlich sei für eine genauere Betrachtung der Thematik auf weitere Literatur verwiesen (Beispiele: [82, 86, 88]).

## 2.3 Grundlagen zur konfokalen Einzelmolekülmikroskopie

Im Folgenden sollen kurz die konfokale Mikroskopie und die räumlichen Auflösungslimits dieser Methode vorgestellt werden. Es existieren historisch zwei prominente Ansätze, die es ermöglichen einzelne Moleküle separat zu betrachten: Über spektrale oder durch räumliche Selektion [13, 21, 93]. In beiden Fällen besteht das Prinzip aus dem Anregen eines einzelnen Farbstoffmoleküls innerhalb eines Anregungsvolumens. Im Falle der spektralen Selektion ist dies über einen schmalbandigen Anregungslaser und tiefe Temperaturen ( $\lesssim 4.5$  K) möglich. Die schmalen Absorptionslinien der Farbstoffmoleküle bei tiefen Temperaturen ('Nullphononlinie') ermöglichen eine Selektion von einzelnen Farbstoffmolekülen über einen verstimmbaren, schmalbandigen Anregungslaser, selbst wenn sich viele Moleküle im Anregungsvolumen befinden. Dafür ist allerdings eine hohe spektrale Stabilität der Moleküle erforderlich, die nicht immer gegeben ist. Zudem verhindert in der Regel bei hohen Temperaturen die thermische Verbreiterung der Absorptionslinien, und dem daraus resultierenden Überlappen der Spektren, das Adressieren einzelner Moleküle, weshalb diese Methode nur für tiefe Temperaturen geeignet ist.

Ein temperaturunabhängiger und simpler Ansatz ist dagegen die räumliche Isolation von Molekülen. Dieser Ansatz in dieser Arbeit ausschließlich angewendet worden. Dabei wird die Probe so stark verdünnt, sodass stets maximal ein Farbstoffmolekül im Anregungsvolumen vorliegt. Es besteht so die Möglichkeit diesen über einen weiten Bereich nicht-resonant anregen zu können, was experimentell eine deutliche Vereinfachung gegenüber der Methode der spektralen Selektion darstellt.



**Abbildung 2.6:** Skizze zum Prinzip der räumlichen Filterung in einem konfokalen Aufbau. In der Zwischenbildebene kann Signal, das nicht aus der Objektelebene stammt, mittels einer Blende blockiert und somit Untergrundsignal unterdrückt werden. Modifiziert nach [94]

### 2.3.1 Konfokales Prinzip

Die Konfokalmikroskopie stellt eine sehr geeignete optische Methode zur Untersuchung einzelner Moleküle dar. Sie zeichnet sich insbesondere durch einen äußerst niedrigen Untergrund und somit durch ein gutes Signal-Untergrund-Verhältnis aus. Das konfokale Prinzip bedeutet, dass die Strahlengänge der Anregungsquelle und der Detektion einen gemeinsamen Brennpunkt auf der Probe innehaben. Dabei kann in der Detektion durch geeignete Blenden (Lochblenden) Signal unterdrückt werden, das außerhalb des Brennpunktes entstammt. Eine reduzierte Skizze dazu ist in Abbildung 2.6 gezeigt. Es ist die räumliche Filterung skizziert, die realisiert ist, indem Strahlen, deren Ursprung nicht im Brennpunkt des Mikroskopobjektivs liegt, in der Zwischenbildebene an der Blende blockiert werden. Bei geeigneter Brennweite der *Linse* kann die Lochblende in der Zwischenbildebene durch einen (punktförmigen) Detektor realisiert werden.

#### Auflösungsvermögen

In diesem Abschnitt sollen die theoretischen Auflösungslimitierungen eines konfokalen Mikroskops kurzgefasst vorgestellt werden. Für eine detailliertere Herleitung sei auf die Literatur verwiesen (beispielsweise [80, 95–97]).



In der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie wird typischerweise die Emission von Farbstoffmolekülen durch das Abrastern einer Probe mit einem fokussierten Laserstrahl abgebildet. Dieser ist normalerweise deutlich größer als die Abmessungen des Moleküls, weshalb nicht das Molekül selbst, sondern die Intensitätsverteilung im Fokus des Anregungslichts abgebildet wird. Sie bestimmt daher das Auflösungsvermögen des Mikroskops. Ausgehend von einer ebenen Welle, die mithilfe einer Linse fokussiert wird, erhält man für die radiale Intensitätsverteilung ein sogenanntes *Airy-Muster*, das sich mit [96]

$$I(r) = I_0 \left( 2 \frac{J_1 \left( \frac{rka}{f} \right)}{\frac{rka}{f}} \right)^2 \quad (2.40)$$

beschreiben lässt. Es steht dabei  $J_1$  für die Besselfunktion 1. Ordnung,  $r$  für den radialen Abstand zur optischen Achse,  $k = \frac{2\pi}{\lambda}$  für den Wellenvektor des Lichts,  $a$  für den Radius der Apertur und  $f$  für die Brennweite. Aufgrund der Umkehrbarkeit eines Lichtweges, beschreibt die Funktion ebenfalls die Verteilung für die Wahrscheinlichkeit einen emittierenden Punkt aus der Objektebene detektieren und abbilden zu können. Sie wird daher auch 'Punktabbildungsfunktion' (engl: *point spread function*; PSF) genannt.

Für das Auflösungsvermögen von zwei inkohärenten Lichtquellen (Farbstoffmolekülen) kann bezüglich der **lateralen Auflösung** das Kriterium nach Rayleigh angeführt werden. Dieses besagt, dass diese Lichtquellen bis zu einem Abstand  $\Delta x_{\text{ray}}$  aufgelöst werden können, bei dem das Maximum der einen Intensitätsverteilung im Minimum der anderen Intensitätsverteilung liegt. Für diesen Fall liegt in der Summe eine Intensitätsverteilung mit zwei Maxima vor, zwischen denen die Intensität auf 73.5 % abfällt. Dieser Abstand ist definiert mit

$$\Delta x_{\text{ray}} = 0.6 \frac{\lambda}{NA}. \quad (2.41)$$

Die im Zähler stehende numerische Apertur  $NA$  ist über

$$NA = n \cdot \sin(\alpha_{NA}) \quad (2.42)$$

bestimmt. Dabei steht  $n$  für den Brechungsindex des Mediums und  $\alpha_{NA}$  für den halben objektseitigen maximalen Öffnungswinkel (Akzeptanzwinkel) des Objektivs. Die Auflösung ist daher maßgeblich durch die verwendete Wellenlänge  $\lambda$  bestimmt und kann durch die Wahl einer hohen  $NA$  verbessert werden.

Durch das konfokale Prinzip kann bei entsprechender Lochblende durch die räumliche Filtrierung die Auflösung noch um  $\approx \sqrt{2}$  erhöht werden. Demnach resultiert für das laterale Auflös-

sungslimit [98]

$$\Delta x_{\text{conf}} \approx 0.4 \frac{\lambda}{NA}. \quad (2.43)$$

Analog ergibt sich mit den genannten Kriterien für das axiale Auflösungslimit [80, 97]

$$\Delta z = \frac{2n\lambda}{(NA)^2}. \quad (2.44)$$

### 2.3.2 Geometrische Detektionseffizienz

Die geometrische Detektionseffizienz  $\eta_{\text{Geo}}$  stellt neben weiteren Verlusten, wie Reflexionsverlusten an einzelnen Bauteilen oder Verlusten durch die endliche Detektionseffizienz eines Detektors, einen maßgeblichen Faktor bezüglich der gesamten Detektionseffizienz  $\eta_{\text{Det}}$  eines Mikroskops dar.

Ausgehend von einer punktförmigen Lichtquelle, die isotrop in den Raum abstrahlt, gibt  $\eta_{\text{Geo}}$  den Anteil des gesamten Raumes an, der durch das einsammelnde Objektiv beziehungsweise dessen objektseitige Pupille abdeckt ist. Der Raumwinkel eines halben ebenen Öffnungswinkels  $\omega$  ist definiert mit  $\Omega = 2\pi(1 - \cos(\omega/2))$ . Setzt man  $\Omega$  ins Verhältnis zum vollen Raumwinkel  $\Omega_0 = 4\pi$ , unter Verwendung von  $\omega/2 = \alpha_{\text{NA}}$  und Gleichung 2.42, ergibt sich für die geometrische Detektionseffizienz

$$\eta_{\text{Geo}} = \frac{1 - \cos(\alpha_{\text{NA}})}{2} = \frac{1 - \cos\left(\arcsin\left(\frac{NA}{n}\right)\right)}{2}. \quad (2.45)$$

Für den in dieser Arbeit verwendeten konfokalen Aufbau bei Raumtemperatur beträgt  $\eta_{\text{Geo}} = 31\%$  ( $NA_{\text{RT}} = 1.4$ ,  $n_{\text{oil}} = 1.518$ ), was einen typischen Wert darstellt. Für den Fall des eingesetzten Tieftemperaturaufbaus ergibt sich dagegen  $\eta_{\text{Geo}} = 21\%$  ( $NA_{\text{TT}} = 0.82$ ,  $n_{\text{He}} \approx 1$ ).

---

## 3 Experimentelle Aufbauten und Methoden

In diesem Kapitel sind alle verwendeten Aufbauten und Geräte beschrieben, die für das Erheben der in dieser Arbeit gezeigten Daten genutzt worden sind. Des Weiteren werden experimentelle und analytische Methoden erläutert, die für die Auswertung der erhobenen Daten benötigt wurden.

### 3.1 Ensemblespektroskopie

Alle gezeigten Ensemblespektren, sowohl der Absorption als auch der Fluoreszenz, sind an kommerziellen Spektrometern gemessen worden. Einzige Ausnahme stellt die temperaturabhängige Messung von WSCP in Abschnitt 8.1 dar. Diese fand mit dem später beschriebenen konfokalen Tieftemperaturaufbau statt (siehe Abbildung 3.1b).

Für die Aufnahmen der **Absorptionsspektren** stand ein Zweistrahl - UV - Spektrometer Omega 20 der Firma *Bruins Instruments* zu Verfügung. Die Auflösung lag stets bei 0.1 nm bei einer gewählten Monochromatorbreite von 0.3 - 0.5 mm.

Die **Fluoreszenzspektren** sind mit einem FluoroMax-2- der Firma *Jobin Yvon* aufgenommen worden. Typische Einstellungen dabei waren eine Integrationszeit von  $t_{\text{int}} = 1$  s mit einem Inkrement von  $\Delta\lambda = 0.1$  nm. Die Spaltbreiten sind typischerweise auf 1 nm gestellt worden.

**Fluoreszenzzerfälle** an Ensembleproben sind an einem FluoroLog-3- der Firma *Jobin Yvon* durchgeführt worden. Als Anregungsquelle diente dazu ein Faserlaser von *Fianium* (siehe auch Abschnitt 3.2.1) mit einer typischen Repetitionsrate von 20 MHz.

## 3.2 Experimentelle Aufbauten der konfokalen Mikroskopie

Dieser Abschnitt behandelt die konfokalen Aufbauten, an denen der überwiegende Anteil der Messungen dieser Arbeit durchgeführt worden sind. Zunächst werden alle verwendeten Laser aufgelistet und im Weiteren die verwendeten Aufbauten schematisch skizziert. Es schließen sich Erläuterungen zu dem verwendeten Kryostaten des Tieftemperaturaufbaus (TT-Setup) an. Zum Abschluss folgt eine Auflistung der verwendeten Anregungs- und Detektionsfilter, die individuell für die zuvor aufgelisteten Anregungslaser bzw. Anregungswellenlängen ausgewählt wurden.

### 3.2.1 Anregungslaser

Die Tabelle 3.1 beinhaltet eine Auflistung der Anregungswellenlängen, die für die Einzelmolekülspektroskopie verwendet worden sind (ebenfalls für manche Ensemblemessungen). Sie ist nach steigender Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{exc}}$  sortiert und kann spezifisch über diese den späteren Untersuchungen zugeordnet werden.

Bei vielen verwendeten Lasern handelt es sich um Systeme, die auf elektrisch angeregten Halbleiter-Dioden (HL-Diode) basieren. Diese zeichnen sich durch eine äußerst kompakte Bauweise bei gleichzeitig hinreichender Leistung aus (typischerweise bis zu 150 mW).

Gleiches gilt für Laser des Typs 'OPSL' (*optically pumped semiconductor laser*), bei denen die Anregung des aktiven Materials (HL-Diode) nicht elektrisch sondern optisch erfolgt.

Außerdem zum Einsatz kam ein klassischer Helium-Neon-Gaslaser, mit einer für diesen Typus charakteristischen Laserwellenlänge von  $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$ . Die Emission entsteht hier innerhalb des Resonators, indem zunächst eine hohe Spannung (zwischen einer Anode und Kathode) Elektronen beschleunigt, durch die Heliumatome elektronisch angeregt werden. Über Stoßprozesse können diese im Weiteren ihre Energie an Neonatome abgeben, wodurch diese ebenfalls elektronisch angeregt werden. Verschiedene strahlende Übergänge können nun stattfinden und führen (mit weiteren folgenden Übergängen) zu einer Abregung der Neonatome in den Grundzustand. Diese strahlenden Übergänge, von denen einer der Wellenlänge von 633 nm entspricht, können über die Anpassung des umschließenden Resonators für den Laserbetrieb ausgewählt werden.

Aus den aufgelisteten Anregungsquellen sollen zwei Systeme gesondert herausgehoben werden: Der Weißlicht-Faserlaser und der Farbstofflaser. Über beide Systeme schließt sich im Folgenden eine komprimierte individuelle Erläuterung an.

**Tabelle 3.1:** Auflistung der genutzten Anregungswellenlängen und den dafür verwendeten Lasern.

$\lambda_{\text{exc}} / \text{nm}$	Modus <sup>†</sup>	Lasertyp	Bezeichnung (Hersteller)
405	cw	HL-Diode	CUBE 405-100C ( <i>Coherent</i> )
437	p	Faserlaser <sup>#</sup>	SC-400-2-PP ( <i>Fianium</i> )
561	cw	HL-Diode	Toptica iChrome CLE ( <i>Toptica</i> )
566*	cw	OPSL	Sapphire 568 ( <i>Coherent</i> )
608-628 <sup>+</sup>	p	Faserlaser <sup>#</sup>	SC-400-2-PP ( <i>Fianium</i> )
620	cw	Farbstofflaser <sup>#</sup>	899-01 ( <i>Coherent</i> )
625	p	Faserlaser <sup>#</sup>	SC-400-2-PP ( <i>Fianium</i> )
627	„	„	„
630	cw	Farbstofflaser <sup>#</sup>	899-01 ( <i>Coherent</i> )
633	cw	HeNe-Gas	LSTP-1010 ( <i>Research Electro-Optics</i> )
635	p	Faserlaser <sup>#</sup>	SC-400-2-PP ( <i>Fianium</i> )
640	cw	HL-Diode	CUBE 640 ( <i>Coherent</i> )

<sup>†</sup> cw: Anregung im Dauerstrichbetrieb (engl.: *continuous wave*), p: Gepulste Anregung. \* Nominell 568 nm, aber hier ist die reale Wellenlänge angegeben. <sup>+</sup> Breitbandanregung im angegebenen Bereich, in welchem eine spektral konstante Anregungsintensität mit Abweichungen < 10 % vorlag. <sup>#</sup> Weitere Erläuterungen zum System im Text.

#### Weißlicht - Faserlaser

Für die gepulste Anregung (p) ist immer ein Weißlicht - Faserlaser der Firma *Fianium* verwendet worden. Dieser zeichnet sich durch einen weiten, wählbaren Wellenlängenbereich (400 nm - 1750 nm) mit variablen Repetitionsraten zwischen 1 - 20 MHz bei äußerst kompakter Bauweise aus. Im Wesentlichen wird dieser weite Wellenlängenbereich über optische Pumpen einer stark nichtlinearen Yb - dotierten Glasfaser realisiert. Als Pumpquelle fungiert ein gepulster, passiv modengekoppelter Faserlaser (Repetitionsrate = 20 MHz), ebenfalls basierend auf einer Yb - Glasfaser. Ein Pulsselektor sorgt für wählbare Wiederholraten von 20 MHz, 10 MHz, 5 MHz und 1 MHz, bevor das Licht des Pumpasers in die nichtlineare Glasfaser gelangt. Dort findet aufgrund nichtlinearer Effekte eine starke spektrale Verbreiterung statt. Über einen nachfolgenden akustooptischen Filter (AOTF), kann eine abschließende Wellenlängenselektion aus dem breiten Spektrum in einem Bereich von 400 nm - 700 nm stattfinden. Dabei ist es möglich, bis zu 8 Wellenlängen gleichzeitig auszuwählen und zu überlagern.

#### Farbstofflaser

Bei dem verwendeten Farbstofflaser handelt es sich um einen Ring - Farbstofflaser 899-01 der Firma *Coherent*. Eine detailreiche Beschreibung des Systems ist beispielsweise in [99] zu finden.

Der Farbstofflaser ist in dieser Arbeit ausschließlich mit DCM-Spezial (*Radiant Dyes*) als Farbstoff im Breitbandmodus betrieben worden. Für die verwendete Farbstofflösung wurden 1 g DCM-S in 400 ml Ethylenglykol + 400 ml Benzylalkohol gelöst. Die Wahl des Farbstoffs entscheidet, in welchem Wellenlängenbereich der Farbstofflaser betrieben werden kann. In diesem Fall erlaubt DCM-S einen durchstimmbaren Bereich von etwa 610 nm - 690 nm. Der Farbstoff wird bei  $\approx 2.75$  Bar durch eine Präzisionsdüse in einem Kreislauf gepumpt. Der aus der Düse resultierende laminare Farbstoffstrahl liegt senkrecht zur Ebene des Ringresonators und ist zu dessen Strahlengang im Brewsterwinkel gekippt. Ein Spiegel lenkt einen Pumplaser auf den Farbstoffstrahl. Dazu diente hier ein Sabre Innova R DBW15 von *Coherent*; ein Argon - Ionen - Laser, der bei 514.5 nm mit 5 W - 6 W betrieben wurde. Durch das ständige Zirkulieren des Farbstoffs wird der Verbleib von Farbstoffmolekülen innerhalb des Resonators verhindert, die nach einer Anregung in einen dunklen Zustand (z.B. Triplettzustand) übergegangen sind und es wird einem schnellen Photobleichen der Farbstoffmoleküle vorgebeugt. Zudem ist der Abtransport von Wärme gewährleistet.

Durch die ringförmige Anordnung des Resonators ist es mit Hilfe einer optischen Diode möglich, eine Laufrichtung zu unterdrücken und Lasermoden in der gewünschten Umlaufrichtung zu betreiben. Dadurch werden stehende Wellen verhindert und ein stabilerer Betrieb gewährleistet. Die Polarisation des Lasers (senkrecht zum Tisch) wird vor allem durch den Einbau von optischen Elementen im Brewster - Winkel realisiert. Über das Verdrehen eines Drei - Platten - Lyotfilter (ebenfalls im Brewsterwinkel eingebaut) kann die Resonatorgüte kontinuierlich bezüglich der Wellenlänge verändert werden und ermöglicht so das Einstellen eines Wellenlängenbereichs oberhalb der Laserschwelle. Zudem bestimmt der Lyotfilter die Anzahl und Breite der gleichzeitig aktiven Moden des Lasers und somit die resultierende Bandbreite der Emission. Im verwendeten Breitbandbetrieb beträgt diese  $\approx 2$ - 3 GHz.

Zu Kontroll - und Diagnosezwecken der Emission sind ein Spektrumanalysator (Spectrum Analyzer Model 240 - *Coherent*) und ein Wavemeter (WS5/512 - *High Finesse*) eingesetzt worden.

#### 3.2.2 Konfokale Mikroskopie

In der Abbildung 3.1 sind sowohl schematische Zeichnungen der verwendeten Aufbauten bei Raumtemperatur (RT -Setup, Abbildung 3.1a) als auch bei niedrigeren Temperaturen mit Kryostaten (TT - Setup, Abbildung 3.1b) mit den relevanten Bauteilen abgebildet. Das grundsätzliche Konzept des Aufbaus ist dabei in beiden Fällen identisch und wird im Folgenden beschrieben.

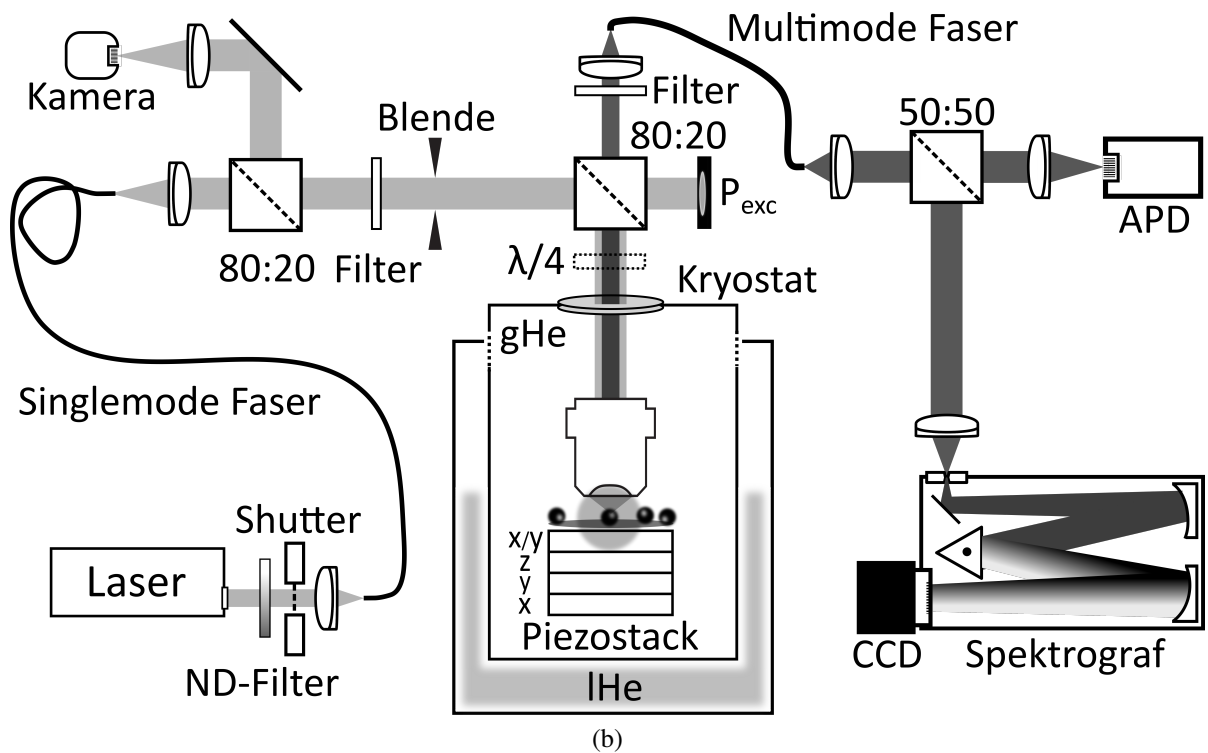
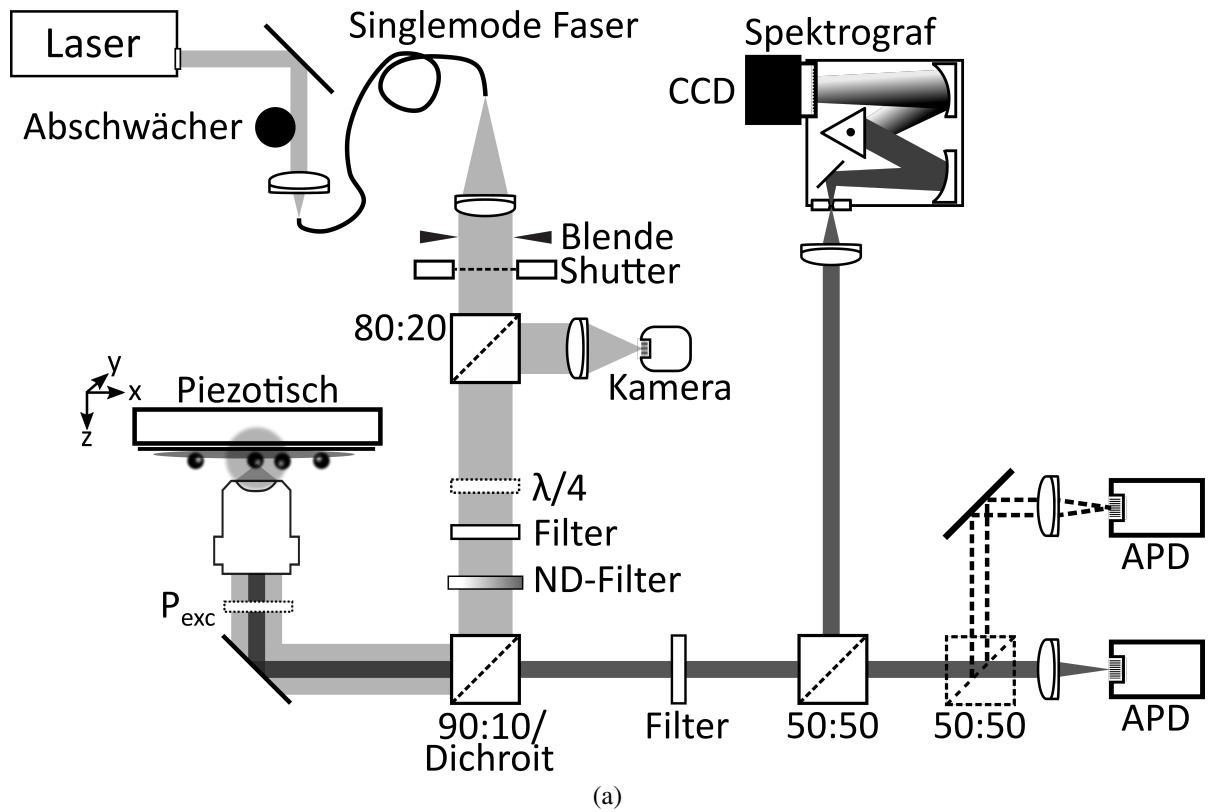
Im **Anregungsstrahlengang** wird zunächst ein Laser (siehe Abschnitt 3.2.1) durch eine polarisationserhaltende *singlemode* Faser geleitet. Bei diesem Typus von Faser ist der Kerndurchmesser so gewählt, dass nur die  $TEM_{00}$ -Mode transmittiert wird. Sie dient daher der räumlichen Filterung (Anregungspinhole) und sorgt für eine definierte Anregungsquelle. Für die Einkopplung in die Faser werden Kollimatoren der Firma *Schäfter + Kirchoff* verwendet; für die Kollimation der Auskopplung werden achromatische Linsen von *thorlabs* (RT - Setup) und Objektive von *Melles Griot* ( $NA = 0.25$ ; TT - Setup) eingesetzt.

Ein nachfolgender neutraler Strahlteiler (80T/20R) dient zur Abbildung des (später von der Probe) zurückreflektierten Anregungslichts mit einer Kamera. Darüber ist es möglich die Fokussierung auf der Probe bei laufender Messung zu überprüfen. Anschließend besteht die Möglichkeit mit einem  $\lambda/4$ -Plättchen (*thorlabs*) das linear polarisierte Licht des Lasers zirkular zu polarisieren (im Falle des TT - Setup erst nach dem nächsten Strahlteiler).

Es folgt ein weiterer neutraler Strahlteiler oder Dichroit (siehe Abschnitt 3.2.4), welcher das Laserlicht in Richtung des konfokalen Objektivs reflektiert (RT - Setup: Ölimmersionsobjektiv Plan-Apochromat, 100x /  $NA = 1.4$  von *Zeiss*; TT - Setup: LT-APO/VISIR,  $NA = 0.82$  von *attocube*). Im Falle des TT - Setups wird mit einem Leistungsmessgerät (1830-C von *Newport*) die Anregungsleistung des Lasers in Transmission des genannten Strahlteilers bestimmt. Wird dagegen ein Dichroit verwendet, ist im Anschluss ein in den Strahlengang kippbarer Spiegel installiert, der das Anregungslicht auf den Kopf des Leistungsmessgeräts lenkt. Im Falle des RT - Setups dagegen besteht direkt vor dem Objektiv die Möglichkeit den Messkopf des Messgeräts (12PDH001 von *Melles Griot*) in den Strahlengang zu schwenken.

Das Mikroskopobjektiv fokussiert das Anregungslicht in die Objektebene auf der Oberfläche der Probe, die auf einem piezoelektrischen Tisch montiert ist. Im Falle des RT - Setups handelte es sich für die Messungen von LPPentP um einen xyz - Tisch (P-562.CD, *Physik Instrumente*) in allen übrigen Fällen um eine Kombination aus einem xy - Tisch (P-731.8C, *Physik Instrumente*) und einem weiteren Piezoelement (P-721, PIFOC, *Physik Instrumente*), das sich in der Halterung des Objektivs befindet und mit welchem die Fokussierung in z - Richtung vorgenommen wird. Im Falle des TT - Setups handelt es sich um ein gestapeltes System von tiefemperaturfähigen Piezotischen der Firma *attocube* (2x grobe Positionierer für x/y, 1x Positionierer in z - Richtung, 1x Scantisch in x/y - Richtung). Für eine detailliertere Beschreibung der Piezotische und des Kryostaten des TT - Setups sei auf die Arbeit von A. Boos verwiesen [100].

In dem **Detektionsstrahlengang** wird die von den Objektiven eingesammelte Emission zu 90 % (RT - Setup) bzw. 80 % (TT - Setup) von dem zuvor genannten Strahlteiler transmittiert



**Abbildung 3.1:** Schematischer Aufbau der konfokalen Aufbauten mit den relevanten Bauteilen. (a) Zeigt die Raumtemperaturkonfiguration (RT- Setup) und (b) die Tieftemperaturvariante mit Kryostat (TT- Setup).



(Ausnahme bei LPPentP mit  $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ . Hier ist ein Dichroiten verwendet worden. Siehe Abschnitt 3.2.4). Ein nachfolgender Filter bereinigt die Emission von restlichem Anregungslicht. Die verwendeten Filterkombinationen, bestehend aus dem Filter im Anregungs- (vor Strahlteiler) und dem im Detektionsstrahl (nach Strahlteiler), sind in Tabelle 3.2 aufgelistet.

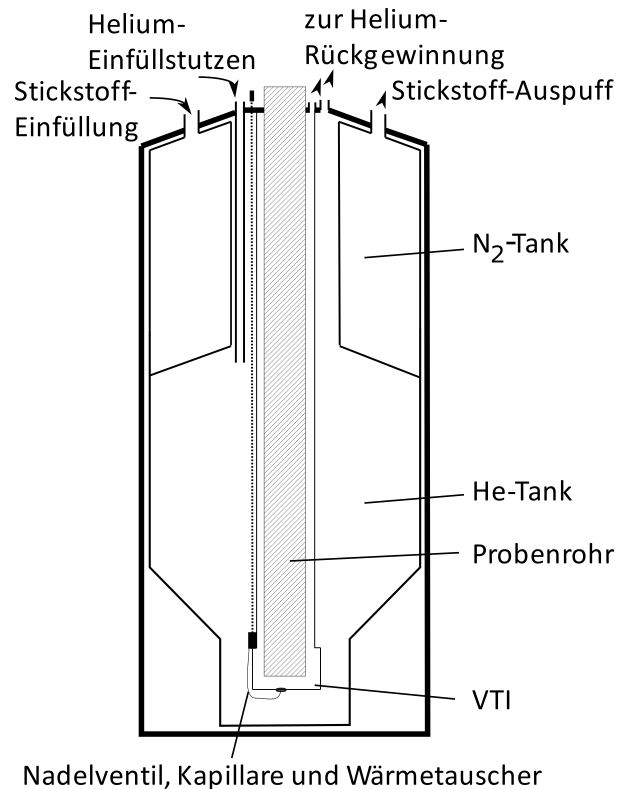
Im Falle des TT - Setups wird die Emission im Weiteren mit einem Objektiv von *Melles Griot* (NA = 0.2) auf die Apertur einer *multimode* Faser (NA = 0.1, *thorlabs*) fokussiert und nach Austritt aus dieser mit einem baugleichen Objektiv erneut kollimiert.

In beiden Aufbauten lenken Strahlteiler (50T/50R) 50 % der Emission im rechten Winkel auf eine achromatische Linse, welche das Licht in den Eingangsspalt eines Spektrografen fokussiert. Für die Messungen am RT - Setup handelt es sich dabei um einen SpectraPro 300i von *Acton* (Fokallänge  $f = 300 \text{ mm}$ ) in Kombination mit einer EMCCD - Kamera *iXon<sup>EM</sup> + DU-888D-C00-UVB* von *Andor* (nur bei den Messungen von LPPentP mit  $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm} / 437 \text{ nm}$ ) oder einer *Newton EMCCD DU970-BV* von *Andor*. Als dispergierendes Element dient ein Reflexionsgitter mit entweder 50 Furchen/mm (Untersuchungen an Chl a und WSCP) oder 150 Furchen/mm (Untersuchungen an LPPentP und DBOV-DMEP).

Im Falle des TT - Setups diene grundsätzlich als Spektrograf das Modell SR-750-B1-R der Firma *Andor* ( $f = 750 \text{ mm}$ ) unter Verwendung eines Reflexionsgitters mit 150 Furchen/mm. Einzig für hochaufgelöste Spektren (siehe Kapitel 6.2.1) ist das Gitter durch eines mit 2000 Furchen/mm ersetzt worden (Auflösung:  $\approx 1 \text{ cm}^{-1}$ ). Die Sensoren aller EMCCD - Kameras sind thermoelektrisch auf  $\approx -70 \text{ }^\circ\text{C}$  bis  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt.

Die 50 % der gesamten Emission, die zuvor nicht zum Spektrografen reflektiert sondern von dem genannten Strahlteiler transmittiert wurden, sind mit einer achromatischen Linse auf eine *avalanche photo diode* (APD) fokussiert. Im RT - Setup wird mit einer Brennweite von  $f = 400 \text{ mm}$  auf die aktive Fläche einer SPCM-AQR 15 (*Perkin Elmer*) mit  $\varnothing_{\text{Det.}} = 170 \mu\text{m}$  Detektorfläche fokussiert. Im TT - Setup sind eine Linse mit  $f = 50 \text{ mm}$  und eine COUNT<sup>®</sup>-10C von *Laser Components* mit  $\varnothing_{\text{Det.}} = 100 \mu\text{m}$  installiert.

Für die *anti-bunching* - Untersuchungen an DBOV-DMEP (siehe Kapitel 6.2.2) bei Raumtemperatur ist zusätzlich eine APD SPCM-AQR 14 (*Perkin Elmer*) verwendet worden. Dafür ist vor den APDs das Signal mit einem weiteren Neutralstrahlteiler (50T/50R) aufgeteilt worden (siehe Abbildung 3.1a, gestrichelt eingezeichnet). Dadurch ist es möglich Zeitabstände zwischen zwei aufeinanderfolgenden Photonen zu bestimmen, ohne die Limitierungen durch die Totzeit eines (einzelnen) Detektors. Dies gilt zumindest für die Fälle, bei denen sich keiner der Detektoren gerade innerhalb der Totzeit befindet und nicht beide Photonen auf die gleiche Detektorfläche treffen. Dieser Aufbau beruht auf dem Vorbild von Hanbury Brown & Twiss [101].



**Abbildung 3.2:** Schematische Zeichnung des Kryostaten Supervari - Temp - Kryostat von *Janis* innerhalb des konfokalen Aufbaus CFM1 von *attocube*. Aus [100]

#### 3.2.3 Kryostat

Bei dem zuvor schematisch vorgestellten TT - System, bestehend aus einem Kryostaten mit integriertem konfokalem Mikroskop, handelt es sich um ein kommerzielles System CFM1 der Firma *attocube*. Dieses ist innerhalb der Arbeitsgruppe weiterentwickelt und optimiert worden. Ein großer Teil dieser Optimierungen sind von A. Boos im Rahmen Ihrer Dissertation durchgeführt worden. Für eine detaillierte Beschreibung des Aufbaus sei daher auf Ihre Arbeit [100] verwiesen.

Eine schematische Skizze der Kryostateneinheit Supervari-Temp-Kryostat von *Janis Research* ist in Abbildung 3.2 gezeigt. Diese ist über Federn schwingungs isoliert an ein Gehäuse montiert und ermöglicht im Inneren Experimente zwischen Raumtemperatur und 1.4 K. Die thermische Isolation erfolgt dabei über mehrere Isolationsvakuum - Kammern (nicht in Skizze eingezeichnet) und über ein 50 L Stickstoffreservoir. Letzteres dient ebenfalls zur Vorkühlung des gesamten Systems. Mittels eines Überhebers wurden aus einer externen Heliumkanne bis zu 50 L flüssiges Helium in einen He - Tank gefüllt, wodurch Messungen über mehrere Tage ohne Nachfüllen realisierbar sind. Ein Füllstandsanzeiger (Liquid Cryogen Level Meter LM-500 von *Cryomagnetics, Inc.*) ermöglicht das Kontrollieren des Füllstands im He - Tank.

Der Tank ist über ein Nadelventil mit dem sog. VTI (*Variable Temperature Inset*) verbunden. Über den steuerbaren Zulauf von flüssigem Helium und über das Ansteuern eines Heizelements, welches innerhalb eines Wärmetauschers eingebaut ist, kann hier die Temperatur zwischen 1.4 K und Raumtemperatur variiert werden. Je nach Betriebsmodus wird der Raum des VTIs mit Unterdruck (für Temperaturen  $T < 4.5$  K) oder mit Normaldruck betrieben.

In das VTI wird das Probenrohr eingelassen, in welchem sich die gestapelten Piezocontroller (Piezostack), die Probe und das Mikroskopobjektiv befinden. Der Innenraum des Probenrohrs ist zum Wärmeaustausch mit Heliumgas gefüllt (20 mbar - 100 mbar). Innerhalb des Piezostacks befindet sich ein weiteres Heizelement für die Temperierung der Probe. Nahe der beiden genannten Heizelemente befinden sich zudem jeweils Temperatursensoren. Sensoren und Heizelemente werden über das Kontrollgerät Temperature Controller 32B von *Cryocon* angesteuert.

### 3.2.4 Filterkonfigurationen für die Messungen

In Tabelle 3.2 sind die verwendeten Filterkombinationen spezifisch für die verwendeten Anregungswellenlängen  $\lambda_{\text{exc}}$  aufgelistet. Die Kombinationen setzen sich aus einem Filter im Anregungsstrahlengang und einem im Detektionsstrahlengang zusammen.

Ebenfalls aufgelistet ist, ob ein  $\lambda/4$ -Plättchen zur Erzeugung von zirkular (zirk.) polarisiertem Licht eingesetzt wurde. Die letzte Spalte gibt an, an welches TCSPC - (*time - correlated single photon counting*) Modul das Signal der APDs in Form von NIM - Pulsen weitergeleitet worden ist. Dies ermöglichte das Aufzeichnen der Daten im TTTR- (*time-tagged time-resolved*-) Modus (T2 - Modus) und dadurch die nachträgliche Berechnung der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  aus den Ankunftszeiten der einzelnen Photonen (siehe auch Abschnitt 3.3.4).

Im Falle einer gepulsten Anregung wird von dem TCSPC - Modul ebenfalls der Synchronisationspuls des Anregungslasers aufgezeichnet (T3 - Modus), sodass aus den Daten über ein virtuelles Start - Stopp - Experiment (Start: Laserpuls, Stopp: Detektiertes Photon) der Fluoreszenzzerfall rekonstruiert werden kann.

Als zentraler (dichroitischer) Strahlteiler des konfokalen Messaufbaus diente für die Messung von LPPentP ( $\lambda_{\text{exc}} = 405$  nm) ein Dichroit z 405 rdc (*Chroma*). Für die übrigen Messungen wurde im RT - Setup ein 90T/10R - Strahlteiler - Plättchen von *Chroma* verwendet. Im TT - Setup ist dagegen ein neutraler Strahlteilerwürfel mit 80R/20T der Firma *Linos* eingebaut gewesen.

**Tabelle 3.2:** Auflistung der verwendeten Filter im Anregungs- sowie Detektionsstrahlengang für die spezifischen Anregungswellenlängen  $\lambda_{\text{exc}}$  aus Tabelle 3.1. Ebenfalls angegeben ist die verwendete Anregungspolarisierung (Pol.) sowie das genutzte TCSPC - Modul, welches mit dem Signal der APD gespeist wurde.

$\lambda_{\text{exc}} / \text{nm}^a$	Pol. <sup>b</sup>	Anregung	Detektion	TCSPC-Modul <sup>c</sup>
405	lin.	405/10 BL HC ( <i>Semrock</i> )	HQ 420 LP ( <i>Chroma</i> )	PH
437	lin.	ZET 445/10 ( <i>Chroma</i> )	LP 442 EB ( <i>Semrock</i> )	PH
561	lin.	565/24 BL HC ( <i>Semrock</i> )	LP 594 EB ( <i>Semrock</i> )	PH
566	zirk.	”	”	PH
608-628	lin.	620/52 BL HC ( <i>Semrock</i> )	HQ 655 LP ( <i>Chroma</i> )	PH
620	zirk.	”	”	PH
625	lin.	”	”	HH
627	lin.	BP 633/10 ( <i>Semrock</i> )	LP 633 RU ( <i>Semrock</i> )	HH
630	lin.	620/52 BL HC ( <i>Semrock</i> )	HQ 655 LP ( <i>Chroma</i> )	PH
633	lin.	LLF 633 ML ( <i>Semrock</i> )	LP 633 RU ( <i>Semrock</i> )	HH
635	lin.	620/52 BL ( <i>Semrock</i> )	HQ 655 LP ( <i>Chroma</i> )	PH
640	lin.	BP 633/10 ( <i>Semrock</i> )	LP 647 RU ( <i>Semrock</i> )	-

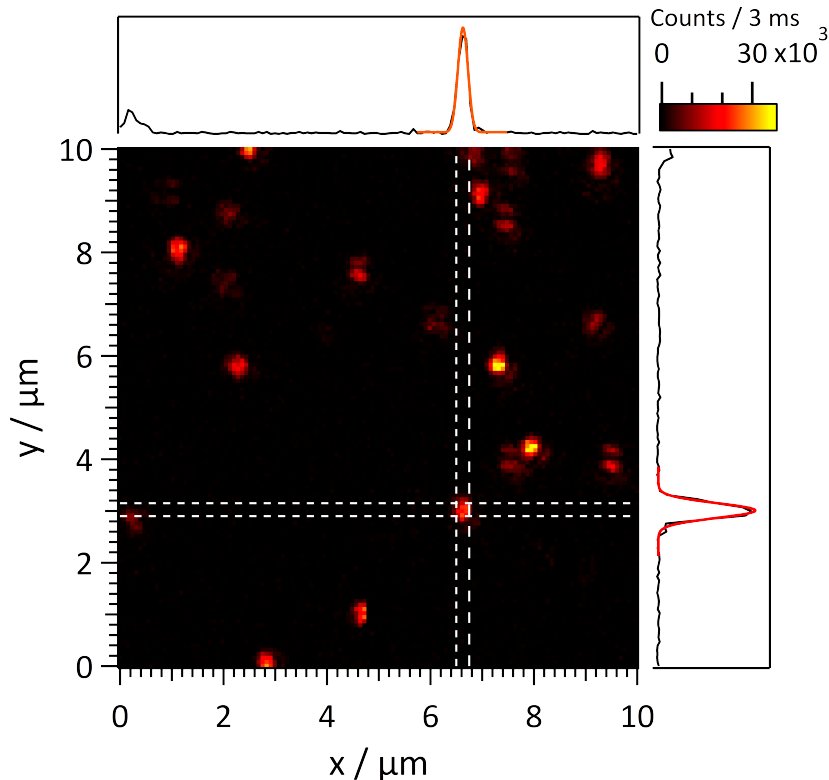
<sup>a</sup> Anregungslaser siehe Tabelle 3.1. <sup>b</sup> Anregung mit linear (lin.) oder zirkular (zirk.) polarisiertem Licht. <sup>c</sup> PH: PicoHarp 300 (*PicoQuant*); HH: HicoHarp 400 (*PicoQuant*)

### 3.3 Experimentelle Durchführung & Auswertemethoden

Der erste Teil dieses Abschnitts beinhaltet zunächst Erläuterungen zur Durchführung der gezeigten Experimente. Er umfasst insbesondere, in welcher Form die Datenerhebung vollzogen wurde. Im Weiteren werden Methoden vorgestellt, die für die Auswertung der Daten benötigt wurden. Dabei herauszuheben ist eine globale Anpassung von Messparametern (Emissionsrate  $R$  & Parameter der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$ ) zur Bestimmung von photophysikalischen Parametern. Dieser liegt analytisch zunächst das Modell eines 3 - Niveau - Systems zugrunde, dessen theoretischer Unterbau bereits im Abschnitt 2.1.2 erläutert wurde. Am Ende dieses Abschnitts wird die globale Anpassung anhand des Vorbilds von Verhart et al. [102] für ein 4 - Niveau - System modifiziert und vorgestellt.

#### 3.3.1 Allgemeine Informationen zur experimentellen Durchführung

Grundlage aller durchgeführten Einzelmolekülmessungen war zunächst das Erstellen einer Fluoreszenzkarte, wie sie beispielhaft in Abbildung 3.3 dargestellt ist. Dafür wird der fokussierte Anregungslaser durch schrittweises Verfahren des Piezotisches, auf welchem die Probe



**Abbildung 3.3:** Beispielhafte 2D - Fluoreszenzkarte zur Lokalisierung einzelner Moleküle. Hier am Beispiel von DBOV-DMEP in Zeonex unter Argon mit  $128 \times 128$  Pixeln auf  $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ , aufgenommen im RT - Setup. ( $t_{\text{int}} = 3 \text{ ms}$ ,  $\lambda_{\text{exc}} = 561 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 4.3 \text{ kW/cm}^2$ ) Zudem sind Bereiche eines horizontalen und vertikalen Schnitts und deren Projektionen gezeigt, über die mittels Gaußverteilungen (rot) die Größe der Fluoreszenzpunkte bestimmt wird.

montiert ist, lateral über die Probe gerastert (typische Kantenlänge eines Pixels  $\lesssim 100 \text{ nm}$ ). Danach können die so lokalisierten Fluoreszenzpunkte angefahren und Fluoreszenzspektren, -zeitspuren oder -zerfälle aufgenommen werden.

### RT - Setup

Die Ansteuerung der Piezoelemente erfolgte im Falle des RT - Setups über eine Software routine aus der Arbeitsgruppe (SCANUNIVERSAL in LabVIEW). Als zentrale Schnittstelle zwischen Computer und Instrumenten diente die Hardware ADwin - Gold der Firma *Jäger*, die Datenaustausch in Echtzeit ermöglicht.

Ebenfalls über das Programm SCANUNIVERSAL erfolgte das Zählen der detektierten Ereignisse (Counts) pro Pixel und Zeitintervall, von der APD stammend und über TTL - Pulse an den PC übermittelt (über die ADwin-Gold - Schnittstelle). Darüber hinaus war innerhalb des Pro-

gramms sowohl die Visualisierung der Fluoreszenzkarte als auch das Aufzeichnen von Fluoreszenzzeit Spuren möglich.

#### **TT - Setup**

Im TT - Setup sind die verbauten Piezoelemente, auf denen die Probe montiert wurde, über eine proprietäre Schnittstelle (ANC 350 & ASC 500) sowie ein proprietäres Programm DAISY von *attocube* in einem *closed loop* - System angesteuert worden (mehr Erläuterungen in [100]). Das Erstellen und die Ausgabe der Fluoreszenzkarten, konstruiert aus dem Signal der APD, erfolgte ebenfalls über das genannte Programm.

Die Fluoreszenzzeit Spuren wurden gleichermaßen aus dem Signal der APDs ermittelt und über das Programm ADWINCOUNTTIMETRACE von C. Erker aufgezeichnet. Wie im Falle des RT - Setups diente dazu als Schnittstelle ein ADwin - Gold - System der Firma *Jäger*.

Die Bedienung der Spektrografen sowie das Auslesen der zugehörigen EMCCD - Kameras erfolgte in beiden Setups über die Software Andor Solis von *Andor Technologies*.

#### **Anregungsspektren**

Für die Aufnahme von Anregungsspektren wird eine Lichtquelle mit kontinuierlich veränderbarer Anregungswellenlänge benötigt. Dafür wurde in dieser Arbeit ein Farbstofflaser genutzt (siehe Abschnitt 'Farbstofflaser' in Kapitel 3.2). Die Veränderung der Wellenlänge geschieht durch das motorisierte Drehen des Drei - Platten - Lyotfilters innerhalb des Resonators. Die Ansteuerung erfolgte über das Programm BROADBAND von C. Erker, welches serielle Kommandos übers Netzwerk an einen Motorcontroller ESP300 von *Newport* sendet. Für die Messung wurden dann gleichzeitig die aktuelle Anregungswellenlänge, ermittelt mit einem Wavemeter (WS5/512 - *High Finesse*), und die von der APD gezählten Photonen in einem vorgegebenen Integrationsintervall aufgezeichnet.

Die Anregungsintensität des Farbstofflasers ist für die Anregungsspektren mit einem Intensitätsstabilisator LS-PRO der Firma *Brockton Electro - Optics* konstant gehalten worden. Bedingt durch den Aufbau des TT - Setups, musste die Stabilisierung vor der Einkoppelung in die Anregungsfaser erfolgen (siehe Abbildung 3.1b).

Für die gezeigten Anregungsspektren von Chl *a* (siehe Kapitel 7.2.4) wurde im Anregungsstrahlengang ein Kurzpassfilter SP 700 von *Omega* und im Detektionsstrahlengang ein Langpassfilter LP 715 BL der Firma *Semrock* eingesetzt. Von letzterem ist individuell für jedes Mo-

lekül durch Drehen des Filters dessen Filterkante angepasst worden, sodass diese möglichst nahe an der niederenergetischen Emissionsflanke des Nullphononenübergangs des jeweiligen Moleküls lag.

#### Bestimmung der Anregungsintensität

Für die spätere Datenauswertung ist es essentiell, die Anregungsintensität  $I_{\text{exc}}$  zu ermitteln. Dazu ist es nötig, zunächst die Größe des Anregungsfokus zu bestimmen. Aufgrund der im Vergleich geringen Abmessung der Moleküle zur Größe des Anregungsfokus, kann dies über die Größe der Fluoreszenzpunkte geschehen.

Der Intensitätsverlauf eines Fluoreszenzpunktes kann über Gleichung 2.40 beschrieben werden. Da die darin enthaltene Besselfunktion allerdings keine analytische Lösung besitzt, wird in der Praxis in guter Näherung die Anpassung über eine Gaußverteilung vorgenommen [103]. Es hat sich als sinnvoll erwiesen, die Fluoreszenzpunkte entlang der x- und y-Achse über  $\approx 500$  nm zu summieren und für beide Achsen den Intensitätsverlauf der Schnitte (siehe Abbildung 3.3) separat mit einer 1D-Gaußverteilung nach

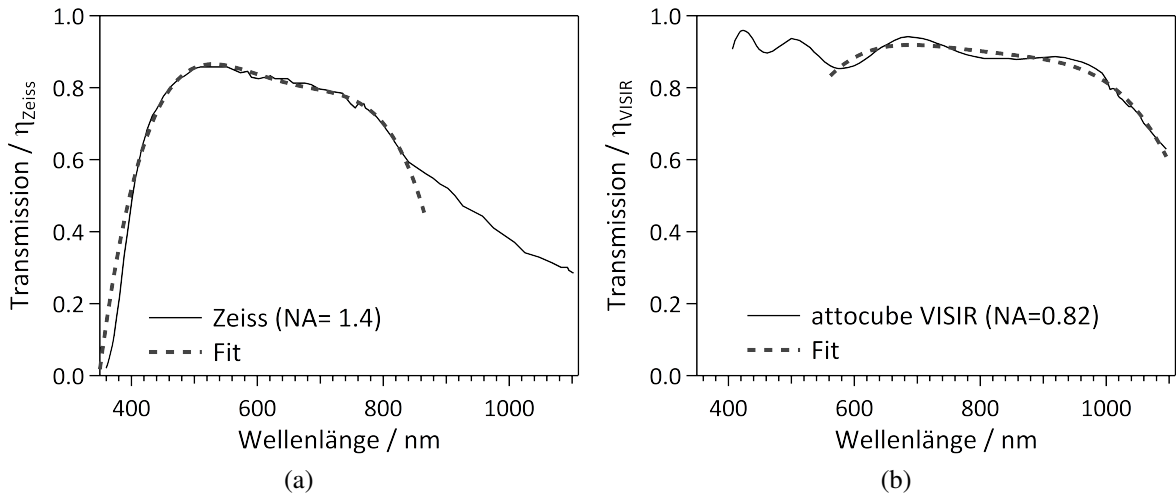
$$I(x) = I_0 \exp\left[-\frac{(x - x_0)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (3.1)$$

anzupassen. Diese Prozedur ist in der Praxis auf jeder gemessenen Fluoreszenzkarte für drei Moleküle geschehen. Mit der Beziehung  $\omega = 2\sqrt{2 \ln 2} \sigma$  sind die (insgesamt sechs) ermittelten Halbwertsbreiten  $\omega$  berechnet ( $\omega$ : *full width at half maximum*; FWHM) und deren Mittelwert gebildet worden. Mit Hilfe dieses Mittelwertes und der gemessenen Anregungsleistung  $P_{\text{exc}}$  kann die Anregungsintensität  $I_{\text{exc}}$  mit folgendem Zusammenhang berechnet werden [103, 104]:

$$I_{\text{exc}} = \frac{4 \ln(2)}{\pi} \frac{P_{\text{exc}}}{\omega^2} \prod_i \eta_i \quad (3.2)$$

Die Faktoren  $\eta_i$  stehen dabei für Verlustfaktoren, die im Strahlengang nach der Messung der Anregungsleistung  $P_{\text{exc}}$  auftreten.

**Raumtemperatur:** Hier wurde die Leistung  $P_{\text{exc}}$  direkt vor dem Mikroskopobjektiv gemessen (siehe Abbildung 3.1a). Es kann daher als einziger Verlustfaktor die Transmission des Objektivs  $\eta_{\text{Zeiss}}(\lambda_{\text{exc}})$  angenommen werden. Die wellenlängenabhängige, vorliegende Transmissionskurve [105] ist mit einem Polynom 4. Grades angepasst worden, um die Transmission variabel für jede Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{exc}}$  berechnen zu können. Die Faktoren des Polynoms sind in Tabelle 3.3 aufgelistet. Außerdem sind in Abbildung 3.4a das Polynom sowie die zugrun-



**Abbildung 3.4:** Transmissionskurven der verwendeten Mikroskopobjektive inklusive den dazugehörigen Anpassungen mittels eines Polynom 4. Grades (siehe Tabelle 3.3). (a) Transmission des Ölimmersionsobjektivs Plan-Apochromat (100x/ NA = 1.4) von *Zeiss*. (b) Transmission des Tieftemperaturobjektivs LT-APO/VISIR (NA = 0.82) von *attocube*. [105, 106]

deliegende Transmissionskurve abgebildet. Es ist darin erkennbar, dass in einem Bereich von 400 nm - 800 nm das Polynom die Transmissionskurve gut beschreibt.

**Tieftemperatur:** Die Leistung  $P_{\text{exc}}$  des Anregungslichts wurde im TT - Setup über die Transmission des zentralen Strahlteilers (80T/20R) bestimmt (siehe Abbildung 3.1b). Das reflektierte Licht ist demnach um ein Viertel weniger intensiv als das gemessene  $P_{\text{exc}}$ . Um diese Tatsache auszugleichen, ist ein zusätzlicher 'Verlustfaktor'  $\eta_T = 0.25$  in Gleichung 3.2 eingegangen. Dem Strahlengang folgend muss das Anregungslicht im Weiteren das optische Fenster des Kryostaten passieren. Der Transmission des Fensters werden 2 % Reflexionsverluste zugeschrieben [100]. Demnach liegt ein weiterer Faktor mit  $\eta_{\text{Kryo}} = 0.98$  vor. Analog zum RT-Setup zuvor folgt abschließend der Beitrag einer wellenlängenabhängigen Transmission des verwendeten Mikroskopobjektivs  $\eta_{\text{VISIR}}$ . Dafür ist die Transmissionskurve des Objektivs VISIR von *attocube* [106] ebenfalls mit einem Polynom 4. Grades angepasst worden. Ergebnis der Anpassung sowie die graphische Gegenüberstellung der zugrundeliegenden Transmissi-

**Tabelle 3.3:** Koeffizienten der Polynomfits zur analytischen Beschreibung der wellenlängenabhängigen Objektivtransmissionen. Nach  $T(\lambda_{\text{exc}}) = \sum_0^4 a_i \lambda_{\text{exc}}^i$ .

Objektiv	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_4$
Zeiss (RT) <sup>a</sup>	-23.207	0.15293	$-3.6097 \cdot 10^{-4}$	$3.7564 \cdot 10^{-7}$	$-1.4586 \cdot 10^{-10}$
VISIR (TT) <sup>b</sup>	-13.161	$7.0461 \cdot 10^{-2}$	$-1.3158 \cdot 10^{-4}$	$1.0886 \cdot 10^{-7}$	$-3.376 \cdot 10^{-11}$

<sup>a</sup> Ölimmersionsobjektiv Plan-Apochromat, NA = 1.4 von *Zeiss*. <sup>b</sup> LT-APO/VISIR, NA = 0.82 von *attocube*.



onskurve sind in Tabelle 3.3 bzw. Abbildung 3.4b zu finden. Daraus ergibt sich eine adäquate analytische Beschreibung für den Bereich zwischen 560 nm - 1100 nm.

### 3.3.2 Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute

Für Messungen in Lösung erfolgt die Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  (siehe Gleichung 2.11) in dieser Arbeit über den Vergleich von Absorption und Fluoreszenz mit einer Referenz; einem Farbstoff mit bekannter Fluoreszenzquantenausbeute. Dies ist über den folgenden Zusammenhang möglich [73]:

$$Y_f = Y_{\text{ref}} \frac{I}{I_{\text{ref}}} \frac{A_{\text{ref}}}{A} \left( \frac{n}{n_{\text{ref}}} \right)^2 \quad (3.3)$$

Dabei steht  $I$  für die integrierte Fluoreszenz,  $A$  für die Absorbanz bei einer gewählten Anregungswellenlänge und  $n$  für den Brechungsindex des Lösemittels. Der Index 'ref' steht für die Daten der Referenzprobe. Das Verhältnis der quadrierten Brechungsindizes in diesem Ausdruck stellt einen typischen geometrischen Korrekturfaktor einer Punktlichtquelle innerhalb eines Mediums mit Brechungsindex  $n$  dar [107].

Für eine geringe Fehleranfälligkeit wird die integrierte Fluoreszenz  $I$  für verschiedene Farbstoffkonzentrationen in einer Konzentrationsreihe ermittelt und gegen die jeweilige Absorbanz  $A$  aufgetragen. Um Effekte wie Reabsorption durch eine zu hoch gewählte Konzentration vernachlässigen zu können, ist dabei auf eine Absorbanz  $< 0.05$  geachtet worden [73]. Für diesen Fall kann von einem linearen Zusammenhang von Absorbanz und integrierter Fluoreszenz ausgegangen werden. Daraus ergibt sich nach Gleichung 3.3 und  $I = m \cdot A$  der verwendete Zusammenhang:

$$Y_f = Y_{\text{ref}} \frac{m}{m_{\text{Ref}}} \left( \frac{n}{n_{\text{Ref}}} \right)^2 \quad (3.4)$$

$Y_f$  kann demnach aus dem Vergleich der Steigungen  $m$  und  $m_{\text{Ref}}$  ermittelt werden.

### 3.3.3 Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer

Wie bereits zuvor erwähnt, wurden im Falle einer gepulsten Anregung sowohl die Synchronisationspulse des Lasers als auch die Ausgangspulse der APD mit einem TCSPC - Modul (PicoHarp 300 oder Hydraharp 400 von *PicoQuant*; siehe auch Tabelle 3.2) im TTTR - (*time-tagged time-resolved*-) Modus registriert. Damit ist es möglich, aus den relativen Zeitabständen

zwischen Synchronisationspuls und der Detektion eines Photons ein Histogramm zu erstellen und die Zerfallskurve des angeregten Zustands eines Emitters zu rekonstruieren [108].

Zu Beginn einer Messreihe wurde auf diese Weise zunächst eine Instrumentenfunktion (*instrumental response function*; IRF) des Systems aufgenommen. Dafür ist im Detektionsstrahlengang der (Langpass-) Filter durch einen OD - Filter ersetzt worden, um so das reflektierte Anregungslaserlicht zu detektieren.

Das später zu messende Fluoreszenzsignal, das sich nach Gleichung 2.10 meist durch ein (mono-) exponentielles Abklingverhalten beschreiben lässt, ist mit der IRF gefaltet [109]. Dies wird in der Auswertung der Daten berücksichtigt, indem diese mit folgender Gleichung angepasst werden:

$$I_f(t) = \left[ \sum_{i=1}^n A_i \exp\left(-\frac{t}{\tau_{f,i}}\right) \right] * \text{IRF}(t + \Delta t) + I_{\text{BG}} \quad (3.5)$$

In Gleichung 3.5 ist einbezogen, dass der Intensitätsverlauf mehrere Zerfallskomponenten mit Zerfallszeiten  $\tau_{f,i}$  und Amplituden  $A_i$  besitzen kann. Für die IRF wird in dieser Anpassung ein zeitlicher Versatz  $\Delta t$  toleriert und zudem ein möglicher unkorrelierter Hintergrund  $I_{\text{BG}}$  zugelassen.

Unerwünschte Beiträge von restlichem Licht des Anregungslasers (Rayleigh - Streuung) oder Raman - Streuung, sind über den Term einer skalierbaren (Faktor  $B$ ) Deltafunktion berücksichtigt worden:

$$I_f(t) = \left[ \sum_{i=1}^n A_i \exp\left(-\frac{t}{\tau_{f,i}}\right) + B\delta(t) \right] * \text{IRF}(t + \Delta t) + I_{\text{BG}} \quad (3.6)$$

Die Anpassung eines Fluoreszenzzerfalls ist stets mit einer Fehlergewichtung versehen worden. Nach der Poisson - Statistik ist der Fehler der gemessenen Zählrate  $\langle N \rangle$  in einem Zeitintervall invers proportional zu der Wurzel der Zählrate:  $\sigma \langle N \rangle = 1/\sqrt{\langle N \rangle}$  [110, 111]. In der Anpassung der gemessenen Zerfallskurven werden die Abweichungen (Residuen) der Datenpunkte ( $\langle N_q \rangle$ ) daher mit  $\sqrt{\langle N_q \rangle}$  gewichtet, wobei  $q$  hier für ein diskretes Zeitintervall des Zerfallshistogramms von  $I(t)$  steht.

### 3.3.4 Berechnung der Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$

Die Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  wurde aus den detektierten Photonenankunftszeiten des verwendeten TCSPC - Moduls rekonstruiert. Dafür diente in den meisten Fällen ein zur Verfügung stehendes Programm von G. Hinze (siehe auch [112]). Im Falle der *anti-bunching* -

Untersuchungen von DBOV-DMEP (siehe Kapitel 6.2.2), stand für die Berechnungen eine modifizierte Matlab - Routine von M. Bauer zur Verfügung, basierend auf einem Skript von B. Spokoyny [113] mit einem schnellen Algorithmus nach [114].

### 3.3.5 Charakterisierung photophysikalischer Prozesse

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie über die Parametrisierung der Fluoreszenzintensitäts - Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  (im Folgenden nur noch Autokorrelationsfunktion genannt) und die Emissionsrate  $R$  die photophysikalischen Übergangsraten eines Einzelphotonenemitters ermittelt wurden. Zunächst geschieht dies auf Grundlage eines 3 - Niveau - Systems. Im Weiteren wird die Analyse für ein 4 - Niveau - System nach [102] angepasst und modifiziert.

Die Datenverarbeitung, Analyse sowie globale Anpassung der Daten ist in eigens geschriebenen Routinen und Programmen in IGOR PRO 6.37 (*WaveMetrics*) sowie in der Programmiersprache PYTHON 3.6.3 mit JUPYTER NOTEBOOK als Umgebung realisiert worden.

#### Analyse von $g^{(2)}(\tau)$ und Emissionsrate im Rahmen eines 3 - Niveau - Systems

Der folgende Abschnitt basiert auf den theoretischen Grundlagen aus Kapitel 2.1.2. Dort ist gezeigt worden, wie die Beschreibung eines Einzelphotonenemitters in einem 3 -Niveau -System anhand eines Ratengleichungssystems erfolgt. Ebenfalls ist gezeigt worden, wie sich die Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  analytisch über die Übergangsraten dieses Systems beschreiben lässt (Gleichungen 2.22 - 2.30). In der Literatur ist mehrfach gezeigt, wie aus der Anpassung des *bunching* - Bereichs der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion mit

$$g^{(2)}(\tau) \cong C e^{\lambda_b \tau} + 1 \quad (3.7)$$

die Parameter  $C(I_{\text{exc}})$  und  $\lambda_b(I_{\text{exc}})$  bestimmt und in einer anregungsintensitätsabhängigen Analyse die zugrunde liegenden Übergangsraten  $k_{\text{ISC}}$  und  $k_{\text{T}}$  erhalten werden können [13, 34, 68, 115–117]. Dies fand in den meisten Fällen bei resonanter Anregung und mit Näherungen bzgl. der Übergangsraten statt. Es wurde beispielsweise in der Regel die innere Konversion  $k_{\text{IC}}$  vernachlässigt oder aber mit der strahlenden Rate  $k_{\text{r}}$  zusammengefasst. Des Weiteren wurden häufig Näherungen verwendet, ausgehend von u.a. niedrigen *intersystem crossing* - Raten  $k_{\text{ISC}}$  ( $k_{\text{r}} \ll k_{\text{ISC}}$ ).

In dieser Arbeit ist der Versuch unternommen worden, weitestgehend auf Näherungen zu verzichten und ebenfalls Zugang zu der Rate der inneren Konversion  $k_{\text{IC}}$  zu erhalten. Wie sich

aus den Gleichungen 2.26 - 2.30 erschließen lässt, ist dieses allein über die Parameter  $C(I_{\text{exc}})$  und  $\lambda_b(I_{\text{exc}})$  nicht möglich, da in diesen  $k_{\text{IC}}$  und  $k_r$  stets in einer Summe gemeinsam auftreten. Daher ist simultan in einer globalen Anpassung neben  $C(I_{\text{exc}})$  und  $\lambda_b(I_{\text{exc}})$  ebenfalls die Emissionsrate  $R(I_{\text{exc}})$  (Gleichung 2.18) angefitet worden. Bei dieser tritt  $k_r$  als Vorfaktor isoliert auf und ist somit in der kombinierten Analyse mit der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  eindeutig bestimmbar (siehe Gleichung 2.19).

Eine solche Analyse wird in dieser Arbeit (mit einem 3 - Niveau - System als Grundlage) an **Chla** und **WSCP** bei 4.5 K durchgeführt. Das gleiche gilt für vier **DBOV-DMEP** - Moleküle bei Raumtemperatur. Für die Messreihe bei 4.5 K von DBOV-DMEP hat sich während der Auswertung herausgestellt, dass die zugrundeliegende theoretische Beschreibung modifiziert werden muss. Nach der Auflistung von einigen generellen Punkten bezüglich der Datenauswertung, wird auf die Analyse des 4 - Niveau - Systems detailliert eingegangen. Es galten grundsätzlich zunächst folgende Punkte für die Anpassungsroutinen zur besagten globalen Analyse:

- Die Anregungsintensität wurde ermittelt, wie in Abschnitt 3.3.1 beschrieben.
- Es wurde für die Bestimmung der Anregungsintensität nicht berücksichtigt, wie die Orientierung des Übergangsdipolmoments eines Moleküls zu der Polarisation des Anregungslasers steht. Die ermittelten Absorptionsquerschnitte  $\sigma$  sind dem Einfluss der räumlichen Orientierungen der Übergangsdipolmomente unterworfen und dadurch meist unterschätzt. Im Falle einer zirkular polarisierten Anregung ist die Anregungsintensität durch den Faktor  $\sqrt{2}$  dividiert worden, wodurch die Vergleichbarkeit mit einer maximal möglichen linear polarisierten Anregung gegeben ist (ausgehend von einer optimalen Orientierung von Übergangsdipolmoment und Laserpolarisation zueinander).
- Die drei Parameter  $C(I_{\text{exc}})$ ,  $\lambda_b(I_{\text{exc}})$  und  $R(I_{\text{exc}})$ , die global angepasst wurden, sind vollständig und ausschließlich nach den Gleichungen 2.25, 2.24 und 2.21 über die folgenden Parameter ausdrückbar: strahlende Rate  $k_r$ , innere Konversion  $k_{\text{IC}}$ , intersystem crossing  $k_{\text{ISC}}$ , Absorptionsquerschnitt  $\sigma$  und Detektionseffizienz des Aufbaus  $\eta_{\text{Det}}$ . Dabei beeinflussen  $\sigma$  und  $\eta_{\text{Det}}$  einzig den Wert der Emissionsrate  $R(I_{\text{exc}})$ .
- Mit der Menge  $P = \{C(I_{\text{exc}}), \lambda_b(I_{\text{exc}}), R(I_{\text{exc}})\}$  wurde für jedes Molekül ein Datensätze der Residuen gebildet nach:

$$\text{Res}_{i,j} = \frac{P_i^{\text{exp}}(I_{\text{exc},j}) - P_i^{\text{theo}}(I_{\text{exc},j})}{P_i^{\text{exp}}(I_{\text{exc},j})} \quad (3.8)$$

In Worten ausgedrückt: Von jedem Parameter  $P_i$  wurden die Differenzen der experimentellen Datenpunkte  $P_i^{\text{exp}}$  und der analytischen Berechnung  $P_i^{\text{theo}}$  gebildet (Datensatz für verschiedene Anregungsleistungen  $I_{\text{exc},j}$ ). Jedes Residuum ist dabei auf den jeweiligen experimentellen Wert  $P_i^{\text{exp}}(I_{\text{exc},j})$  normiert worden, um eine Übergewichtung eines Parameters, aufgrund unterschiedlicher Größenordnungen der Zahlenwerte, zu vermeiden.

- Für die Minimierung von  $\text{Res}_{i,j}$  ist das Paket LMFIT 0.9.5 mit der MINIMIZE - Funktion verwendet worden. Die Optimierung erfolgte dabei in einer Kombination von Algorithmen, beginnend mit der NELDER-MEAD - Methode (*nelder*), gefolgt von einer Optimierung unter Verwendung des Levenberg - Marquardt Algorithmus (*leastsq*). Letzterer wurde gegebenenfalls in Kaskaden (5-10 Mal) wiederholt, bis ein Minimum der Optimierung gefunden war. Dabei wurden stets die ermittelten Werte der vorherigen Anpassung als Startwerte der nächsten verwendet.
- Für alle Messreihen bei tiefen Temperaturen im TT - Setup ist die Detektionseffizienz auf  $\eta_{\text{Det}} = 1\%$  abgeschätzt worden (siehe auch Tabelle A.2). Einzige Ausnahme stellt die Messreihe bei Raumtemperatur an DBOV - DMEP dar; bei dieser ist  $\eta_{\text{Det}}$  als freie Variable eingegangen und so bestimmt worden (siehe Ergebnisse in Tabelle 6.3).

Im Weiteren folgen nun Anmerkungen, die spezifisch für die einzelnen Messreihen sind:

- Im Falle von **Chl a** (4.5 K) geschah die Anregung mit einem gepulsten Laser. Die dadurch ermittelbare Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  ging als Bedingung über

$$\tau_f = k_f^{-1} = k_r + k_{\text{ISC}} + k_{\text{IC}} \quad (3.9)$$

in die globale Anpassungsroutine ein (siehe auch Gleichung 2.8). Dafür sind die Werte  $\tau_{f,j}$  eines Moleküls, die bei unterschiedlichen Anregungsleistungen  $I_{\text{exc},j}$  bestimmt wurden, gemittelt worden. Die Standardabweichung ging zudem als erlaubte Toleranz für  $\tau_f$  in die globale Anpassung ein.

Für die Analyse einzelner **WSCP** - Tetramere in Glycerin (4.5 K) ist ebenfalls mit gepulster Anregung gemessen und auf gleiche Weise verfahren worden.

- In der Messreihe von **DBOV-DMEP** (bei Raumtemperatur) wurde in einem ersten Schritt über eine Analyse des *anti-bunching* - Verhaltens der Wert für  $k_f$  eines jeden Moleküls ermittelt (siehe Abschnitt 6.2.2). Dieser ging daraufhin erneut als Bedingung in die globale Analyse des *bunching* - Verhaltens von  $g^{(2)}(\tau)$  ein.
- Bei den Untersuchungen von **WSCP** - Tetrameren auf Glas und an **DBOV-DMEP** - Molekülen in Zeonex (jeweils bei 4.5 K) ist mit einem Dauerstrichlaser (cw) angeregt wor-

den. Dadurch waren im Vergleich zu der gepulsten Anregungsquelle höhere Anregungsleistungen erzielbar, um letztlich eine möglichst hohe Anregungsrate  $k_{12}$  zu erhalten. Aus dem gleichen Grund ist in diesem Fall mit zirkular polarisiertem Licht angeregt worden.

Durch die hohen Anregungsraten sollte erreicht werden, möglichst weit in den Sättigungsbereich der Parameter  $C(I_{exc})$ ,  $\lambda_b(I_{exc})$  und  $R(I_{exc})$  zu gelangen, um so ein stabiles Konvergieren der globalen Anpassung zu gewährleisten.

Dieses Vorgehen stellt demzufolge experimentell einen alternativen Ansatz gegenüber der gepulsten Anregung dar. Bei dieser ist zwar die maximal erzielbare Anregungsrate niedriger gewesen, es konnte aber stattdessen die unabhängig bestimmte Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  als beschränkende Bedingung in die globale Anpassung eingehen.

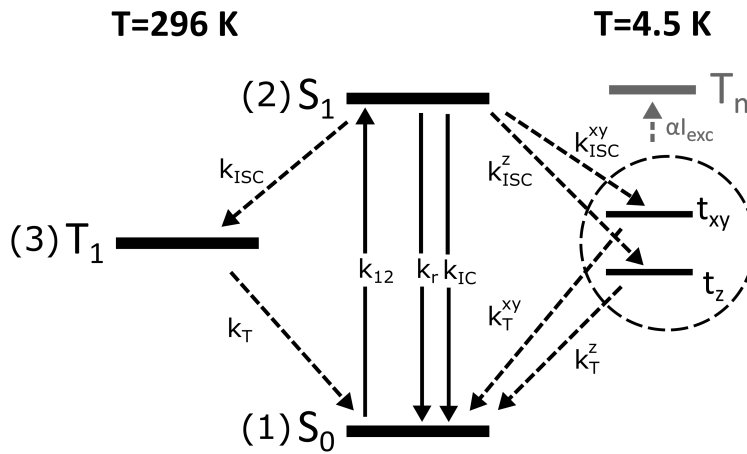
Im Falle der globalen Anpassungen von DBOV - DMEP (cw, 4.5 K) ist gleichwohl für ein besseres Konvergenzverhalten  $k_r$  zusätzlich eingeschränkt worden. Dafür diente der zuvor bei Raumtemperatur ermittelte Wert  $k_r(RT)$ , welchem innerhalb der globalen Anpassung eine Abweichung von 50 % gewährt wurde. Dieses Vorgehen erschien legitim, da  $k_r$  typischerweise keine (ausgeprägte) Temperaturabhängigkeit aufweist. Bei den Untersuchungen von DBOV - DMEP (RT) war die maximale Anregungsleistung nicht durch die vorliegende maximale Laserleistung sondern durch die Photostabilität der Moleküle limitiert.

#### Analyse von $g^{(2)}(\tau)$ im Rahmen eines 4 - Niveau - Systems

Für die Untersuchungen an **DBOV-DMEP** bei 4.5 K ist die zuvor in Kapitel 2.1.2 beschriebene Analyse, die auf einem 3 - Niveau - System basierte, nicht mehr für eine adäquate Beschreibung der experimentellen Daten ausreichend gewesen.

Experimentell ersichtlich ist dies durch die Tatsache, dass die Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  nicht mehr durch einem mono- sondern nun durch einen bi-exponentiellen Zerfall beschreibbar ist (siehe auch Abbildung 6.7). Dies ist in der Literatur bereits an anderen Systemen beobachtet worden [102, 115, 118]. Zurückzuführen ist das Auftreten von zwei Zerfallskomponenten auf den Einfluss der unterschiedlichen Triplettniveaus ( $t_x$ ,  $t_y$ ,  $t_z$ ), deren Entartung aufgrund der Nullfeldaufspaltung bei niedriger Molekülsymmetrie grundsätzlich aufgehoben ist (DBOV - DMEP:  $C_{2h}$  [119]). Bei 4.5 K ist zudem die Spin - Gitter - Relaxation im Tripletzustand gegenüber Raumtemperatur stark reduziert, sodass einzelne Beiträge der Triplettsubniveaus in der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  untersucht werden können.

Es ist bekannt, dass für planare aromatische Moleküle typischerweise die Übergangsraten in die Triplettniveaus  $t_x$  und  $t_y$  vergleichbar zueinander und zudem signifikant höher sind als



**Abbildung 3.5:** Schematische Zeichnung eines reduzierten Jablonski - Diagramms. Es zeigt links ein 3 - Niveau - System, wie bereits beschrieben in Abschnitt 2.1.2, welches bei Raumtemperatur (296 K) für die Untersuchungen an DBOV-DMEP - Molekülen angewandt wurde. Rechts ist diesem ein 4 - Niveau - System gegenübergestellt. Letzteres war Grundlage der Analyse der DBOV-DMEP - Moleküle bei 4.5 K. Zusätzlich ist noch ein höheres Triplettniveau  $T_n$  angedeutet (grau), in welches Triplet - Triplet - Absorption stattfinden kann. Weitere Informationen im Text.

die Übergangsrate in  $t_z$  [120–122]. Gleiches gilt für die jeweiligen Depopulationsraten der Niveaus. Es wird daher im Rahmen dieser Arbeit davon ausgegangen, dass die zwei Zerfallskomponenten der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  einem gemeinsamen Übergang in/aus  $t_{xy}$  und einem Übergang in/aus  $t_z$  zugeschrieben werden können. Abbildung 3.5 zeigt die dazugehörige Anpassung des reduzierten Jablonski - Diagramms, mit der veränderten Notation der Übergangsraten.

Aufgrund des zusätzlichen Niveaus sind die Lösungen des zuvor beschriebenen 3 - Niveau - Systems für die analytische Beschreibung von  $C(I_{exc})$ ,  $\lambda_b(I_{exc})$  und  $R(I_{exc})$  nun obsolet. Es erfolgt daher in diesem Fall eine Analyse der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  nach Verhart et al. [102] für ein 4 - Niveau - System. Dafür gilt es nun zunächst, dass die Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  mit zwei exponentiellen Zerfallskomponenten nach

$$g^{(2)}(\tau) = C_+ e^{-\Lambda_+ \tau} + C_- e^{-\Lambda_- \tau} + 1 \quad (3.10)$$

angepasst wird. Die Faktoren  $C_{\pm}$  stehen für die Kontraste und  $\Lambda_{\pm}$  für die Zerfallsraten von  $g^{(2)}(\tau)$ . Diese können im Weiteren über folgende Beziehungen ausgedrückt werden:

$$\Lambda_{\pm} = \frac{1}{2}(\Sigma \pm D) \quad (3.11)$$

$$C_{\pm} = \frac{\Lambda_{\mp} (K_T^{XY} - \Lambda_{\pm}) (K_T^Z - \Lambda_{\pm})}{K_T^{XY} K_T^Z (\Lambda_{\pm} - \Lambda_{\mp})} \quad (3.12)$$

Die Parameter  $\Sigma$  und  $D$  stehen dabei für die Ausdrücke

$$\Sigma = K_{\text{ISC}}^{\text{XY}} + K_{\text{ISC}}^{\text{Z}} + K_{\text{T}}^{\text{XY}} + K_{\text{T}}^{\text{Z}} \quad (3.13)$$

$$\text{und } D = \sqrt{\Sigma^2 - 4 \left( K_{\text{ISC}}^{\text{XY}} K_{\text{T}}^{\text{Z}} + K_{\text{ISC}}^{\text{Z}} K_{\text{T}}^{\text{XY}} + K_{\text{T}}^{\text{XY}} K_{\text{T}}^{\text{Z}} \right)}. \quad (3.14)$$

Dabei gilt für  $K_{\text{ISC}}^{\text{XY}} = k_{\text{ISC}}^{\text{xy}} p_2^*$  und  $K_{\text{ISC}}^{\text{Z}} = k_{\text{ISC}}^{\text{z}} p_2^*$ .  $p_2^*$  steht hier für die stationäre Besetzungswahrscheinlichkeit des angeregten Singulettzustands  $S_1$ , allerdings für den Fall, dass sich das Molekül nicht im Triplettzustand befindet, also für den Fall eines 2 - Niveau - Systems [102]. Die Lösung für letzteres ist leicht zu zeigen und ergibt im Falle einer nicht - resonanten Anregung

$$p_2^* = \frac{k_{12}}{k_{12} + k_{\text{r}} + k_{\text{IC}}}. \quad (3.15)$$

Bei der Auswertung der Daten hat sich des Weiteren gezeigt, dass die gemessenen Tripletttraten  $k_{\text{T}}^{\text{xy/z}}$  eine mit der Anregungsintensität steigende Komponente besitzen. Diese ist wahrscheinlich einer Triplett - Triplett - Absorption zuzuschreiben und wurde in der Analyse mit einem zusätzlichen Term über  $K_{\text{T}}^{\text{XY}} = k_{\text{T}}^{\text{xy}} + \alpha^{\text{xy}} I_{\text{exc}}$  und  $K_{\text{T}}^{\text{Z}} = k_{\text{T}}^{\text{z}} + \alpha^{\text{z}} I_{\text{exc}}$  berücksichtigt.

### Beschreibung der Emissionsrate in einem 4 - Niveau - System

Neben den Parametern der Autokorrelationsfunktion ( $C_{\pm}$ ,  $\Lambda_{\pm}$ ) soll ebenfalls erneut die Emissionsrate  $R^*$  global mit angepasst werden. Analog zu dem 3 - Niveau - System zuvor (siehe Abschnitt 2.1.2), wird dafür ein Differential - Gleichungssystem für 4 Niveaus aufgestellt und für den stationären Zustand gelöst (Triplett - Triplett - Absorption ist hier zur Vereinfachung und aufgrund eines geringen Einflusses auf die Emissionsrate  $R^*$  vernachlässigt worden). Die Ratengleichungen lauten:

$$\dot{p}_1 = -k_{12} p_1 + (k_{\text{r}} + k_{\text{IC}}) p_2 + k_{\text{T}}^{\text{xy}} p_3^{\text{xy}} + k_{\text{T}}^{\text{z}} p_3^{\text{z}} \quad (3.16)$$

$$\dot{p}_2 = k_{12} p_1 - (k_{\text{r}} + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}^{\text{xy}} + k_{\text{ISC}}^{\text{z}}) p_2 \quad (3.17)$$

$$\dot{p}_3^{\text{xy}} = k_{\text{ISC}}^{\text{xy}} p_2 - k_{\text{T}}^{\text{xy}} p_3^{\text{xy}} \quad (3.18)$$

$$\dot{p}_3^{\text{z}} = k_{\text{ISC}}^{\text{z}} p_2 - k_{\text{T}}^{\text{z}} p_3^{\text{z}} \quad (3.19)$$

$$1 = p_1 + p_2 + p_3^{\text{xy}} + p_3^{\text{z}} \quad (3.20)$$



Die letzte Gleichung 3.20 stellt dabei die Normierung des Systems dar. Die stationäre Lösung für  $p_2$  mit  $\forall \dot{p}_i = 0$  ergibt

$$p_2 = \frac{k_{12}}{k_r + k_{1C} + k_{ISC}^{xy} + k_{ISC}^z + k_{12} \left( 1 + k_{ISC}^{xy}/k_T^{xy} + k_{ISC}^{xy}/k_T^z \right)}. \quad (3.21)$$

Dabei ist die Anregungsrate  $k_{12}$  verknüpft mit der Anregungsintensität über

$$k_{12} = \sigma \frac{I_{exc}}{E_{Ph}}. \quad (3.22)$$

$E_{Ph}$  steht für die Energie eines anregenden Photons. In Analogie zu Gleichung 2.17, 2.18 und 2.21 folgt für die experimentell detektierbare Rate

$$R_{exp}^*(I_{exc}) = \eta_{Det} k_r p_2(I_{exc}) = \eta_{Det} R^*(I_{exc}) \quad (3.23)$$

und kann daher beschrieben werden über

$$R_{exp}^*(I_{exc}) = \eta_{Det} R_{\infty}^* \frac{I_{exc}/I_S^*}{1 + I_{exc}/I_S^*}. \quad (3.24)$$

Mit  $R_{\infty}^* = k_r \cdot \lim_{k_{12} \rightarrow \infty} p_2(k_{12})$  und  $R^*(I_S^*) = R_{\infty}^*/2$  ergibt sich außerdem noch

$$R_{\infty}^* = k_r \frac{k_T^{xy} k_T^z}{k_{ISC}^z k_T^{xy} + k_T^z (k_{ISC}^{xy} + k_T^{xy})} \quad (3.25)$$

$$(3.26)$$

$$\text{und } I_S^* = \frac{k_T^{xy} k_T^z (k_{ISC}^{xy} + k_{ISC}^z k_r + k_{1C})}{k_{ISC}^z k_T^{xy} + k_{ISC}^{xy} k_T^z + k_T^{xy} k_T^z} \frac{E_{Ph}}{\sigma}. \quad (3.27)$$

In der globalen Anpassung (DBOV - DMEP, 4.5 K) werden die fünf Parameter  $C_{\pm}(I_{exc})$ ,  $\Lambda_{\pm}(I_{exc})$  und  $R_{exp}^*(I_{exc})$  in Abhängigkeit der Anregungsintensität simultan mit den Gleichungen 3.11, 3.12 und 3.24 beschrieben und die zugrundeliegenden Variablen optimiert. Darüber hinaus erfolgte die globale Analyse grundsätzlich analog zu den Erläuterungen aus Abschnitt 3.3.5.

### **Korrektur des $g^{(2)}(\tau)$ - Kontrasts**

Der experimentell bestimmte Kontrast  $C_{\text{exp}}$  aller parametrisierten Autokorrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$  wurde nach [13] mit

$$C = C_{\text{exp}} \left( 1 + \frac{B}{S} \right)^2 \quad (3.28)$$

bezüglich des unkorrelierten Untergrunds  $B$  vor einer weiteren Analyse korrigiert. Der Untergrund ist dabei stets an einem Punkt auf der Probe abseits eines Chromophors ermittelt worden. Das Signal  $S$  wurde aus der mittleren Emissionsrate  $R$  des korrelierten Datensatzes bestimmt.

---

# 4 Probensysteme und -präparation

## 4.1 LPPentP

Das leiterartig verknüpfte (*laddertype*) Poly(pentaphenylene) (LPPentP) ist in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Müllen am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (Mainz) synthetisiert und von dieser zur Verfügung gestellt worden [49]. Das Molmassenmittel beträgt  $M_w = 57056$  Da bzw.  $M_n = 27824$  Da, charakterisiert über Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) gegen einen Poly(*p*-phenylene)(PPP) - Standard. Daraus ergibt sich eine Polydispersität von  $PDI = 2.1$ . Abbildung 4.1 zeigt die chemische Struktur der Wiederholeinheit des konjugierten Polymers. Mit der Annahme von etwa zwei Wiederholeinheiten pro Chromophor ergeben sich auf Grundlage von  $M_n$  und  $M_w$  Polymerketten mit ungefähr acht beziehungsweise 18 Chromophoren [99, 123], woraus über die Bindungslängen abgeschätzte mittlere Kettenlängen von  $\approx 34$  nm bzw.  $\approx 72$  nm resultieren.

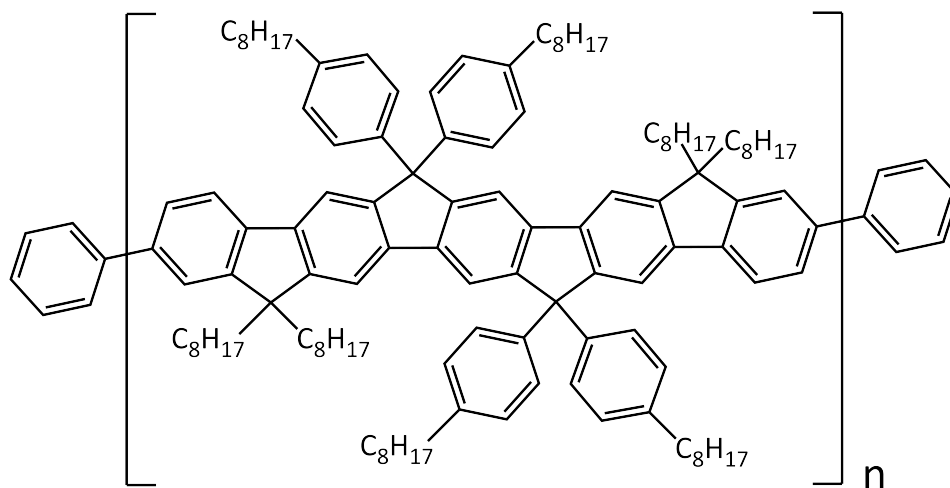
## Probenpräparation

### Ensemble

Für die spektroskopischen Untersuchungen am Ensemble ist LPPentP in spektroskopischen Toluol gelöst und auf eine Konzentration von  $4 \cdot 10^{-3}$  g/l verdünnt worden. Die Messungen fanden in standardmäßigen Quarzglas-Küvetten mit  $d = 1$  cm statt.

### Einzelmolekülspektroskopie

Die Einzelmolekülproben sind mittels *spin coating* hergestellt worden. Dafür wurde zunächst LPPentP in Toluol gelöst und schrittweise bis auf eine Konzentration von  $1.4 \cdot 10^{-6}$  g/l verdünnt. Für die Proben in PMMA ist dabei für den letzten Verdünnungsschritt eine Lösung aus PMMA und Toluol (20 g/l) verwendet worden. Von der gewählten Lösung wurden dann  $25 \mu\text{l}$  auf ein



**Abbildung 4.1:** Strukturformel einer Wiederholeinheit des leiterartig verknüpften (*laddertype*) Poly(pentaphenylene) (LPPentP).

Substrat aus Borosilikatglas ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG*) bei laufender Rotation getropft (3000 rpm, 120 s). Im Falle der PMMA-Lösung entsteht so ein Film mit einer Schichtdicke von  $\approx 100$  nm [124]. Die Reinigung der Gläser erfolgte im Ultraschallbad in einer Lösung aus entionisiertem Wasser und einer Reinigungslösung für Gläser (*Hellma<sup>TM</sup> Hellmanex<sup>TM</sup> II*) für ca. 60 min. Anschließend wurde die Prozedur noch drei Mal ohne die Reinigungslösung durchgeführt und abschließend das Glas zum Ausheizen in einem Muffelofen auf  $520$  °C erhitzt.

## 4.2 DBOV-DMEP

Bei DBOV - DMEP handelt es sich um einen polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoff (engl.: *polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) aus Dibenzo[*hi, st*]ovalen (DBOV) mit zwei 2,6-Dimethylphenyl (DMEP)- Seitengruppen. Daraus ergibt sich die Summenformel  $C_{54}H_{32}$ . Der Kern stellt einen Ausschnitt aus einer Graphenstruktur dar, mit welchem starke intermolekulare  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen möglich sind. Das Anbringen der DMEP - Seitengruppen verringert die daraus resultierende Tendenz zur Aggregation. Synthetisiert und zu Verfügung gestellt wurde das Molekül von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Müllen am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (Mainz) [63]. Abbildung 4.2 zeigt die Strukturformel von DBOV-DMEP, dessen Molekülmasse  $m_{\text{DBOV}} = 680.8319$  g/mol beträgt.

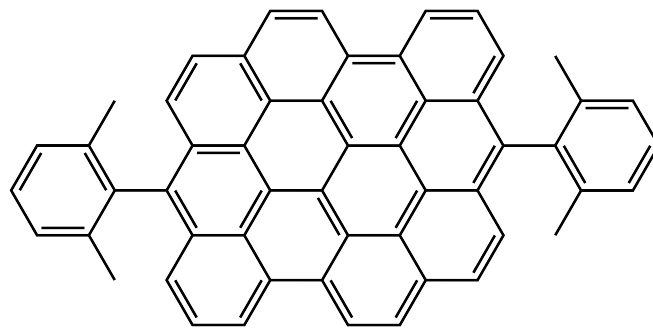


Abbildung 4.2: Strukturformel von DBOV-DMEP.

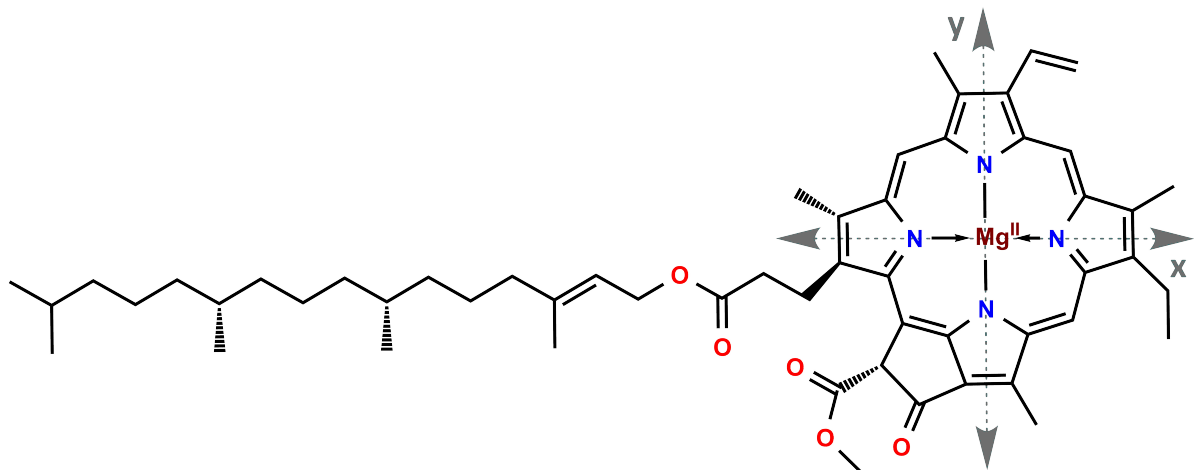
## Propenpräparation

### Ensemble

Für die optischen Untersuchungen am Ensemble ist DBOV - DMEP in spektroskopischem Toluol gelöst und die Stammlösung auf eine Konzentration von  $10^{-6}$  mol/L verdünnt worden. Die Messungen fanden in standardmäßigen Quarzglasküvetten mit  $d = 1$  cm statt.

### Einzelmolekülspektroskopie

Die Proben für die einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen sind im *spin coating* - Verfahren hergestellt worden. Dafür wurde eine Stammlösung von DBOV - DMEP schrittweise mit spektroskopischen Toluol auf eine Konzentration von  $1,1 \cdot 10^{-10}$  mol/L verdünnt. Statt reinem Toluol ist für den letzten Schritt dieser Verdünnungsreihe eine Zeonex<sup>®</sup> 330R (Zeonex) - Lösung verwendet worden ( $c = 20$  g/L in spektroskopischen Toluol), sodass die Moleküle nach dem *spin coating* immobilisiert in der zurückbleibenden Polymermatrix vorliegen. Für das *spin coating* sind  $30 \mu\text{l}$  auf das sich drehende Glassubstrat getropft worden (4000 rpm, 120 s). Die Reinigung der Glassubstrate erfolgte im Ultraschallbad in einer Lösung aus entionisiertem Wasser und einer Reinigungslösung für Gläser (Hellma<sup>TM</sup> Hellmanex<sup>TM</sup> II) für ca. 60 min. Anschließend wurde die Prozedur noch drei Mal ohne die Reinigungslösung durchgeführt und abschließend das Glas zum Ausheizen in einem Muffelofen auf  $520^\circ\text{C}$  erhitzt. Für die Messungen bei Raumtemperatur ist ein Glassubstrat aus Borosilikat ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG), für die Untersuchungen bei  $T = 4.5$  K eines aus Quarzglas ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von UQG Ltd.) verwendet worden.



**Abbildung 4.3:** Strukturformel von Chl *a*. Die Orientierungen der aufgespaltenen elektronischen Übergänge sind ebenfalls eingezeichnet.

## 4.3 Chlorophyll *a*

Das in dieser Arbeit verwendete Chlorophyll *a* (Chl *a*) wurde von der Arbeitsgruppe von Prof. H. Paulsen vom Institut für Molekulare Physiologie der Universität Mainz zur Verfügung gestellt. Die Gewinnung erfolgte aus Erbsenpflanzen (*Pisum sativum*) nach [125].

Abbildung 4.3 zeigt die Strukturformel von Chl *a*. Es besteht, wie alle Chlorophylle, aus einem Tetrapyrrolringssystem. Im Fall von Chl *a* aus einem derivatisierten Porphyringerüst (Chlorin), das mit seinen vier Stickstoffatomen als Liganden ein zentrales  $\text{Mg}^{2+}$ -Ion jeweils zweifach kovalent sowie koordinativ bindet, und einer veresterten hydrophoben Phytolkette am C-7-Atom [126]. In unpolaren Lösemitteln wird das  $\text{Mg}^{2+}$ -Ion durch einen weiteren Liganden des Lösemittels (oberhalb des Chlorinrings), in polaren durch zwei weitere (ober- sowie unterhalb des Chlorinrings), koordiniert und es liegt eine fünffache bzw. sechsfache Koordination vor [127, 128].

Die spektroskopischen Eigenschaften sind maßgeblich bestimmt durch den  $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergang des delokalisierten- $\pi$ -Elektronensystems des Chlorinrings und dessen Seitengruppen. Die Variation dieser Seitengruppen ergibt eine Vielzahl von natürlichen Derivaten mit unterschiedlichen spektroskopischen Eigenschaften. Dazu zählen u.a. die Chlorophylle, die sich, bezogen auf die gezeigte Strukturformel, durch verschiedene substituierte Seitengruppen unterscheiden, sowie Bacteriochlorophylle mit einem zweiten reduzierten Pyrrolring im Makrozyklus oder Pheophytine, bei denen das zentrale Magnesiumion fehlt.

In die Strukturformel aus Abbildung 4.3 sind die Orientierungen der elektronischen Übergänge eingezeichnet. Diese liegen nicht entartet vor, sondern splitten in x- und y-Banden auf. Dabei wird unterschieden zwischen den energieärmeren  $Q_{x,y}$ -Banden ( $S_1$ , etwa 500 - 800 nm)

**Tabelle 4.1:** Nominelle Konzentrationen der Lösungen mit Chl *a* für die Ensemblespektroskopie.

Lösemittel	Aceton	Toluol	Methanol	Chloroform
Konzentration / $10^{-6}$ M	1.8	1.0	3.7	3.6

und den im Vergleich energiereicheren  $B_{x,y}$  - Banden, auch Soret-Banden genannt ( $S_2$ , etwa 300 - 480 nm) [128–130].

## Probenpräparation

Grundsätzlich ist sowohl bei der Lagerung als auch der Herstellung von Lösungen bzw. Proben von Chl *a* darauf geachtet worden, dass möglichst wenig Kontakt mit Licht und Sauerstoff stattfand. Die Lagerung erfolgte im getrockneten Zustand, abgedunkelt bei  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  unter Stickstoffatmosphäre. Nach dem Lösen des Chlorophylls, das getrocknet in  $50\text{ }\mu\text{g}$  Portionen erhalten wurde, erfolgte die weitere Lagerung in Schraubdeckelgläschen und unter Stickstoffatmosphäre im Kühlschrank.

## Probenpräparation

### Ensemble: In Lösung

Für die Spektroskopie am Ensemble ist Chl *a* in verschiedenen spektroskopischen Lösemitteln gelöst worden. Die dazugehörigen Konzentrationen sind Tabelle 4.1 zu entnehmen. Für die Messung der Spektren sind Quarzglaszküvetten ( $d = 1\text{ cm}$ ) verwendet worden.

### Ensemble: Immobilisiert in einer Matrix

Um zu den Einzelmoleküluntersuchungen, die typischerweise an Molekülen, immobilisiert in einer dünnen Polymermatrix, stattfanden (Schichtdicke etwa 100 - 200 nm [124]), eine vergleichbare Ensemblemessung durchführen zu können, sind von M. Wagner dotierte 'makroskopische' Polymerfilme mit größeren Abmessungen hergestellt worden. Dafür dienten als Matrix sowohl Polymethylmethacrylat (PMMA) als auch Zeonex<sup>®</sup> 330R (Zeonex). Zunächst ist jeweils eine Lösung des Polymers mit 200 g/l in Toluol (PMMA) bzw. in Tetrahydrofuran (THF) (Zeonex) angesetzt worden. Zu 3.3 ml dieser Lösung ist dann gelöstes Chl *a* (in dem jeweils identischen Lösungsmittel) hinzugegeben worden, sodass eine finale Konzentration von  $\approx 10^{-5}$  M vorlag. Die gesamte Lösung wurde dann auf einen gereinigten Glasobjektträger mit

den Abmessungen von 7.6 cm x 2.6 cm gegossen, sodass dieser komplett bedeckt war. Eine Lagerung von etwa einem Tag, in einem nicht vollständig abgeschlossenen Exsikkator, sorgte für ein langsames Eintrocknen, resultierend in gleichmäßigen Polymerfilmen mit einer Stärke von  $\approx 0.3$  mm, die nach abgeschlossener Trocknung von dem Objektträger entfernt werden konnten. Zu Referenzzwecken ist in beiden Fällen ebenfalls ein Film ohne Dotierung auf gleiche Art und Weise hergestellt worden.

Im Falle von PMMA entstanden vollständig transparente Filme, wogegen die Filme aus Zeonex sich im Vergleich getrübt und ungleichmäßig zeigten. Zudem schienen sie brüchiger zu sein.

Zusätzlich zu den gerade beschriebenen Filmen, ist ein weiterer Probenpräparationsansatz für die Untersuchung am Ensemble unternommen worden. In Analogie zur Probenherstellung von Einzelmolekülproben, wurde dabei eine vergleichsweise hochkonzentrierte Lösung mittels *spin coating* auf ein Borosilikatsubstrat ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG*) aufgetragen, sodass ebenfalls ein Film mit einer Schichtdicke von  $\approx 200$  nm entstand. Die verwendete Lösung bestand dabei aus Zeonex (20 g/l) und Chl *a* gelöst in Toluol. Zusätzlich ist der Lösung 10 % Aceton zugegeben worden, sodass abschließend eine Chl *a* - Konzentration von  $\approx 10^{-5}$  mol/L vorlag. Von dieser Lösung sind 25  $\mu$ l auf das Glassubstrat bei laufendem *spin coater* mit 500 rpm getropft worden.

## Probenpräparation

### Einzelmolekülspektroskopie

Die Proben zur Einzelmolekülspektroskopie sind grundsätzlich mittels *spin coating* von stark verdünnten Lösungen hergestellt worden. Als Glassubstrat diente dafür bei den Raumtemperaturmessungen eines aus Borosilikat ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG*), für die Tieftemperaturuntersuchungen ist zur Reduzierung des optischen Untergrunds eines aus Quarzglas ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *UQG Ltd.*) verwendet worden. Die Reinigung der Gläser erfolgte im Ultraschallbad in einer Lösung aus entionisiertem Wasser und *Hellma<sup>TM</sup> Hellmanex<sup>TM</sup> II* für  $\approx 60$  min. Anschließend wurde die Prozedur noch drei mal mit entionisiertem Wasser durchgeführt und danach die Gläser zum Ausheizen in einem Muffelofen auf  $\approx 520$  °C erhitzt.

Bei der Verwendung einer Polymermatrix ist das Polymer, sowohl im Falle von PMMA als auch von Zeonex, zunächst mit einer Konzentration von 20 g/L in Toluol gelöst worden. Bei den Verdünnungsreihen der Probenlösungen wurde jeweils in dem letzten Verdünnungsschritt



**Tabelle 4.2:** Daten zur Herstellung der Einzelmolekülproben von Chl *a*. Bei den Proben in Zeonex ist im letzten Schritt der Verdünnung den Lösungen Aceton (10 % v/v) zugesetzt worden.

Temp. †	Matrix	Lösemittel	Konz. / mol/L	v / rpm	<i>spin coater</i>	
					Dauer / s	Menge / $\mu\text{L}$
RT	-	Chloroform	$1.1 \cdot 10^{-8}$	3000	120	25
RT	-	Methanol	$7.4 \cdot 10^{-9}$	2500	120	25
RT	PMMA	Toluol	$1.2 \cdot 10^{-9}$	3000	120	25
RT	Zeonex	Toluol+Aceton	$1.9 \cdot 10^{-9}$	2500	120	25
TT	Zeonex	Toluol+Aceton	$4.6 \cdot 10^{-9}$	500	120	25

† RT: Raumtemperatur, TT: Tieftemperatur (4.5 K)

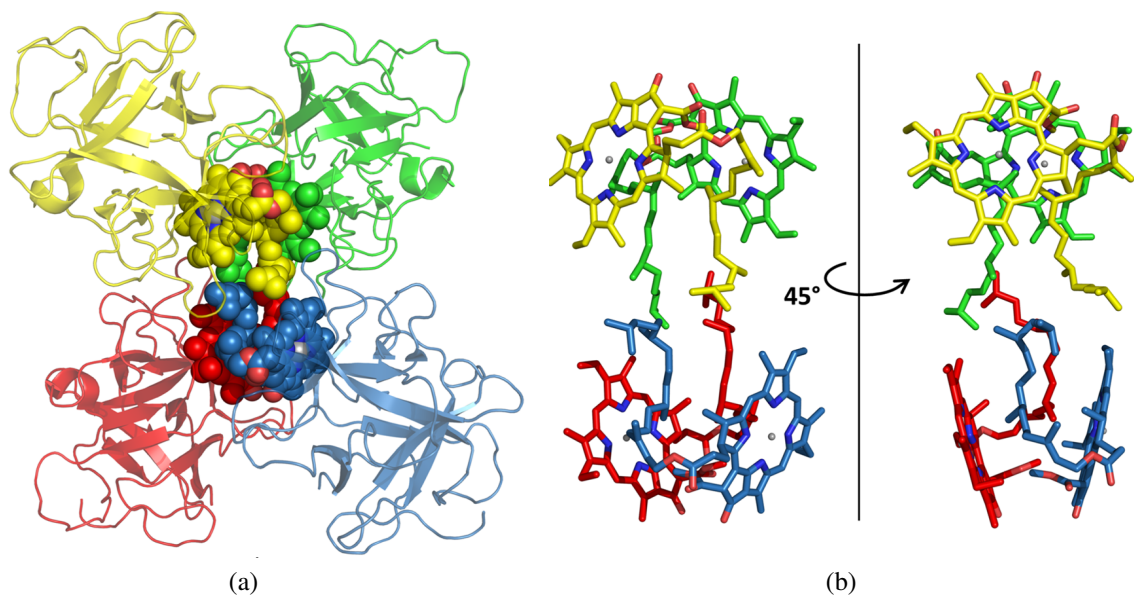
die Polymerlösung verwendet. Die endgültigen Konzentrationen der jeweiligen Proben sind in Tabelle 4.2 aufgelistet. Ebenso zeigt diese die Parameter des *spin coatings*, das mit Alufolie abgedunkelt und unter Argonstrom stattfand. Im Falle der Tieftemperaturmessungen ist der Einbau der Proben in den Kryostaten zudem unter grünem Licht vorgenommen worden.

## 4.4 Water-Soluble Chlorophyll Protein (WSCP)

Bei WSCPs handelt es sich um in einigen Pflanzengattungen vorkommende wasserlösliche Chlorophyll bindende Proteine [131]. Ihre exakte Funktion ist bisher ungeklärt. Da sie nicht in den Chloroplasten lokalisiert sind, stehen sie wohl nicht unmittelbar für die Energiegewinnung durch Photosynthese zu Verfügung [131–134].

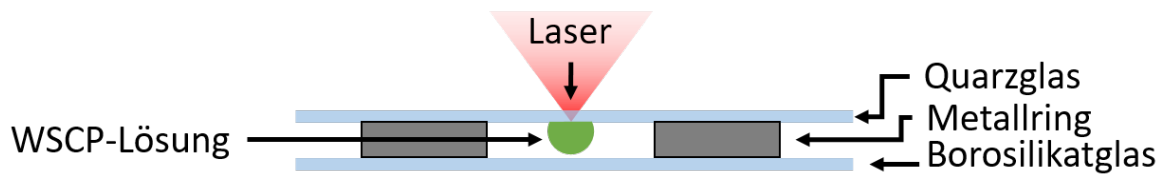
Die in dieser Arbeit gezeigten Untersuchungen fanden an dem Typus WSCP Klasse II statt, der in der Pflanzengattung *Brassicaceae* vorzufinden ist. Es wird im Weiteren zudem zwischen Klasse IIa (z.B. vorkommend in *Brassica oleracea* var. Botrys [135]; BobWSCP) und Klasse IIb (bisher nur in *Lepidium virginicum* zu finden; LvWSCP) unterschieden. Die Wildtypen von WSCP Klasse IIa und IIb unterscheiden sich in dem Verhältnis von gebundenen Chl *a* zu Chl *b* (BobWSCP > 6 & LvWSCP < 3.5 [131]). Zudem gibt es leichte Abweichungen in der Proteinstruktur, woraus sich u.a. für die gebundenen Chlorophylle eine abweichende Orientierung zueinander ergibt und infolge dessen sich diese auch spektral deutlich verschoben zeigen ( $\approx -150 \text{ cm}^{-1}$  der Hauptemissionsbande im Falle von BobWSCP).

Für diese Arbeit ist von der Arbeitsgruppe von H. Paulsen vom Institut für Molekulare Physiologie der Universität Mainz rekombinantes LvWSCP hergestellt und zur Verfügung gestellt worden, das nur Chl *a* enthält. Die Herstellung des Apoproteins erfolgte durch Überexpression in *Escherichia coli* Bakterien und das Chl *a* wurde aus Erbsenpflanzen (*Pisum sativum*)



**Abbildung 4.4:** (a) Struktur von *Lepidium virginicum* WSCP (LvWSCP). Die vier Monomere sind mit den dazugehörigen Chl *a* - Molekülen (sphärisch dargestellt) farblich voneinander unterschieden. (b) Detaillierte Darstellung der zwei *open sandwich* - Chl *a* - Dimere aus zwei Perspektiven. Abbildungen aus [139].

gewonnen (nach [125]). Bei dem Zusammenbringen beider Komponenten bilden sich Tetramere, dessen vier Apoproteine jeweils ein Chl *a* - Molekül binden. Abbildung 4.4a zeigt die Struktur eines LvWSCP - Tetramers. Zudem sind in Abbildung 4.4b die vier Chl *a* - Moleküle ohne Proteingerüst aus zwei Perspektiven dargestellt. Die Chl *a* - Moleküle bilden zwei stark gekoppelte Dimere, jeweils in einer *open sandwich* - Struktur (Abstand  $\approx 10 \text{ \AA}$ ) mit einem Öffnungswinkel von  $\approx 27^\circ$  [135], die wiederum untereinander schwach miteinander gekoppelt sind (Abstand  $\approx 20 \text{ \AA}$ ) [135, 136]. Eine Proteineinheit des Tetramers besitzt eine Masse von ca. 20 kDa [131, 135, 137]. Das Proteingerüst von WSCP Klasse II weist eine außergewöhnliche Stabilität gegenüber der pH - Umgebung sowie gegenüber Temperaturen von bis zu  $100^\circ\text{C}$  auf [69–72]. Zudem sind die in der hydrophoben Kavität eingebetteten Chlorophylle bemerkenswert photostabil [69, 72], und dass ohne das Vorhandensein von (in Lichtsammelkomplexen typischen) vor Photooxidation schützenden Carotinoiden. In WSCP (Klasse IIa) wird dies der Proteinhülle und einer protektiven Anordnung des Phytylrestes zugeschrieben, wodurch für große Teile des Makrozyklus von Chl *a* der Zugang für  $\text{O}_2$  sterisch gehindert ist [138]. Diese Eigenschaften, sowie die Abwesenheit von Carotinoiden und die vergleichsweise übersichtliche Anzahl an Chlorophyllen (im Vergleich: LHC II beinhaltet 42 Chlorophylle und 12 Carotinoide), machen WSCP Klasse II zu einem sehr attraktiven Modellsystem um sowohl Chl-Chl- als auch Chl-Protein- Interaktionen zu studieren.



**Abbildung 4.5:** Skizze zur Probenpräparation der Ensembleprobe 'Probe II'. Zwischen zwei Glassubstraten, die durch einen Metallring als Abstandhalter voneinander getrennt sind, befindet sich auf der Seite des Objektivs (des anregenden Lasers) ein Tropfen einer LvWSCP - Lösung.

## Probenpräparation

Das LvWSCP ist im gelösten Zustand (in 20 mM Natriumphosphatpuffer mit  $\text{pH} = 7.8$ ) erhalten worden. Die Lagerung erfolgte vor und nach dem Erhalt im Kühlschrank. Über die optische Dichte und einer gegebenen Absorption von  $\epsilon = 6580 \text{ m}^2/\text{mol}$  wurde die LvWSCP - Konzentration der Lösung bestimmt<sup>a</sup>. Für die weitere Verdünnung der Lösungen wurden *LoBind Tubes* von Eppendorf verwendet. Diese sind stets vor dem Verschließen mit Stickstoff geflutet und abschließend mit Alufolie abgedunkelt im Kühlschrank gelagert worden. Grundsätzlich wurde bei allen Arbeitsschritten darauf geachtet, dass möglichst wenig Sauerstoff und Licht an die Proben gelangte. Die Herstellung der Natriumphosphatpufferlösung (20 mM,  $\text{pH} = 7.8$ ), mit welcher die LvWSCP - Konzentration in Lösung über Verdünnung eingestellt wurde, erfolgte mit gefiltertem und entionisiertem Wasser.

### Ensembleproben - Probe I

Die Ensemblemessungen an 'Probe I' sind an einer Lösung, bestehend aus LvWSCP ( $c \approx 10^{-7} \text{ mol/L}$ ) und einer Natriumphosphatpufferlösung (20 mM,  $\text{pH} = 7.8$ ), durchgeführt worden. Die Messungen des Absorptions - und Fluoreszenzspektrums fanden in eine standardmäßigen Quarzglasküvette ( $d = 1 \text{ cm}$ ) statt.

### Ensembleproben - Probe II

Für die Ensemblemessungen an 'Probe II' ist eine Lösung aus LvWSCP in Natriumphosphatpuffer (20 mM,  $\text{pH} = 7.8$ ) und Glycerin im Verhältnis 1:2 v/v verwendet worden, sodass eine Konzentration des Tetramers von  $\approx 10^{-7} \text{ mol/L}$  vorlag. Von dieser Lösung wurde zunächst ein

<sup>a</sup>Wert für  $\epsilon$  aus mündl. Überlieferung von D. Palm (AK Prof. Paulsen - Inst. f. Molekulare Physiologie - JGU Mainz); entspricht der Absorption eines Chl a - Moleküls im Absorptionsmaximum ( $Q_y$  - Bande)

Tropfen auf ein Quarzglassubstrat ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *UQG Ltd.*) gegeben. Dieser Tropfen ist im Weiteren über einen verklebten Metallring als Abstandshalter mit einem weiteren Glassubstrat (aus Borosilikat mit  $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG*) versiegelt worden. Eine Skizze der Probengeometrie sowie deren Orientierung zum Anregungslicht ist in Abbildung 4.5 dargestellt.

### **Einzelmolekülspektroskopie**

Alle Einzelmolekülproben wurden aus Lösung mittels eines *spin coaters* auf ein Glassubstrat aufgetragen. Für die Messungen auf Glas bestand die Stammlösung aus LvWSCP in Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8). Diese ist mit selbiger Pufferlösung in einer Verdünnungsreihe auf eine Tetramerkonzentration von  $\approx 2 \cdot 10^{-9}$  mol/L verdünnt worden. Davon sind ca. 25  $\mu$ l mit einer Pipette auf das im *spin coater* rotierende Glassubstrat getropft worden (3000 rpm, 120 s). Für die Untersuchungen bei Raumtemperatur (296 K) ist für das Glassubstrat eines aus Borosilikat ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG*), für die Messungen im Kryostaten bei Temperaturen zwischen 4.5 K und 180 K ist eines aus Quarzglas ( $\varnothing = 20$  mm, No. 1 von *UQG Ltd.*) verwendet worden.

Für die Probe in Glycerin wurde für die Lösung zunächst identisch verfahren. Im letzten Verdünnungsschritt ist allerdings die Probenlösung mit Glycerin im Verhältnis 50:50 v/v gemischt worden, sodass eine Konzentration der Tetramere von  $\approx 10^{-9}$  mol/L vorlag. Von dieser Lösung sind ebenfalls ca. 25  $\mu$ l auf ein im *spin coater* rotierendes Quarzglassubstrat getropft worden (6000 rpm, 120 s). Daraus resultiert eine dünne Benetzung der Glassubstratoberfläche, bestehend aus einem flüssigen Glycerinfilmm, der beim Abkühlen im Kryostaten in einen festen Aggregatzustand übergeht (Übergangstemperatur des Gemischs unbekannt).

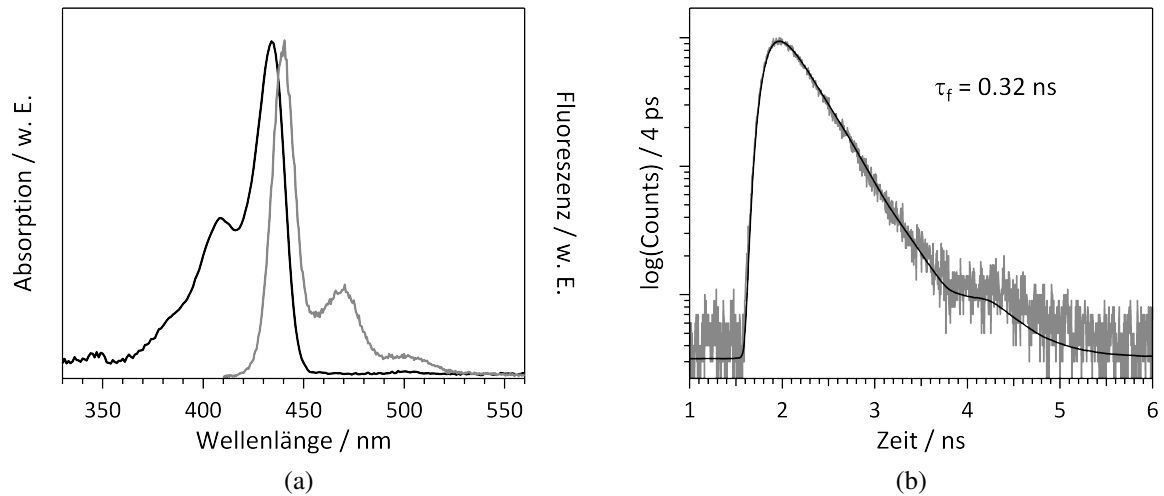
---

## 5 LPPentP

Bei dem untersuchten leiterartig verknüpften (*laddertype*) Poly(pentaphenylene) (LPPentP) handelt es sich um ein konjugiertes Polymer, das zu einer Gruppe von strukturverwandten Polyphenylenen gezählt werden kann, welche eine starke blaue Emission zeigen und potentielle Verbindungen für organische Leuchtdioden (*organic light emitting diode*; OLED) darstellen. Diese zeigen allerdings häufig durch Einfluss von Hitze oder Beleuchtung eine unerwünschte und bei deutlich niedrigeren Energien auftretende Emissionsbande, deren Ursprung nicht vollständig geklärt ist und kontrovers diskutiert wird [53,54]. In der Literatur werden Beobachtungen dieser Art in diesem Zusammenhang häufig universal mit dem Begriff 'green emission' betitelt. Zu den möglichen Ursachen zählen u.a. Photooxidationseffekte [50], wie Keto - Defekte entlang des Polymers [51, 52, 56, 57], an welchen strahlende Rekombination stattfinden könnten, ladungsgetrennte Zustände (*charge-transfer states*, CTS), Excimere [55, 59, 140] oder die Bildung von (J-/H-) Aggregaten, als Folge inter-/intramolekularer Aggregation [44, 45, 58]. Zur Erklärung der zeitlichen Dynamik werden häufig simultan auftretenden Konformationsänderungen angeführt.

LPPentP besitzt aufgrund der leiterartigen Verknüpfung der fünf Phenylringe eine vergleichsweise hohe Steifigkeit, wodurch die molekulare Flexibilität und somit auch strukturelle Relaxation eingeschränkt sind. Dies zeigt sich unter anderem in schmalen Absorptions- und Emissionsspektren sowie in der Möglichkeit rein elektronische Nullphononenlinien (*zero phonon lines*, ZPLs) bei kryogenen Temperaturen detektieren zu können [99, 123, 141].

Die folgenden Untersuchungen zwischen Raumtemperatur und 4.5 K liefern Erkenntnisse sowohl zu spektroskopischen und photophysikalischen Eigenschaften als auch zur spektralen Dynamik. Diese sollen es ermöglichen, weitere Rückschlüsse bezüglich der Ursachen der spektralen Verschiebungen von LPPentP ziehen zu können, auch vor dem Hintergrund der eingeschränkten Flexibilität und in Gegenüberstellung mit strukturverwandten Systemen aus der Literatur.



**Abbildung 5.1:** Absorptions- und Emissionsspektren ( $\lambda_{\text{exc}} = 405$  nm) (a) und Fluoreszenzabklingkurve (b) ( $\lambda_{\text{exc}} = 437$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz,  $\lambda_{\text{det}} = 470$  nm) von LPPentP in Toluol ( $c = 1.4 \cdot 10^{-4}$  g/l). Neben den Messdaten ist bei (b) der exponentielle Fit (schwarz) mit eingezeichnet. Die IRF ist aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt; die Halbwertsbreite (FWHM) dieser betrug 0.27 ns.

## 5.1 Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble

Abbildung 5.1a zeigt ein Absorptions- und Emissionsspektrum von LPPentP gelöst in Toluol. Anpassungen mit Gauß-Verteilungen ergaben, dass das Absorptionsmaximum und die anschließende Schwingungsbande des LPPentP bei 434 nm beziehungsweise 411 nm liegen. In der Emission liegen das Emissionsmaximum und dessen erste Schwingungsbande bei 440 nm beziehungsweise 468 nm. Die geringe Stokes-Verschiebung und die vergleichsweise schmalen Banden des  $\pi - \pi^*$ -Übergangs sind eine Folge der bereits angesprochenen Steifigkeit, die eine geringe geometrische Änderung zwischen Grund- und angeregtem Zustand sowie eine kleine Elektron-Phonon-Kopplung als Konsequenz hat [142–145]. Konjugierte Polymere mit höherer Flexibilität zeigen häufig insbesondere im Absorptionsspektrum eine gering ausgeprägte Struktur, beispielsweise aufgrund niederenergetischer, thermisch aktivierter Torsionsmoden im  $S_0$ -Zustand, die sich im  $S_1$ -Zustand zu höheren Energien verschieben und somit nicht mehr thermisch besetzt werden [142]. Ebenso kann eine verbreiterte Absorption auf eine breitere Verteilung von beteiligten Konjugationslängen bzw. absorbierenden Segmenten gegenüber der Emission hindeuten, da bei letzterer typischerweise stets hauptsächlich das Segment niedrigster Übergangsenergie emittiert (bei effizientem Energietransfer). Der vergleichsweise hohe Anteil des Hauptübergangs, sowohl im Absorptions- als auch im Emissionsspektrum, sind ein weiteres Merkmal für eine geringe Änderung der Kernabstände und der starren molekularen Struktur.

In Abbildung 5.1b ist die Fluoreszenzabklingkurve von LPPentP abgebildet. Aufgrund tech-

---

nischer Limitierungen erfolgte für die zeitaufgelöste Messung die Anregung innerhalb des Bereichs der Emission bei  $\lambda_{\text{exc}} = 437 \text{ nm}$  (Repetitionsrate = 20 MHz) und liegt damit spektral in der niederenergetischen Flanke des dominierenden Absorptionsübergangs. Die Detektion erfolgte bei  $\lambda_{\text{det}} = 470 \text{ nm}$  (Spaltbreite = 15 nm), der spektralen Lage der zweiten Emissionsbande entspricht. Die Abklingkurve wurde mittels einer Exponentialfunktion, unter Berücksichtigung der gemessenen IRF, angepasst und eine Fluoreszenzlebensdauer von  $\tau_f = 0.32 \text{ ns}$  ermittelt. Laquai et al. berichten zum Vergleich von einer Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f^{\text{Lit}} = 0.33 \text{ ns}$  (298 K, in MTHF) für ein ebenfalls leiterartig verknüpftes Poly(pentaphenylen) mit teilweise modifizierten Substituenten [54].

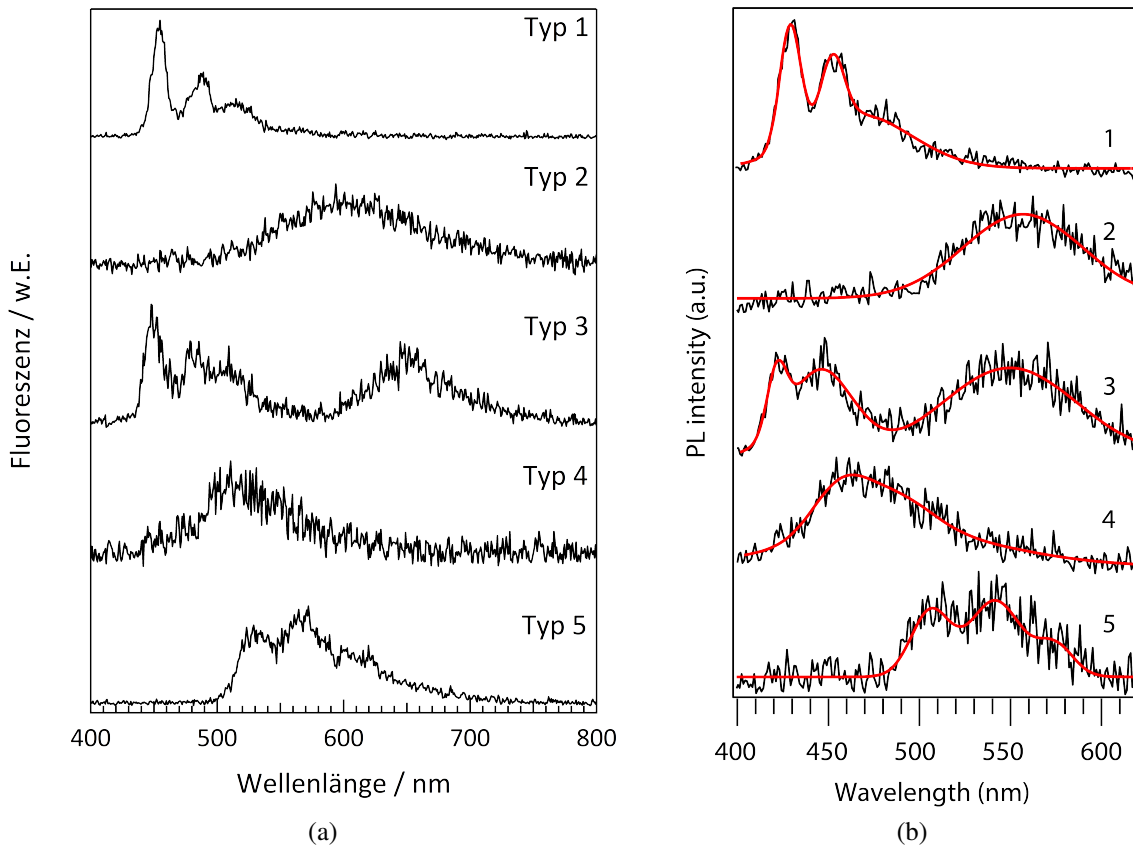
## 5.2 Einzelmolekülspektroskopie an LPPentP

Im Folgenden werden die spektroskopischen Eigenschaften einzelner LPPentP - Moleküle zunächst bei Raumtemperatur und darauf folgend zwischen 4.5 K und 200 K gezeigt.

Der erste Abschnitt stellt zunächst die unterschiedlichen Typen von Emissionsspektren vor, die bei den Untersuchungen der Einzelmolekülspektroskopie auftraten. Darauf folgt die Präsentation der Daten, die bei Raumtemperatur erhoben wurden und anschließend die Betrachtung der Ergebnisse bei Temperaturen zwischen 200 K und 4.5 K. Zu den spektroskopischen Studien werden außerdem noch Untersuchungen mit einem AFM gezeigt, bevor die Ergebnisse übergreifend diskutiert werden.

### 5.2.1 Klassifizierung der Spektrentypen

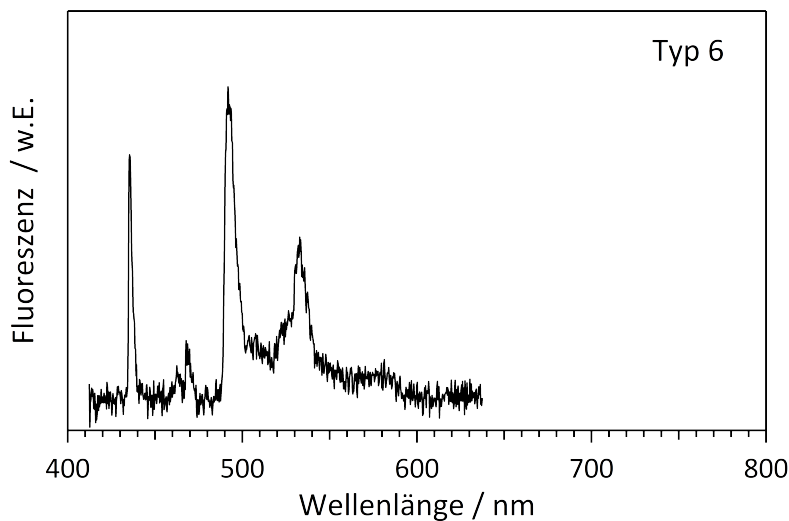
In diesem Abschnitt werden sechs unterschiedliche, charakteristische und repräsentative Spektrentypen vorgestellt, die bei den Messungen der Einzelmoleküle beobachtet wurden und nach denen eine Klassifizierung erfolgte. Neben der Emissionsstruktur des 'Typ 1', die dem Spektrum des Ensembles gleicht (s. Abb. 5.1a), mit einer vergleichsweise schmalbandigen vibronischen Struktur und vergleichbarer Energie des  $S_{1 \rightarrow 0}$ -Übergangs, ist bei Raumtemperatur noch zwischen vier weiteren Typen unterschieden worden ('Typ 2-5'). Beispielhafte Vertreter dieser insgesamt fünf Spektrentypen sind in Abbildung 5.2a dargestellt. 'Typ 1' ist dabei der Emission eines Exzitons mit Schwingungsprogression zuzuordnen. Die Typen 2 & 4 zeigen dagegen breite unstrukturierte Spektren, die unterschiedlich stark zu niedrigeren Energien verschoben sind ( $\Delta E_{\text{Typ2}} > \Delta E_{\text{Typ4}}$ ). Zudem sind Abweichungen im Intensitätsverlauf erkennbar: 'Typ 2' zeigte sich in der Regel breiter und weniger steil im Anstieg der kurzwelligen Flanke. Bei



**Abbildung 5.2:** (a) Die verschiedenen Typen von Emissionsspektren, die für einzelne LPPentP - Ketten in PMMA bei Raumtemperatur gefunden wurden. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.3 - 0.4 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$ ) (b) Fluoreszenzspektren von Poly[9,9-bis(3,6-dioxaheptyl)-fluoren-2,7-diy] (BDOH - PF) in Polymer bei Raumtemperatur von Honmou et al. [44]. Diese Spektren dienten als Vorlage für die Klassifizierung der LPPentP - Spektren in (a) ( $\lambda_{\text{exc}} = 375 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.6 \text{ W/cm}^2$ ). Modifiziert nach [44].

'Typ 3' scheint es sich um einen Mischtypus aus 'Typ 1' und 'Typ 2/4' zu handeln. Daher wird teilweise im Folgenden zwischen der hochenergetischen Bande ('Typ 3<sub>1,B</sub>'), die 'Typ 1' ähnelt, und der niederenergetischen Bande ('Typ 3<sub>2,B</sub>'), die 'Typ 2/4' gleicht, unterschieden. 'Typ 5' zeigt sich ebenfalls vergleichsweise breit und deutlich zu geringeren Energien verschoben, besitzt allerdings eine erkennbare Struktur. Diese Klassifizierung ist nach der Vorlage von Spektren aus einer Publikation von Honmou et al. [44] gewählt worden. In dieser sind Einzelmolekülspektren von einem Polyfluoren (Poly[9,9-bis(3,6-dioxaheptyl)-fluoren-2,7-diy] - BDOH-PF) gezeigt, die denen von LPPentP gleichen, wie die Gegenüberstellung von Abbildung 5.2a und 5.2b zeigt. Die Klassifizierung sollte es ermöglichen die verschiedenen Spektrentypen ob eines unterschiedlichen Ursprungs untersuchen zu können. Das Auftreten übereinstimmender Spektrentypen, bei Unterschieden in der chemischen Struktur, lässt im direkten Vergleich schon vor weiteren Analysen den Schluss zu, dass weder die Steifigkeit, resultierend aus der Anzahl der verbrückten Phenyleinheiten, noch die (unterschiedlichen) Sei-





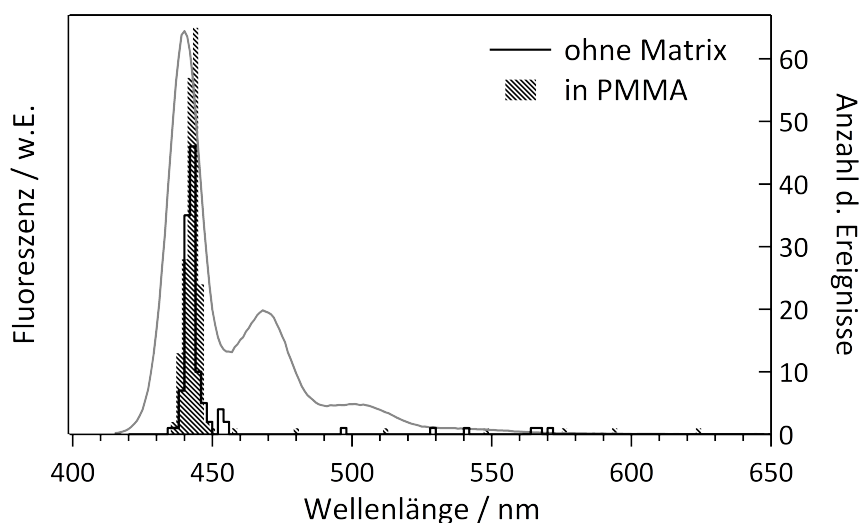
**Abbildung 5.3:** Beispielhaftes Fluoreszenzspektrum des eingeführten Typus 6 von LPPentP in PMMA, der bei 4.5 K zu beobachten war. Skalierung zum Vergleich gewählt, wie in Abbildung 5.2a. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.4 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 2 \text{ s}$ , gemittelt über 300 s)

tengruppen eine notwendige Bedingung für die Entstehung der verschiedenen Spektrentypen zu sein scheinen.

Bei tiefen Temperaturen ( $T = 4.5 \text{ K}$ ) ist ein weiterer Typus ('Typ 6') gefunden worden. Ein Beispielspektrum dieses Typs ist in Abbildung 5.3 zu sehen. Bei diesem Typus scheint es sich, wie bei 'Typ 3' zuvor, ebenfalls um einen Mischtypus zu handeln. Er besteht aus einer hochenergetischen Komponente, die 'Typ 1' (bei  $T = 4.5 \text{ K}$ ) gleicht und einer zu niedrigeren Energien verschobene Komponente, deren Emission sich ebenfalls strukturiert zeigt. Diese beiden Emissionskomponenten werden im Folgenden - analog zu 'Typ 3' - häufig getrennt betrachtet und mit 'Typ 6<sub>1,B</sub>' bzw. 'Typ 6<sub>2,B</sub>' bezeichnet. Solche Spektren sind bereits in vorherigen Arbeiten bei tiefen Temperaturen beobachtet worden [123, 141, 146].

## 5.2.2 Untersuchungen bei Raumtemperatur

Die im Folgenden vorgestellten Einzelmolekülexperimente bei Raumtemperatur sind zum überwiegenden Teil unter Anleitung des Verfassers von Jessica Muziol im Rahmen eines Forschungsmoduls durchgeführt worden. Es wurden sowohl Untersuchungen von LPPentP-Molekülen in einer festen Matrix (PMMA) als auch auf einem Glassubstrat (ohne Matrix) und jeweils unter Luft und Argonstrom durchgeführt, um etwaige Einflüsse dieser Faktoren zu prüfen. Dies wurde anhand der spektralen Lage der Fluoreszenz, aber insbesondere auch dem dynamischen Verhalten der Emissionsspektren verfolgt. In Abbildung 5.2a sind bereits typi-

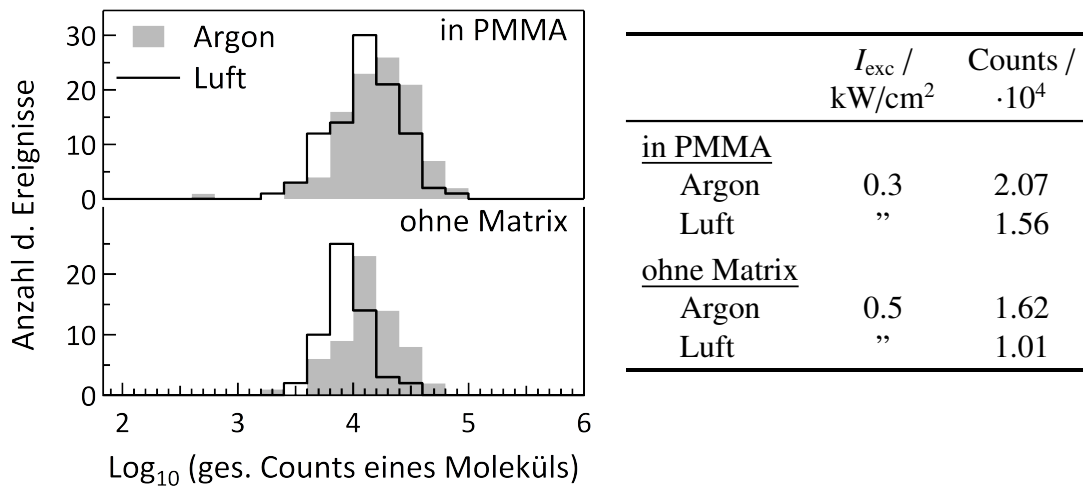


**Abbildung 5.4:** Histogramme zur spektralen Lage der Emissionsmaxima von LPPentP - Einzelmolekülen in einer PMMA - Matrix sowie ohne Matrix auf Borosilikatglas (Messungen unter Luft- und Argonstrom sind zusammengefasst. In PMMA: #96 (Luft) + #103 (Ar), ohne Matrix: #56 (Luft) + #63 (Ar)). Zudem ist das Emissionsspektrum aus der Ensemblemessung in Toluol mit abgebildet (grau, aus Abb. 5.1a). Die spektralen Lagen sind Tabelle 5.1 zu entnehmen.

sche Spektren von einzelnen LPPentP - Molekülen bei Raumtemperatur vorgestellt worden ('Typ 1-5'). Die Verteilung der spektralen Lagen dieser Messungen sind in Abbildung 5.4 dargestellt. Dabei wurde jeweils von dem ersten Spektrum eines Moleküls die Lage des höchstenergetischsten Übergangs ermittelt (entspricht nicht zwangsläufig dem Übergang mit höchster Intensität). Da zwischen den spektralen Lagen der Einzelmoleküle unter Luft zu denen unter Argonstrom kein signifikanter Unterschied zu erkennen war, sind die Ergebnisse für die unterschiedlichen Atmosphären in Abbildung 5.4 zusammengefasst. Durch die Anpassung der Daten mittels einer Gauß - Verteilung ergeben sich spektrale Lagen mit dazugehörigen Halbwertsbreiten, die Tabelle 5.1 zu entnehmen sind.

**Tabelle 5.1:** Lage der Emissionsmaxima und Halbwertsbreiten der in Abbildung 5.4 gezeigten Daten, ermittelt über die Anpassung durch Gauß-Verteilungen (nicht abgebildet). Die Messungen unter Luft- und Argonstrom sind hier zusammengefasst worden.

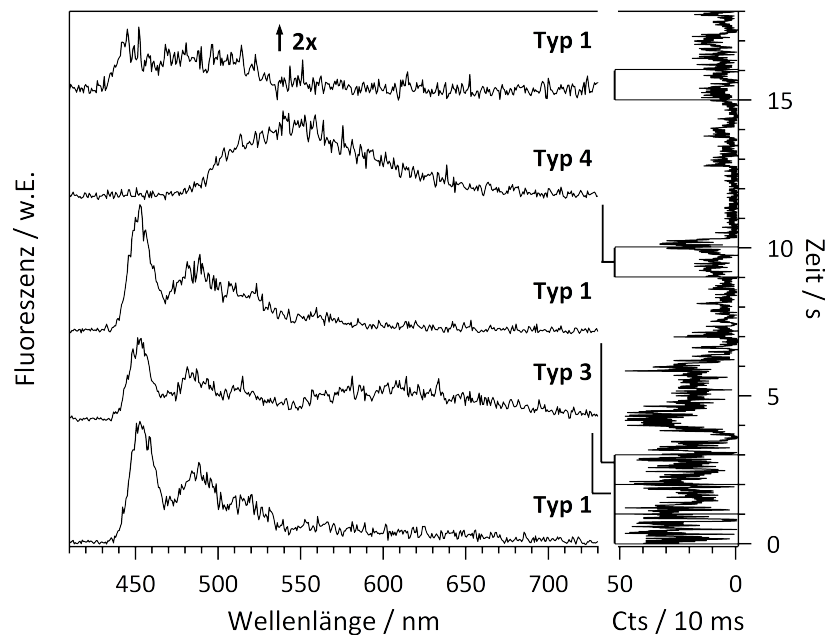
	in PMMA	ohne Matrix	Ensemble (Toluol)
$\lambda_{\max} / \text{nm}$	442	442	440
$(\text{cm}^{-1})$	(22646)	(22608)	(22725)
FWHM / $\text{cm}^{-1}$	221	189	743



**Abbildung 5.5:** Histogramme der aufsummierten detektierten Photonen über die gesamte Dauer der untergrundkorrigierten Fluoreszenzzeitpunkte von einzelnen LPPentP-Molekülen. In der Tabelle sind die Mittelwerte aufgelistet, ermittelt über die Anpassung der Histogramme mittels einer Normalverteilung.

### Einfluss von Sauerstoff auf die Photostabilität

In Abbildung 5.5 sind Histogramme zu den aufsummierten detektierten Photonen innerhalb einer gesamten Fluoreszenzzeitpunkte dargestellt. Da die Zeitpunkte untergrundkorrigiert wurden und alle Moleküle während der Messdauer geblichen sind, kann diese Darstellung für einen qualitativen Vergleich der Messungen unter Argonstrom sowie unter Luft herangezogen werden. Der Einfluss der Detektionseffizienz, die je nach Emissionslage des Spektrums leicht variieren kann, wurde hier vernachlässigt. Sowohl bei den Messreihen in PMMA als auch bei denen ohne Matrix ist eindeutig der Einfluss von Sauerstoff auf die Anzahl der detektierten Photonen zu sehen. Unter Luft verringert sich diese, was bekanntermaßen auf den Einfluss von Sauerstoff als möglichen *quencher* von Singulett- und Triplettzuständen zurückgeführt werden kann. Dabei entsteht reaktiver Singulett-Sauerstoff, der im Weiteren den Farbstoff oxidieren und somit zum Bleichen führen kann [29–32, 147]. Die Tatsache, dass der Vorgang des *quenchings* die Übergangsraten in ( $k_{ISC}$ ) sowie aus ( $k_T$ ) dem Triplett verkürzt und dadurch die Anzahl der emittierten Photonen pro Zeit beeinflusst, wurde an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt. Bei den Untersuchungen in PMMA ist an Luft die mittlere Anzahl der detektierten Photonen um 25 %, bei denen ohne Matrix um 38 % reduziert. Die Werte der Messungen in PMMA und ohne Matrix sind aufgrund der unterschiedlich verwendeten Anregungsintensitäten nur bedingt miteinander vergleichbar, deuten aber auf eine höhere Photostabilität in PMMA hin. Es kann an dieser Stelle für die nachfolgenden Betrachtungen zur spektralen Dynamik von LPPentP festgehalten werden, dass Wechselwirkung mit Sauerstoff stattfindet.



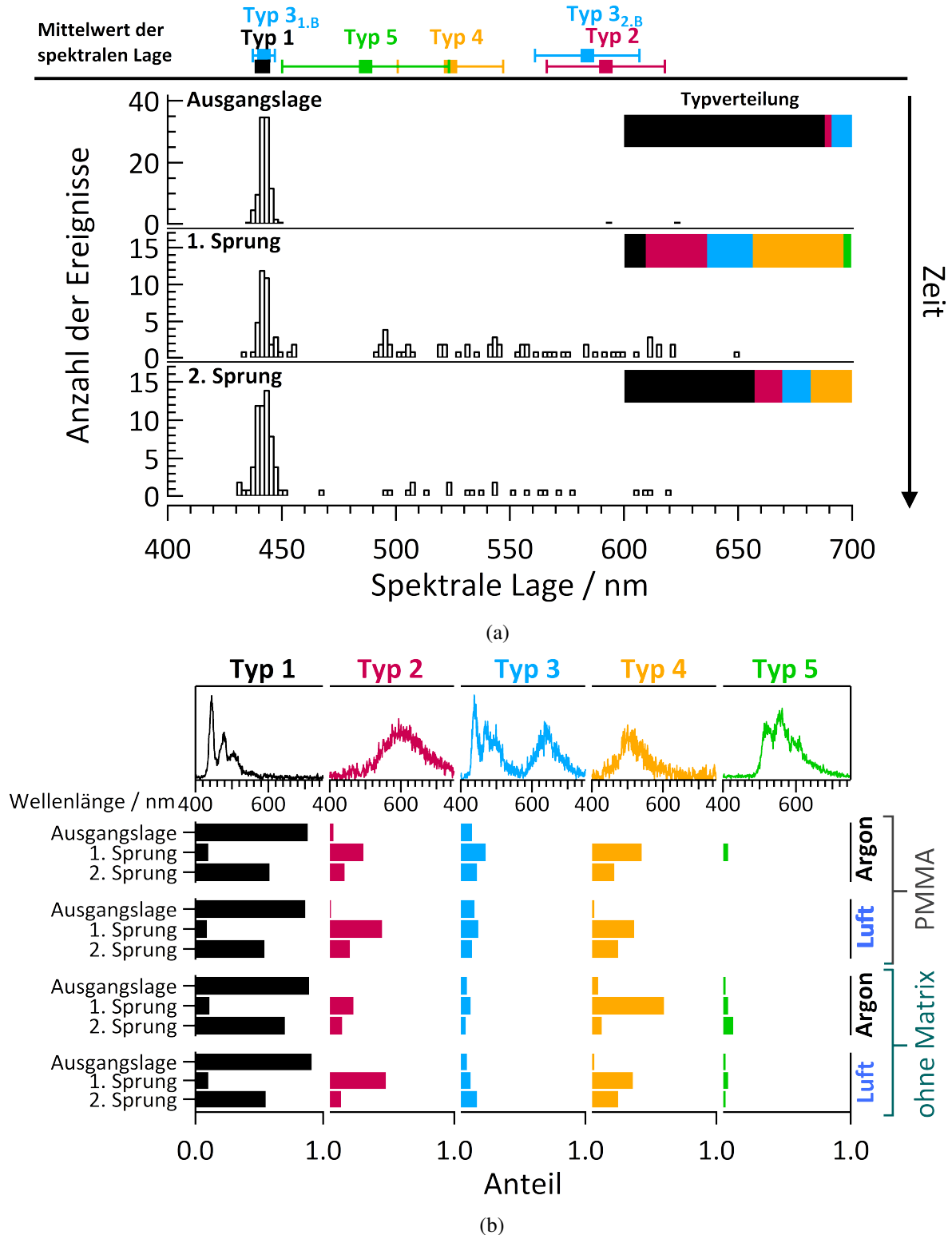
**Abbildung 5.6:** (a) Aufeinanderfolgende, spektrale Sprünge eines einzelnen LPPentP - Moleküls in PMMA unter Argon. Auf der rechten Seite ist vertikal die dazugehörige Zeitspur mit den Zeitfenstern der jeweiligen Spektren gekennzeichnet. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.3 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$ )

### Auftreten und zeitliche Entwicklung der Spektrentypen

In diesem Abschnitt wird die Dynamik des spektralen Verhaltens bei Raumtemperatur betrachtet. Dabei ist erwähnenswert, dass ausnahmslos alle LPPentP - Moleküle ein zeitlich veränderliches Spektrum zeigten. Ein Beispiel für vier aufeinanderfolgende spektrale Sprünge eines einzelnen LPPentP - Moleküls ist in Abbildung 5.6 zu sehen. Diese Beobachtung geht einher mit sequenziellem Bleichen und teilweise auch fluktuierender Fluoreszenzintensität, wie die Zeitspur der Fluoreszenz in derselben Abbildung (rechts, vertikal) zeigt. Vier weitere, repräsentative Fluoreszenzzeitspuren sind in Abbildung A.1 abgebildet und verdeutlichen das sequenzielle Bleichverhalten.

Zu Beginn einer Messung jedes einzelnen Moleküls war typischerweise zunächst der Spektrentyp 'Typ 1' zu beobachten. Im zeitlichen Verlauf der Fluoreszenz trat nach einiger Zeit der Anregung ein spektraler Sprung mit einem Wechsel des Spektrentypus auf. Vor dem Eintreten des finalen Photobleichens konnten dabei bis zu 13 spektrale Sprünge festgehalten werden. Für die Analyse wurde sich ausschließlich auf die Ausgangslage des jeweiligen Spektrums und die ersten beiden Sprünge (1. & 2. Sprung) beschränkt.

## 5.2.2 Untersuchungen bei Raumtemperatur



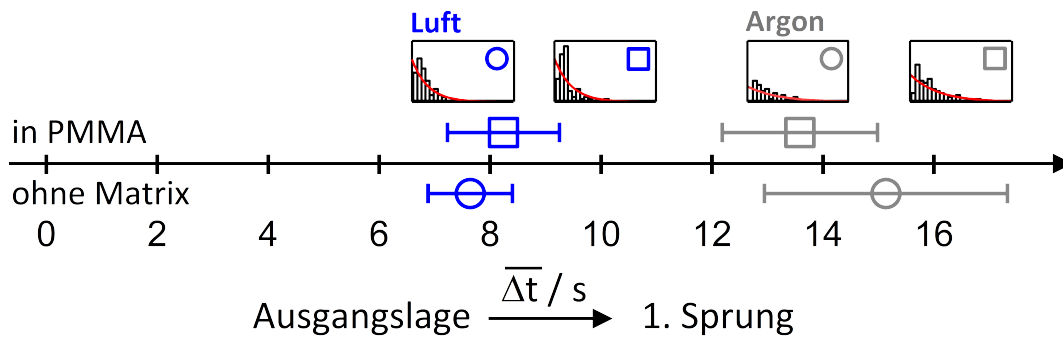
**Abbildung 5.7:** (a) Histogramme der spektralen Lage von LPPentP in PMMA, gemessen unter Argonstrom, zu Beginn der jeweiligen Zeitspur (Ausgangslage) und nach dem 1. sowie 2. spektralen Sprung. Die Blockdiagramme kennzeichnen farblich den Anteil der vorkommenden Spektrentypen. Oberhalb der Grafik sind die Mittelwerte inkl. Standardabweichung der Spektrentypen abgebildet (s. auch Tabelle 5.2). (b) Gegenüberstellung, wie sich die Verteilung der Spektrentypen bei den unterschiedlichen Messbedingungen zeigt. Die obersten drei Zeilen (in PMMA / Argonstrom) entsprechen daher den Balkendiagrammen in (a). Werte der Balken in Prozent sind in Tabelle A.3 eingetragen.

**Tabelle 5.2:** Spektrale Lagen der jeweils höchstenergetischsten Emissionsbande des jeweiligen Spektrentyps von LPPentP, ermittelt für die unterschiedlichen Messbedingungen. Für 'Typ 3' sind die Lagen der hochenergetischen ( $3_{1,B}$ ) und der niederenergetischen ( $3_{2,B}$ ) spektralen Komponente angegeben.

		Spektrale Lage 'Typ x' / nm					
		1	2	$3_{1,B}$	$3_{2,B}$	4	5
in PMMA	Argon	$442 \pm 4$	$588 \pm 36$	$442 \pm 6$	$584 \pm 23$	$524 \pm 23$	$487 \pm 37$
	Luft	$442 \pm 8$	$578 \pm 16$	$441 \pm 6$	$566 \pm 19$	$525 \pm 19$	-
ohne Matrix	Argon	$443 \pm 4$	$616 \pm 28$	$445 \pm 6$	$572 \pm 16$	$528 \pm 27$	$522 \pm 29$
	Luft	$442 \pm 3$	$588 \pm 23$	$441 \pm 3$	$564 \pm 15$	$530 \pm 21$	$506 \pm 14$

Für die Messungen in PMMA unter Argonstrom ist die spektrale Entwicklung durch die Lage der Emissionsmaxima in Abbildung 5.7a veranschaulicht. Die Mittelwerte dieser Lagen sind, aufgelöst nach Spektrentyp, oberhalb der Histogramme eingezeichnet und können zudem der Tabelle 5.2 entnommen werden. Zudem ist Abbildung 5.7a in Balkendiagrammen qualitativ gekennzeichnet, wie häufig welcher Spektrentyp in dem jeweiligen Histogramm vertreten ist. In der Ausgangslage ist das überwiegend 'Typ 1' (88 % in PMMA/Argon), was zu der Annahme führt, dass grundsätzlich zunächst alle LPPentP-Moleküle im 'Typ 1'-Zustand vorliegen und dem Ensemblespektrum in Lösung entsprechen. Bei Molekülen, die zu Beginn bereits einen anderen Spektrentyp zeigen, wird vermutet, dass bereits vor Messbeginn ein Sprung stattgefunden hat (beispielsweise bei Aufnahme der Fluoreszenzkarte). Abbildung 5.7a zeigt, dass eine schmale Verteilung der spektralen Ausgangslage vorliegt, wie es auch zuvor schon in den Histogrammen aus Abbildung 5.4 zu sehen war. Das anschließende dynamische Verhalten wird sowohl durch die Histogramme als auch durch die dazugehörigen Balkendiagramme deutlich. Die genauen Werte der Balkendiagramme können für alle Messbedingungen in Tabelle A.3 nachvollzogen werden. Es ist festzuhalten, dass ein großer Anteil der Moleküle ein reversibles Verhalten zeigt und daher nach zwei Sprüngen 'Typ 1' erneut dominierend vorliegt (58 % in PMMA/Argon). Ein irreversibles Verhalten konnte bei keinem der Spektrentypen beobachtet werden.

Abbildung 5.7b stellt ebenfalls das Auftreten der verschiedenen Spektrentypen in Balkendiagrammen dar. Hier sind nun die unterschiedlichen Messbedingungen gegenübergestellt, um herauszufinden, ob das Auftreten bestimmter Typen durch eine der Messbedingungen begünstigt oder benachteiligt wurde. Dieses scheint allerdings höchstens nur in geringem Maße der

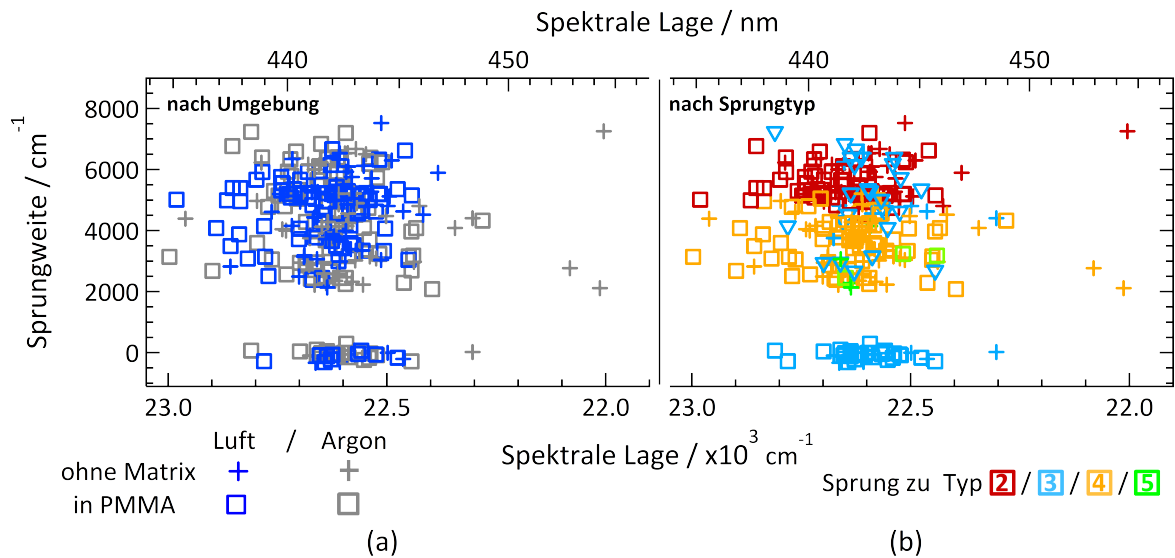


**Abbildung 5.8:** Mittlere Zeiten für die Dauer bis ein spektraler Sprung während der Messung eines Moleküls aufgetreten ist. Ermittelt wurden diese durch exponentielle Anpassungen an die oben dargestellten Histogramme. ( $I_{\text{exc}} = 0.3 \text{ kW/cm}^2$  (in PMMA),  $I_{\text{exc}} = 0.5 \text{ kW/cm}^2$  (ohne Matrix)).

Fall zu sein. Grundsätzlich zeigen die vier Messbedingungen untereinander keine sehr starken Unterschiede in den Verteilungen der Spektrentypen. Es ist demnach nicht eindeutig erkennbar, ob die An-/Abwesenheit einer Matrix einen entscheidenden Einfluss auf das Auftreten eines Typus hat. Das Vorkommen von 'Typ 5' betreffend scheint es einen leicht erhöhten Anteil bei den Messungen ohne Matrix zu geben. Dieser Typus tritt zwar grundsätzlich sehr selten auf, in PMMA an Luft allerdings nicht ein einziges Mal, obwohl für diese Messbedingung deutlich mehr Moleküle untersucht worden sind als bei den Untersuchungen ohne Matrix an Luft (in PMMA: #96 (Luft) & #103 (Ar), ohne Matrix: #56 (Luft) & #63 (Ar)). Bezüglich des Vergleichs der unterschiedlichen Atmosphären sind für 'Typ 2' und 'Typ 4' zumindest schwache und einheitliche Trends zu verzeichnen: Unter Luft zeigt sich das Vorkommen des 'Typ 2' leicht erhöht, das des 'Typ 4' dagegen vermindert (siehe Tabelle A.3).

Um dem Einfluss von Sauerstoff grundsätzlich weiter nachzugehen, ist in Abbildung 5.8 dargestellt, wie lange es im Mittel nach Beginn der Anregung dauerte, bis der erste spektrale Sprung - unabhängig vom Spektrentyp - auftrat. Es ist eindeutig ersichtlich, dass dies unter Luft deutlich schneller stattfand (in PMMA: 8.4 s (Luft) / 13.7 s (Argon); ohne Matrix: 7.9 s (Luft) / 15.1 s (Argon)). Die Werte sind durch exponentielle Anpassungen an die in Abbildung 5.8 gezeigten Histogramme ermittelt worden. Es sei jedoch angemerkt, dass dies nur qualitative Werte sind, welche die Daten nicht exakt beschreiben. Aufgrund der geringen Datenlage und breiten Verteilungen war es nicht möglich, die Sprungzeiten für jeden einzelnen Spektrentyp mit ausreichender Signifikanz zu bestimmen. Es zeigten sich im Mittel allerdings alle Werte unter Sauerstoffeinfluss deutlich verringert, sodass keine herausstechende Abweichung eines Typus erkannt werden konnte.

Bei Betrachtung der Sprungpfade, also den Pfaden zwischen welchen Spektrentypen Übergänge stattfanden und mit welcher Häufigkeit, fiel auf, dass alle Übergänge möglich zu sein schienen, außer der für 'Typ 3'  $\leftrightarrow$  'Typ 5' (siehe Anhang Abbildung A.4). Dies deutet mögli-



**Abbildung 5.9:** Alle Sprünge, die ausgehend von 'Typ 1' stattgefunden haben (insgesamt 89 %), dargestellt in zwei Variationen. (a) Auflösung nach Umgebung / Atmosphäre. (b) Adressierung zu welchem Typ der Sprung 'Typ 1' -> 'Typ x' stattgefunden hat (Luft und Argon-Messungen zusammen). Für 'Typ 3' ist hier sowohl die Sprungweite der hochenergetischen spektralen Komponente 'Typ 3<sub>1,B</sub>' (□) als auch die der niederenergetischen Komponente 'Typ 3<sub>2,B</sub>' (▽) eingetragen.

cherweise darauf hin, dass es sich hier um zwei unterschiedliche Zustände handelt, die nicht direkt in einander überführbar sind.

Wie bereits zuvor bemerkt worden ist, zeigten ausnahmslos alle Moleküle spektrale Sprünge. In vergleichbaren Studien eines strukturverwandten Polyfluorens ist dieses nur bei einem Teil der Moleküle beobachtet worden (27 - 29 %) [44, 45]. Für die Diskussion der möglichen Ursachen sei auf Kapitel 5.3 verwiesen.

Neben der Häufigkeit des Auftretens der unterschiedlichen Spektren ist auch die energetische Sprungweite betrachtet worden. Diese ist in Abbildung 5.9 in Abhängigkeit der spektralen Lage bei zuvor stattgefundener 'Typ 1' - Emission dargestellt. Um wieder etwaige Einflüsse der Messbedingungen betrachten zu können, sind die identischen Daten in zwei Varianten dar-

**Tabelle 5.3:** Mittelwerte mit dazugehöriger Standardabweichung der energetischen Sprungweiten zu den in Abbildung 5.9 abgebildeten spektralen Übergängen, ausgehend von einem vorherigem 'Typ 1' ('Typ 1' -> 'Typ x'). Werte ohne signifikanten Sprung sind grau eingetragen. Für das Ermitteln der Mittelwerte sind die Daten der unterschiedlichen Messumgebungen zusammengefasst worden (in PMMA / ohne Matrix, unter Luft / Argonstrom).

'Typ x'	2	3 <sub>1,B</sub> 3 <sub>2,B</sub>	4	5
$\overline{\Delta E_{1 \rightarrow x}} / \text{cm}^{-1}$	5568±626	-83±138 4949±1231	3572±824	2927±700

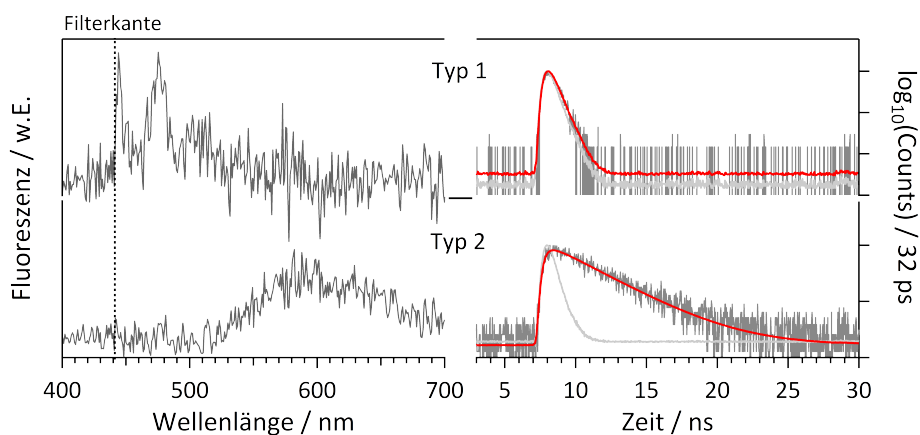


gestellt: Auf der linken Seite (a) lässt sich durch die farbliche Kodierung sowohl zwischen den Messungen in PMMA und ohne Matrix als auch zwischen denen an Luft und unter Argonstrom unterscheiden. In dieser Darstellung sind keinerlei signifikante Unterschiede in der Verteilung der Sprünge bezüglich der variierten Messbedingungen zu erkennen. Daher ist in einer alternativen Darstellung, auf der rechten Seite (b) der Abbildung 5.9, nicht zwischen den Atmosphären unterschieden worden, sondern ist farblich gekennzeichnet, welchem Übergang ('Typ 1' → 'Typ x') der jeweilige spektrale Sprung zuzuordnen ist. Daraus ergeben sich zwei Gruppen: Die erste besteht aus Sprüngen zu 'Typ 3<sub>1.B</sub>', bei denen sich die spektrale Lage (des höchstenergetischsten Übergangs im Emissionsspektrum) unwesentlich ändert. Die zweite, abgegrenzt durch eine Energielücke von  $\approx 2000 \text{ cm}^{-1}$  beinhaltet Übergänge in die übrigen Spektrentypen inklusive der niederenergetischen Emissionskomponente von 'Typ 3' ('Typ 3<sub>2.B</sub>'). Diese finden in einem Bereich zwischen  $2000 \text{ cm}^{-1}$  und  $8000 \text{ cm}^{-1}$  statt. Die Mittelwerte inklusive deren Standardabweichungen, aufgelöst für die verschiedenen Spektrentypen, sind in Tabelle 5.3 eingetragen.

### 5.2.3 Untersuchungen zur Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer

Um die Fluoreszenzlebensdauer in Abhängigkeit des spektralen Verhaltens analysieren zu können, sind die bisher vorgestellten Untersuchungen ebenfalls mit einem gepulsten Laser durchgeführt worden. Aufgrund technischer Limitierungen war es dabei nicht möglich, mit der bisherigen Anregungswellenlänge von 405 nm zu arbeiten. Stattdessen ist die Anregung mit  $\lambda_{\text{exc}} = 437 \text{ nm}$  (Repetitionsrate = 20 MHz) in die Hauptbande der Absorption erfolgt (vergleiche Abbildung 5.1a). In der Konsequenz führt dies zu einer Beschneidung der Fluoreszenz (Filterkante in Detektion  $\approx 442 \text{ nm}$ ), zumindest von 'Typ 1' & 'Typ 3' (siehe Abbildung 5.10). Zudem hatte die gepulste Anregung zur Folge, dass die Moleküle sich sowohl weniger photostabil als auch spektral instabiler zeigten. Mit einer deutlich geringeren Anregungsintensität von  $\approx 0.05 \text{ kW/cm}^2$  ist bei den Untersuchungen ein vermeintliches Optimum für das konkurrierende Zusammenspiel von möglichst langer Integrationszeit und erzielbarer Emissionsrate gewählt worden. Die genaue Zuordnung der Spektren zu den verschiedenen Spektrentypen gestaltete sich aufgrund der genannten Punkte als schwierig und konnte nur in 63 % der Fälle (210/331 Molekülen) erfolgen. Abbildung 5.10 zeigt auf der linken Seite zwei Beispielspektren unterschiedlicher Moleküle mit den jeweilig simultan detektierten Fluoreszenzzerfällen auf der rechten Seite.

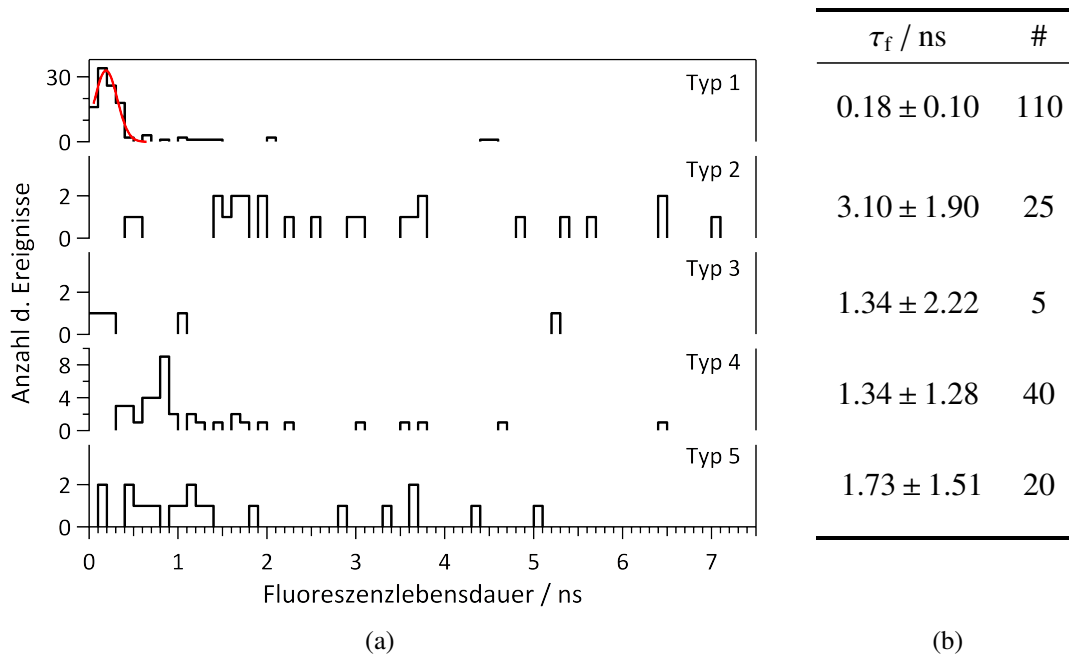
Vergleicht man die Verteilungen der vorkommenden Spektrentypen der zeitaufgelösten und der bereits vorgestellten cw - Messungen aus Abbildung 5.7, kann bei genauerer Überprüfung ein übereinstimmendes Verhalten erkannt werden (siehe Tabelle A.3). Die zunächst auffällige



**Abbildung 5.10:** Zwei Beispielspektren unterschiedlicher LPPentP-Moleküle (links) und dazugehörige Fluoreszenzzerfälle (rechts) für die zeitaufgelösten Messungen an LPPentP, hier in PMMA an Luft. Die Fluoreszenzzerfälle (dunkelgrau) wurden, unter Berücksichtigung der IRF (hellgrau), exponentiell angepasst und ergeben Zerfallszeiten von  $\tau_f = 0.33$  ns ('Typ 1') bzw.  $\tau_f = 3.18$  ns ('Typ 2'). ( $\lambda_{exc} = 437$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{exc} = 0.05$  kW/cm<sup>2</sup>, Spektren:  $t_{int} = 1$  s ('Typ 1' über 50 s, 'Typ 2' über 40 s gemittelt))

Tatsache, dass in der Ausgangslage 'Typ 1' um 27 % - 36 % weniger häufig vorliegt, kann mit der bereits angesprochenen geringeren spektralen Stabilität bzw. der höheren Sprungdynamik erklärt werden. Es ist daher davon auszugehen, dass diese Diskrepanz der beiden Messungen bedingt ist durch bereits während der Aufnahme der Fluoreszenzkarte induzierte spektrale Sprünge. Wie bei den Messungen unter cw - Anregung zuvor, konnte erneut ein leicht erhöhtes Vorkommen des 'Typ 2' unter Sauerstoffeinfluss bestätigt werden. Ebenfalls ist erneut ein entgegengesetztes Verhalten für die Häufigkeit von 'Typ 4', diese zeigte sich bei allen Messungen unter Luft leicht verringert.

Da aus den bisherigen Ergebnissen bereits festgehalten werden kann, dass die Unterschiede im Verhalten bei den verschiedenen Messbedingungen (PMMA/ohne Matrix & Argon/Luft) zumindest gering ausfallen und aufgrund der ansonsten zu geringen Statistik, wurden für die Analyse der Fluoreszenzlebenszeiten im Folgenden die Ergebnisse aller untersuchten Moleküle - unabhängig von den Messbedingungen - zusammengefasst (Anzahl d. Moleküle in PMMA: 75 (Argon) / 47 (Luft), ohne Matrix: 45 (Argon) / 43 (Luft)). Die ermittelten Lebenszeiten sind in Abhängigkeit des zugeordneten Spektrentyps in den Histogrammen der Abbildung 5.11a dargestellt; Abbildung 5.11b beinhaltet die zugehörigen Mittelwerte. Der Wert des 'Typ 3' hat allerdings aufgrund der geringen Anzahl von Messdaten keine signifikante Aussagekraft. Für den 'Typ 1' ist als einziges eine signifikante Häufung der Ergebnisse zu erkennen und über die Anpassung einer Normalverteilung ein Mittelwert von  $\tau_{f,1} = (0.18 \pm 0.10)$  ns bestimmt worden. Alle übrigen Werte zeigen sich breit verteilt, weshalb für diese jeweils das arithmetische Mittel angegeben ist. Im Vergleich ist zu sehen, dass die Fluoreszenzlebensdauer des 'Typ 1' deutlich kürzer ist als die der übrigen Spektrentypen. 'Typ 1' zeigt sich daher ebenfalls bezüglich der

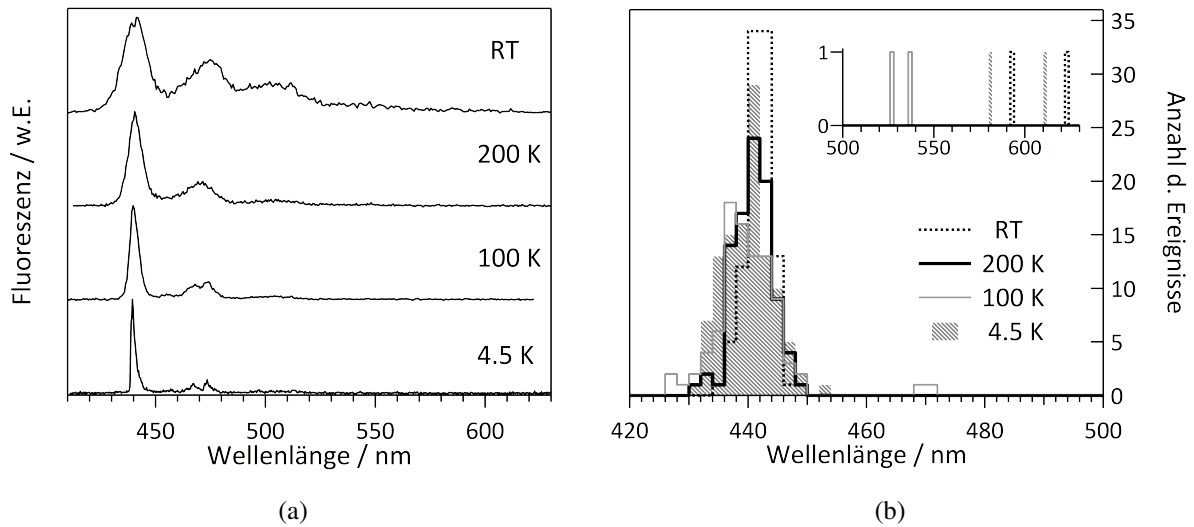


**Abbildung 5.11:** (a) Fluoreszenzlebensdauern bei Raumtemperatur, den verschiedenen Spektrentypen von LP-PentP zugeordnet. Für die Histogramme sind die Messungen in PMMA und ohne Matrix zusammengefasst worden, ebenso wurde nicht zwischen der Atmosphäre (Luft / Argon) unterschieden (Anzahl aller Ereignisse: 217). (b) Mittelwerte der Histogramme. Für 'Typ 1' ergibt sich diese aus der in (a) gezeigten Normalverteilung, bei welcher der zugehörige Fehler über die Klassenbreite des Histogramms abgeschätzt wurde. Die übrigen Werte entsprechen den zugehörigen arithmetischen Mittelwerten mit deren Standardabweichungen.

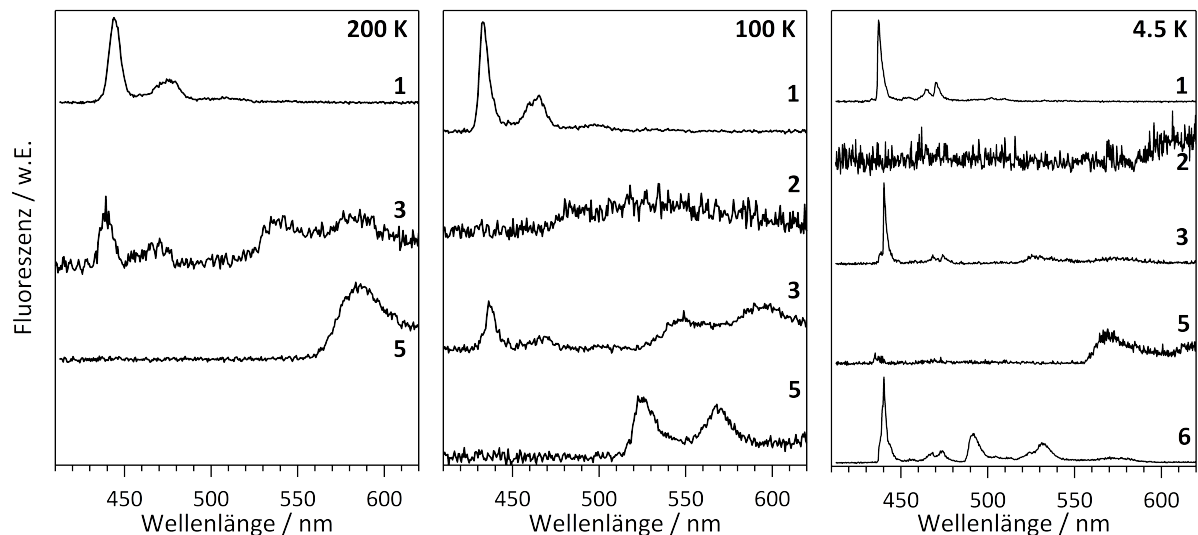
Fluoreszenzlebensdauer, analog zu der spektralen Lage und Verteilung, am nächsten an den bereits gezeigten Ensemblemessungen in Lösung ( $\tau_f = 0.32$  ns, siehe Abbildung 5.1b).

## 5.2.4 Messungen bei tiefen Temperaturen

Neben den Untersuchungen bei Raumtemperatur wurden ebenfalls Messungen bei 200 K, 100 K sowie 4.5 K durchgeführt. Alle Ergebnisse bei diesen Temperaturen sind an LPPentP in PMMA unter abgeschlossener Heliumatmosphäre ( $p/T \approx 0.14$  mbar/K) im Tieftemperaturaufbau erzielt worden. Abbildung 5.12a zeigt beispielhaft Spektren des 'Typ 1' von verschiedenen LPPentP - Molekülen bei den genannten Temperaturen im Vergleich. Es ist gut zu sehen, wie die thermische Verbreiterung der Emission zu niedrigeren Temperaturen abnimmt. In Abbildung 5.12b sind die zugehörigen Verteilungen der jeweiligen spektralen Lagen der kurzwelligsten Emissionsbande eines jeden Moleküls dargestellt. Die Verteilung für Raumtemperatur stammt dabei von den zuvor gezeigten Ergebnissen in PMMA (siehe Abbildung 5.4). Die Maxima der Histogramme liegen mit dem Fehler einer halben Klassenbreite bei  $(442 \pm 1)$  nm (RT),  $(441 \pm 1)$  nm (200 K),  $(440 \pm 1)$  nm (100 K, 4.5 K) und zeigen sich somit übereinstimmend und



**Abbildung 5.12:** (a) Normierte Spektren einzelner LPPentP - Molekülen in PMMA bei unterschiedlichen Temperaturen. Zu Illustrationszwecken sind die Spektren teilweise mit einem Offset bezüglich der Wellenlänge versehen worden. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} \approx 0.4 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 3 \times 1 \text{ s}$  (300 K) /  $10 \times 1 \text{ s}$  (200 K, 100 K),  $5 \times 2 \text{ s}$  (4.5 K)) (b) Histogramme zu den spektralen Lagen der jeweils höchstenergetischsten Emissionsbande von LPPentP in PMMA. Die Verteilung bei Raumtemperatur wurde bereits in Abbildung 5.4 gezeigt. Der Einsatz zeigt die Ereignisse bei höheren Wellenlängen, außerhalb des dargestellten Bereichs.



**Abbildung 5.13:** Normierte Beispielspektren von unterschiedlichen LPPentP - Molekülen in PMMA unter Heliumatmosphäre eines jeden Spektrentyps, welcher bei der jeweiligen Temperatur mindestens ein Mal zu beobachten war. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} \approx 0.4 \text{ kW/cm}^2$ )

## 5.2.4 Messungen bei tiefen Temperaturen

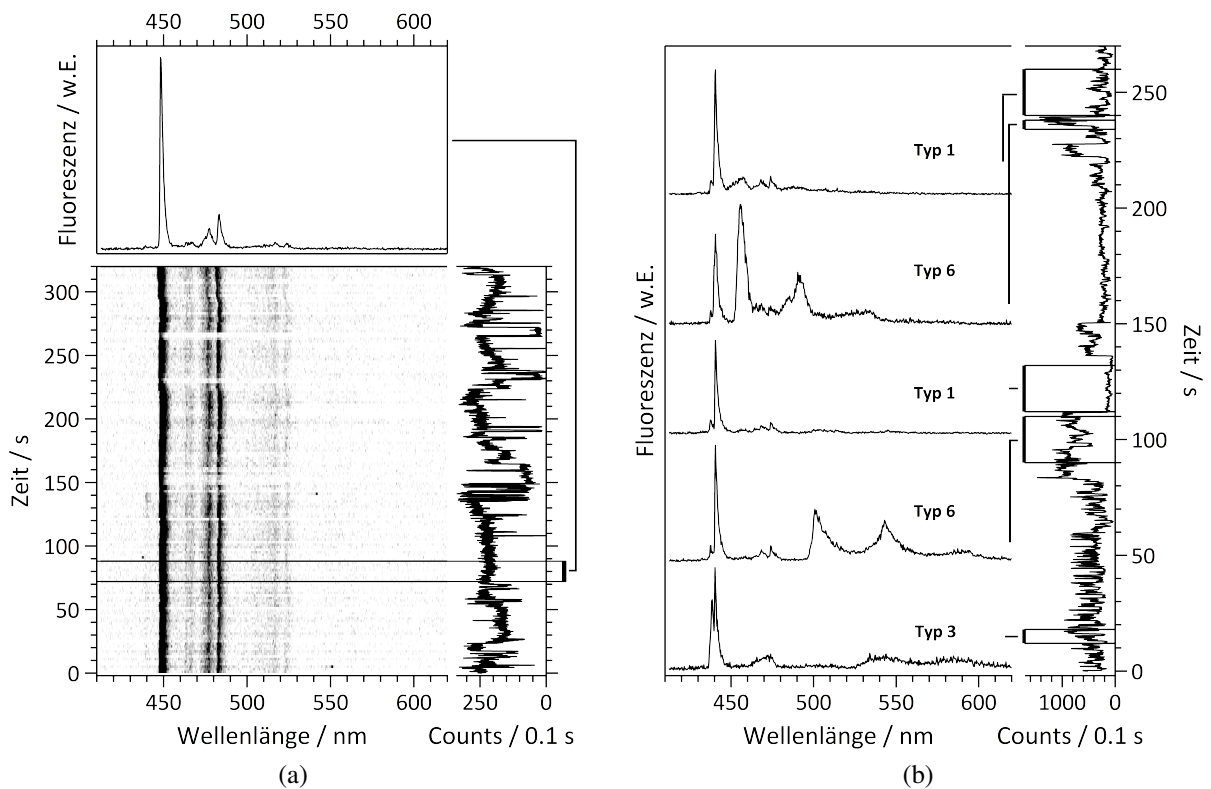
**Tabelle 5.4:** Mittelwerte für die Lagen der kurzwelligsten Emissionsbande von LPPentP in PMMA (bei Raumtemperatur (RT) unter Argonstrom; Heliumatmosphäre für  $T \leq 200$  K bei  $p/T \approx 0.14$  mbar/K) der jeweiligen Spektrentypen, ermittelt aus den Spektren in Ausgangslage, nach dem 1. Sprung und nach dem 2. Sprung. Für die Mischtypen 'Typ 3' und 'Typ 6' sind sowohl die Lagen der kurzwelligen (1.B) als auch die der langwelligen (2.B) Emissionskomponenten angegeben. Wenn keine Standardabweichung als Fehler eingetragen ist, liegt dem Wert nur ein Datenpunkt zugrunde.

		Spektrale Lage 'Typ x' / nm					
		1	2	3 <sub>1.B</sub> 3 <sub>2.B</sub>	4	5	6 <sub>1.B</sub> 6 <sub>2.B</sub>
in PMMA	RT	442±4	592±26	442±6 584±23	524±23	487±37	-
	200 K	441±3	-	439±2 521±54	-	524±46	-
	100 K	440±5	526±13	443±11 528±41	-	510±28	-
	4.5 K	440±4	612	436±6 555±39	-	560±37	440±4 495±27

temperaturunabhängig.

Wie bereits bei Raumtemperatur zuvor geschehen, soll nun das Auftreten und Vorkommen der unterschiedlichen Spektrentypen beziehungsweise das zeitlich veränderliche, spektrale Verhalten der Fluoreszenz betrachtet werden. Diese zeigte sich für alle Untersuchungen bei  $T \leq 200$  K zeitlich deutlich stabiler und es waren signifikant weniger spektrale Sprünge zu beobachten, als es bei Raumtemperatur der Fall war. Zudem konnte bei keiner der Temperaturen  $\leq 200$  K ein Spektrum aller Typen 1 - 5 beobachtet werden. Wie bereits bei der Vorstellung Spektrentypen in Abschnitt 5.2.1 erwähnt worden ist, trat dagegen bei 4.5 K ein (vermeintlich) zusätzlicher 'Typ 6' auf. Dieser ist bereits in früheren Veröffentlichungen beobachtet worden [99, 123, 141]. Ob es sich dabei tatsächlich um einen zusätzlichen Typus handelt, wird in Abschnitt 5.3 diskutiert. Abbildung 5.13 zeigt zunächst eine Auswahl von Spektren derjenigen Typen, die bei den jeweiligen Temperaturen zu beobachten waren. Die dazugehörigen mittleren spektralen Lagen können für die jeweilige Temperatur der Tabelle 5.4 entnommen werden.

Hinsichtlich der spektralen Dynamik zeigt Abbildung 5.14 beispielhaft von zwei einzelnen Molekülen die zeitliche Entwicklung der Fluoreszenz bei 4.5 K. Die Darstellung in Abbildung 5.14a ist repräsentativ für die meisten Moleküle bei dieser Temperatur. Zwar sind in der Zeitspur der gesamten Fluoreszenz (Counts, vertikal aufgetragen) Fluktuationen zu beobachten, spektral dagegen zeigt sich eine vergleichsweise gleichbleibende Emission des 'Typ 1'. Die Fluoreszenz des Moleküls in Abbildung 5.14b ist stellvertretend für einen weniger häufig aufgetretenen Fall und zeigt eindeutig eine zeitlich spektrale Dynamik. Aus der Fluoreszenz-



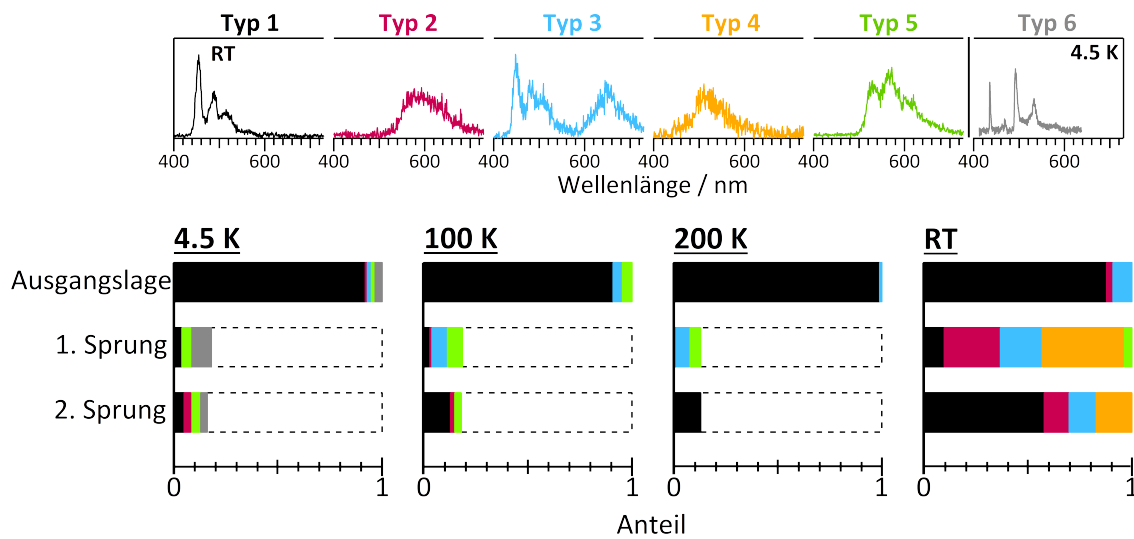
**Abbildung 5.14:** Zwei Beispiele der zeitlich aufgezeichneten Fluoreszenz eines einzelnen LPPentP-Moleküls in PMMA bei 4.5 K. (a) Repräsentatives Spektrum (oben). Darunter ist die Fluoreszenz in Abhängigkeit der Zeit dargestellt: Auf der linken Seite spektral aufgelöst, rechts (vertikal) die summierte Fluoreszenz. (b) Beispiel für eines der wenigen Moleküle, die ein zeitlich dynamisches spekttrales Verhalten zeigten. Vertikal (rechts) ist ebenfalls die summierte Fluoreszenz in Abhängigkeit der Zeit gezeigt. Links sind Spektren aus gekennzeichneten Zeitbereichen dargestellt. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} \approx 0.4 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$ , gemittelte Spektren auf 1 s normiert)

zeitspur sind fünf gekennzeichnete Zeitbereiche ausgewählt und die dazugehörigen Spektren dargestellt, inklusive der Zuordnung des Spektrentyps.

Neben den bisher vorgestellten Emissionstypen war bei 4.5 K, aufgrund der schmalbandigen Emission des 'Typ 1', zudem mit einem signifikanten Anteil multichromophore Emission ( $\approx 18 \%$ ) zu beobachten. Diese ist, aufgrund des spektralen Charakters und der spektralen Lage, ebenfalls als 'Typ 1' gewertet worden. Zu sehen ist diese auch in Abbildung 5.14b im (zeitlich) ersten gezeigten Spektrum. Aufgrund der simultan auftretenden charakteristischen, langwelligeren Emission, ist folglich hier eine Zuordnung zu 'Typ 3' gewählt worden.

Analog zu den Untersuchungen bei Raumtemperatur zuvor, sind erneut die ersten drei aufeinanderfolgenden Spektrentypen (Ausgangslage, 1. Sprung, 2. Sprung) eines jeden Moleküls kategorisiert worden. Das Ergebnis ist in Abbildung 5.15 gezeigt, indem Balkendiagramme das prozentuale Vorkommen der Spektrentypen für die Ausgangslage, nach dem 1. Sprung und nach dem 2. Sprung abbilden (analog zu den Daten bei Raumtemperatur aus Abbildung 5.7b). Es fällt auf, dass zwischen 4.5 K und 200 K (in Heliumatmosphäre) nur 13-18 % der Moleküle

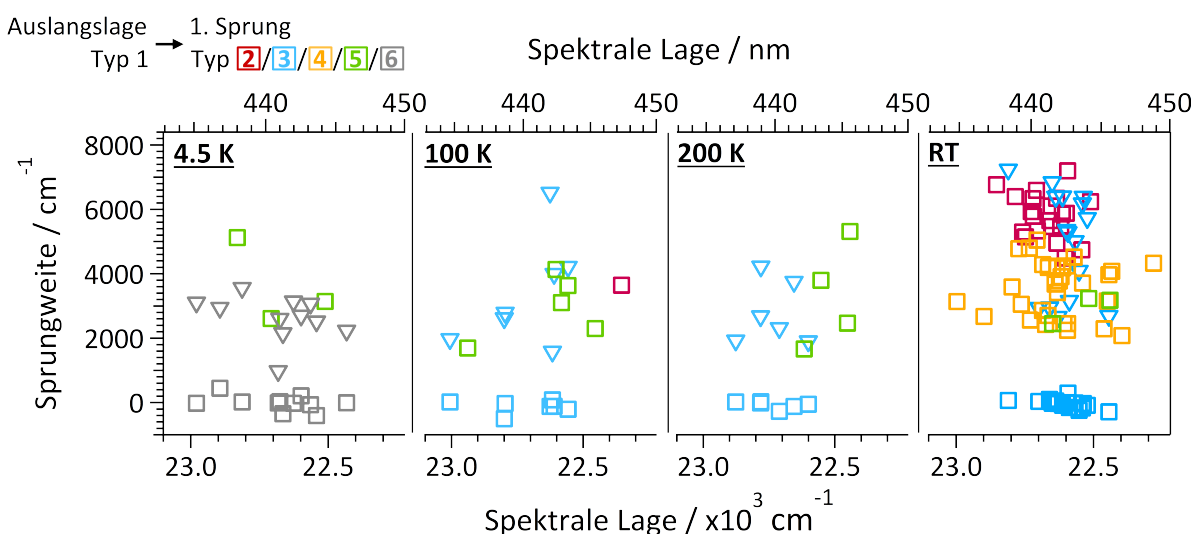
## 5.2.4 Messungen bei tiefen Temperaturen



**Abbildung 5.15:** (a) Balkendiagramme zur Verteilung der Spektrentypen von LPPentP in PMMA in Heliumatmosphäre (4.5 K, 100 K, 200 K) oder unter Argon (RT) bei unterschiedlichen Temperaturen für die Ausgangslage und die folgenden zwei spektralen Sprünge. Der gestrichelte Balken repräsentiert den Anteil der Moleküle, die keinen Sprung gezeigt haben. Die exakten Werte zu den prozentualen Balkengrößen sind Tabelle A.4 zu entnehmen. Oberhalb der Balkendiagramme sind erneut exemplarisch Spektren für die unterschiedlichen Typen gezeigt. Die Gesamtzahl ausgewerteter Moleküle in jeweiliger Ausgangslage betrug #103 (RT), #93 (200 K), #92 (100 K) und #114 (4.5 K). Die Daten bei Raumtemperatur sind aus Abbildung 5.7b übernommen worden.

eine Spektrentypveränderung bzw. einen spektralen Sprung aufwiesen. Demnach zeigten 82 - 87 % der Moleküle (gestrichelten Balken) keine signifikante spektrale Dynamik, wogegen bei Raumtemperatur stets spektrale Sprünge zu beobachten waren.

Neben den niedrigeren Temperaturen im Kryostaten ist im Vergleich zu den Raumtemperaturmessungen auch die Atmosphäre stark verändert. Durch das Evakuieren und anschließende Belüften des Probenraums mit Helium als Austauschgas liegt eine sehr sauerstoffarme Atmosphäre vor, vermutlich ärmer, als bei den Untersuchungen im Argonstrom bei Raumtemperatur. Vermutlich sind aus diesem Grund und den geringeren Temperaturen die Moleküle in der Regel nicht innerhalb der Messdauer von durchschnittlich 152 s final geblieben. Bei Raumtemperatur ist dagegen im Mittel über 83 s gemessen worden und innerhalb der jeweiligen Messdauer das Molekül immer vollständig geblieben. Es ist daher prinzipiell möglich, dass bei den Untersuchungen mit  $T \leq 200$  K Sprünge erst auf deutlich längeren Zeitskalen stattgefunden hätten. Dieses scheint allerdings nicht sehr wahrscheinlich, da auch stichprobenartig längere Messungen (bis zu 670 s) gemacht worden sind, die keine Indizien dafür zeigten. Beim Betrachten der Fluoreszenzzeit Spuren fiel zudem auf, dass sich diese anders verhielten als bei Raumtemperatur. Dort war ein konsekutives Bleichen zu beobachten (siehe Abbildung 5.6 und A.1), wogegen bei tieferen Temperaturen die Emissionsrate nicht selten über viele Sekunden konstant war und teilweise auch in der Intensität zunahm (siehe Fluoreszenzzeit Spuren bei 4.5 K in Abbildung 5.14 und A.2).



**Abbildung 5.16:** Analog zu den gezeigten Ergebnissen bei Raumtemperatur (siehe Abbildung 5.9) sind hier die energetischen Sprungweiten ausgehend von einer 'Typ 1' - Emission in Ausgangslage dargestellt ('Typ 1' → 'Typ x').

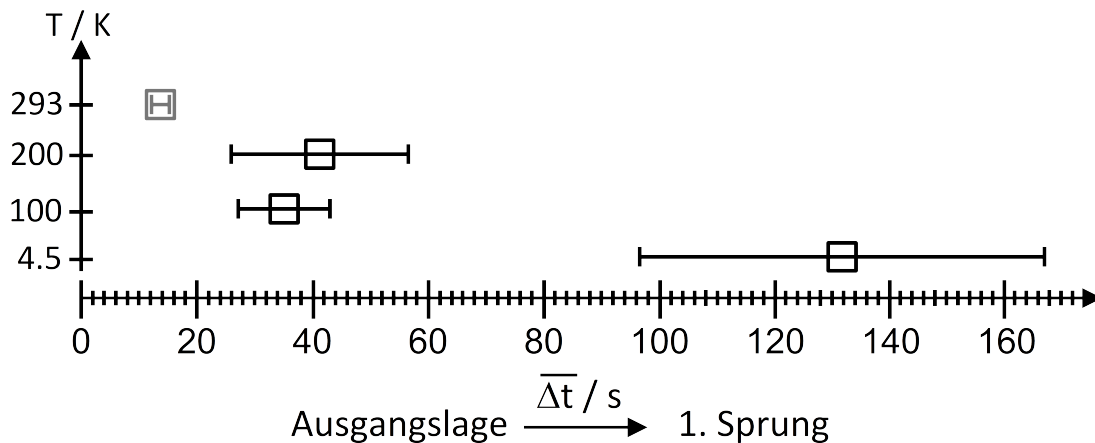
Abbildung 5.16 zeigt erneut die energetischen Sprungweiten, ausgehend von 'Typ 1' (analog zu den bereits gezeigten in Abbildung 5.9 bei Raumtemperatur). Von diesen sind die Werte für in PMMA und unter Argonstrom bei Raumtemperatur ebenfalls mit angegeben. Hier werden die Unterschiede zu den Daten bei Raumtemperatur bezüglich der verringerten Dynamik ebenfalls sichtbar: Es sind deutlich weniger energiereiche spektrale Sprünge zu beobachten. Die wenigen Sprünge, welche zu beobachten waren, liegen energetisch allerdings in einem vergleichbaren Bereich wie bei den Raumtemperaturuntersuchungen zuvor (Mittelwerte in Tabelle A.5).

Die verringerte spektrale Dynamik wird ebenfalls ersichtlich, wenn man erneut die mittleren Sprungzeiten betrachtet, also die Zeitdauer bis zum Stattfinden des ersten spektralen Sprungs. Dies wurde für die Untersuchungen bei Raumtemperatur bereits in Abbildung 5.8 gezeigt. Aus dieser ist der Wert für die Messung in PMMA unter Argonstrom ( $t_{RT} = (14 \pm 2) \text{ s}$ ) zusammen mit den ermittelten Sprungzeiten für die Temperaturen unterhalb der Raumtemperatur zusammen in Abbildung 5.17 dargestellt ( $t_{200\text{K}} = (41 \pm 15) \text{ s}$ ,  $t_{100\text{K}} = (35 \pm 8) \text{ s}$ ,  $t_{4.5\text{K}} = (132 \pm 35) \text{ s}$ ). Bei 200 K und 100 K verlängerte sich die Zeit bis zum ersten Sprung um etwa einen Faktor 3 bzw. 2 und bei 4.5 K um etwa einen Faktor 10 gegenüber dem Wert bei Raumtemperatur.

### 5.2.5 Untersuchungen mit dem AFM

Um Aufschlüsse über die Morphologie von LPPentP - Molekülen zu erhalten, sind von M. Galle Untersuchungen mit einem *atomic force microscope* (AFM) durchgeführt worden. Bei dem

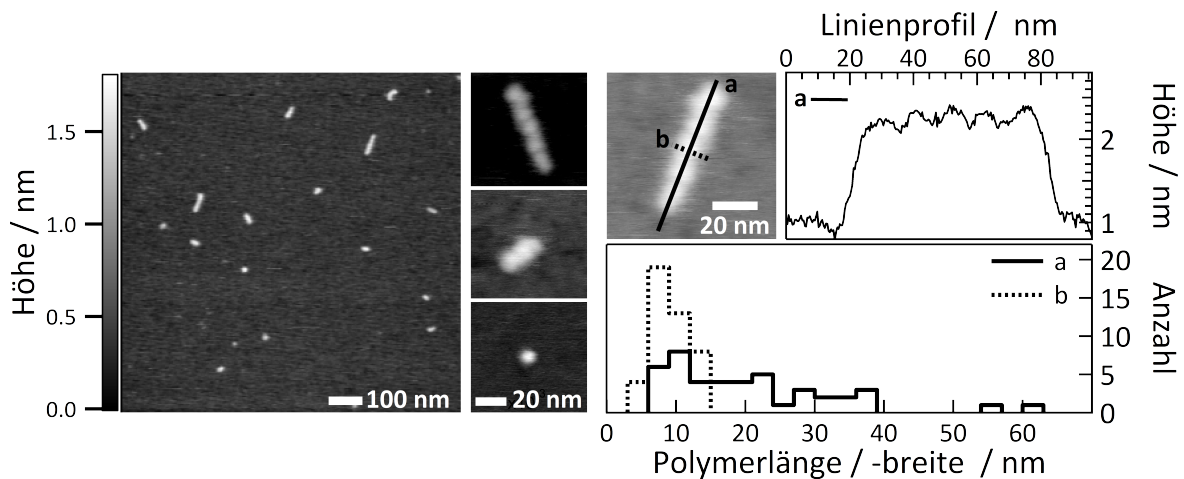




**Abbildung 5.17:** Dauer bis ein spektraler Sprung von LPPentP in PMMA stattgefunden hat, in Abhängigkeit der Temperatur, analog zu der Darstellung aus Abbildung 5.8, aus welcher der Wert für 293 K unter Argonstrom übernommen wurde. Die Werte wurden über eine exponentielle Anpassung von Histogrammen der Sprungzeiten ermittelt (analog zu Abbildung 5.8 bei Raumtemperatur). ( $I_{\text{exc}} \approx 0.4 \text{ kW/cm}^2$ )

verwendeten Gerät handelte es sich um ein Cypher von *Asylum Research* mit einer Spitze der Firma *NanoAndMore GmbH* (240AC-NA:  $f = 70 \text{ kHz}$ ,  $C = 2 \text{ N/m}$ , Spitzenradius  $r_{\text{tip}} < 7 \text{ nm}$ ). Für die Probenpräparation wurde LPPentP, gelöst in Toluol ( $c = 4.4 \cdot 10^{-4} \text{ g/l}$ ), auf frisch abgezogenes Glimmer mittels eines *spin coaters* aufgetragen (zwei mal nacheinander drei Tropfen, jeweils bei 3000 rpm für 120 s).

Ziel dieser Untersuchung war es, zu erfahren, ob sich die Wiederholeinheiten präferiert linear in einer steifen Kette anordnen oder aber die einzelnen Polymerketten vorwiegend strukturell kollabiert vorliegen. Dies könnte ursächlich sein für die spektroskopischen Eigenschaften (spektrale Sprünge / Verschiebungen), wie es beispielsweise Nakamura et al. diskutieren [45]. In Abbildung 5.18 sind AFM-Aufnahmen einzelner LPPentP-Moleküle gezeigt. Von insgesamt 44 Molekülen sind die Halbwertsbreiten der Höhenprofile für die jeweils längere (a) sowie kürzere (b) Achse bestimmt worden. Dafür ist für jedes Molekül der Mittelwert aus aufeinanderfolgenden Messungen mit entgegengesetzter Rasterrichtung bestimmt worden, um den Einfluss von thermischer Expansion während der Messung zu minimieren. Die resultierenden Histogramme sind ebenfalls in der Abbildung 5.18 dargestellt (unten rechts). Der arithmetische Mittelwert und dessen Standardabweichung betragen  $\bar{a} = (21 \pm 12) \text{ nm}$  für die längere und  $\bar{b} = (9 \pm 3) \text{ nm}$  für die kürzere Achse. Da den gemessenen Höhenprofilen eine Faltung mit der Geometrie der AFM-Spitze zugrunde liegt, ist die Bestimmung kleinerer Strukturen und somit insbesondere der Wert für die kurze Achse (b) durch den Radius der Spitze ( $r_{\text{tip}} < 7 \text{ nm}$ ) limitiert. Die schmale und homogene Verteilung der kürzeren Achse deutet auf eine verhältnismäßig einheitlich vorliegende Breite der Polymere hin. Die breite Verteilung für die lange



**Abbildung 5.18:** Abbildung zeigt einige AFM - Bilder von LPPentP auf Glimmer. Links ist ein Übersichtsbereich von  $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$  dargestellt, dem sich rechts vier beispielhafte Bilder einzelner Moleküle anschließen. Rechts oben ist ein Höhenlinienprofil eines vergleichsweise langen Polymers (links daneben) dargestellt. Unterhalb dessen ist die Breiten- sowie Längenverteilung abgebildet, ermittelt aus den Halbwertsbreiten der Höhenprofile.

Achse dagegen spiegelt die hohe Polydispersität von  $\text{PDI} = 2.1$  (Polydispersitätsindex) wider und weist vorwiegend kürzere Kettenlängen auf, als die in Kapitel 4.1 abgeschätzten mittleren Längen von 34 nm und 72 nm. Eine Abschätzung über die Bindungslängen der Kohlenstoffatome ergibt für die Ausdehnung einer LPPentP - Wiederholeinheit  $\approx 2.1$  nm entlang der langen Achse. Danach ergäbe sich aus dem Mittelwert  $\bar{a} = (21 \pm 12)$  nm eine mittlere Anzahl von Wiederholeinheiten von  $\approx 10$ . Nimmt man weiter an, dass im Mittel zwei Wiederholeinheiten einen Chromophor darstellen, resultiert daraus eine mittlere Anzahl von  $\approx 5$  Chromophoren pro LPPentP - Molekül.

In der Regel konnten bei den Untersuchungen keine Tendenzen für eine kollabierte Struktur erkannt werden, sondern vielmehr für eine lineare Morphologie der Polymere. Darüber hinaus fällt auf, dass bei deutlich elongierten Strukturen eine Periodizität im Höhenprofil entlang der langen Molekülachse (a) zu erkennen ist, wie es Abbildung 5.18 (oben rechts) anhand eines Beispiels zeigt. Die Ausdehnung dieser periodischen Segmente liegt in der Größenordnung von  $\approx 12$  nm und lässt auf eine geometrische Regelmäßigkeit in der Anordnung der Kettenmitglieder schließen. Das Auftreten dieser Segmente und deren Anzahl könnte im Zusammenhang mit der Detektion von multichromophorer Emissionen bei 4.5 K stehen. Diese sind in dieser Arbeit (in 18 % der Fälle) beobachtet worden. Frühere Arbeiten haben diese ebenfalls in signifikanter Anzahl detektiert ([99], 55 % der Fälle [123]). Ob eine Korrelation zwischen den Segmenten aus den AFM - Untersuchungen und multichromophorer Emission existiert, müssen zukünftige Experimente zeigen.

---

## 5.3 Diskussion der Ergebnisse

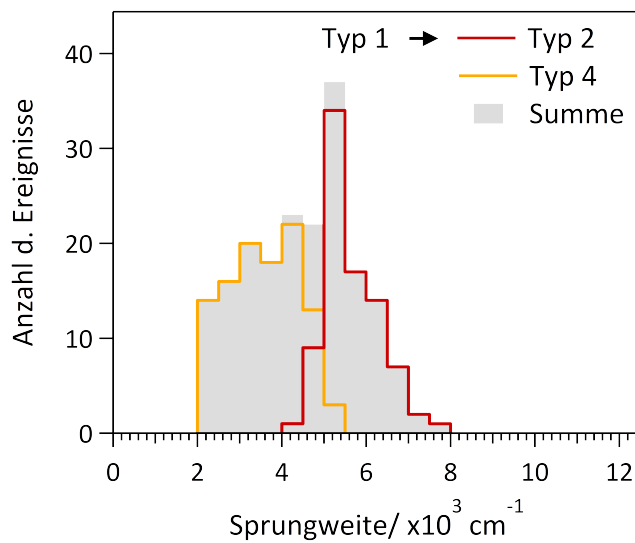
### 'Typ 2' in Gegenüberstellung zu 'Typ 4'

Wie beispielsweise in Abbildung 5.2a zu sehen ist, sind die Intensitätsverläufe von 'Typ 2' und 'Typ 4' vergleichsweise ähnlich. Die Spektren zeigten allerdings mitunter eine starke Diskrepanz der spektralen Lage ( $\approx 3000 \text{ cm}^{-1}$ ) und zudem im Detail Unterschiede im Intensitätsverlauf: 'Typ 2' kennzeichnete sich durch einen breiten und flachen Verlauf, wogegen 'Typ 4' in der Regel einen steileren Anstieg in der kurzwelligen Flanke aufwies. Es soll nun trotzdem anhand der Raumtemperaturdaten eine Gegenüberstellung geschehen, um zu diskutieren, ob es sich um zwei unterschiedliche Typen handelt.

Bei Betrachtung der Fluoreszenzlebenszeiten aus Abschnitt 5.2.3 fällt auf, dass der Mittelwert für 'Typ 2' mit  $\tau_{f,2} = (3.10 \pm 1.90) \text{ ns}$  deutlich größer ist als der des 'Typ 4' mit  $\tau_{f,4} = (1.34 \pm 1.28) \text{ ns}$ . Die Statistik ist mit 25 bzw. 40 Ereignissen zwar nicht sehr groß und die Streuung beider Werte sehr hoch (siehe Abbildung 5.11a), die Mittelwerte weisen allerdings die Tendenz auf, dass es sich hier um zwei unterschiedliche Emissionstypen handelt. Die Häufung von einigen Werten des 'Typ 4' bei niedrigen Zeiten der Fluoreszenzlebensdauer ( $\approx 0.9 \text{ ns}$ ), die in Abbildung 5.11a zu erkennen ist, bestärkt diese Vermutung.

Betrachtet man im Weiteren die Sprungweiten 'Typ 1'  $\rightarrow$  'Typ 2' und 'Typ 4', zu sehen in Abbildung 5.9b, sind zunächst klar zwei unterscheidbare Energiebereiche zu erkennen, mit mittleren Sprungweiten von  $\overline{\Delta E}_{1 \rightarrow 2} = (5568 \pm 626) \text{ cm}^{-1}$  und  $\overline{\Delta E}_{1 \rightarrow 4} = (3572 \pm 824) \text{ cm}^{-1}$ . Dieses Ergebnis ist allerdings offensichtlich beeinflusst durch die vorhergegangene Definition der Spektrentypen. In Abbildung 5.9 ist ebenfalls zu erkennen, dass die Werte der Sprungweiten nicht voneinander zu trennen sind, sondern sich die Werte überschneiden. Eine Prüfung, ob die Sprungweiten gemeinsam eine unimodale oder eine bimodale Verteilung aufweisen, soll weitere Erkenntnisse ob einer Unterscheidung der beiden Typen liefern. Die Werte sind daher in Abbildung 5.19 in Histogrammen dargestellt. Erneut ist es schwierig eine eindeutige Aussage zu treffen, allerdings erscheint es insbesondere aufgrund der Verteilungen der Sprungweiten des 'Typ 2' nicht plausibel, dass die Daten einer unimodalen Verteilung folgen. Für eine stichhaltige Bewertung dieser Tatsache und der Daten allgemein sind allerdings Modelle der zugrundeliegenden Prozesse nötig. Die Verteilungen der Histogramme werden dennoch (unter Vorbehalt) als weiteres Indiz gewertet, dass dem 'Typ 2' und 'Typ 4' unterschiedliche Prozesse / Prozesspfade für die Fluoreszenz zugrunde liegen.

Aufgrund der gezeigten Daten wird daher abschließend weiterhin davon ausgegangen, dass 'Typ 2' und 'Typ 4' einen unterschiedlichen Typus darstellen. Es scheint allerdings überdies plausibel, dass aufgrund des kontinuierlichen Übergangs der spektralen Lagen (in den Grenz-



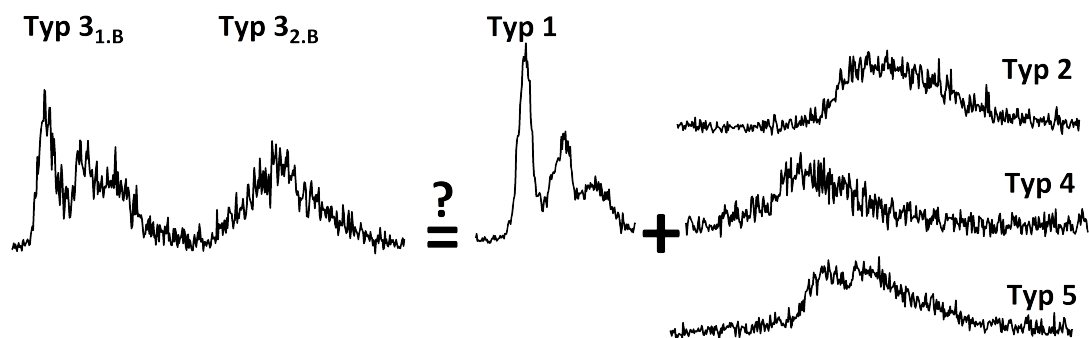
**Abbildung 5.19:** Darstellung der energetischen Sprungweiten 'Typ 1' → 'Typ 2 / 4' aus Abbildung 5.9b. Die Werte ermittelt in PMMA und ohne Matrix sowie an Luft und unter Argon sind hier zusammengefasst.

bereichen) die Zuordnung nicht eindeutig gewesen ist, da teilweise die Unterschiede in den Intensitätsverläufen nur marginal waren.

### Diskussion zu den Mischtypen 'Typ 3' und 'Typ 6'

Zu Beginn dieses Kapitels soll kurz diskutiert werden, ob die Spektrentypen '**Typ 3**' und 'Typ 6' wirklich einen eigenständigen Typus darstellen oder einer Kombination der anderen entsprechen. Für 'Typ 3' ist diese Fragestellung in Abbildung 5.20 illustriert.

Im Falle von 'Typ 3' wird die Diskussion am besten anhand der Daten geführt, die bei Raumtemperatur erhoben wurden, da die Statistik dort am größten ist. Vergleicht man die spektralen Lagen der zwei Emissionskomponenten von 'Typ 3' ('Typ 3<sub>1,B</sub>' und 'Typ 3<sub>2,B</sub>'), eingetragen in Tabelle 5.2, ist zu sehen, dass die hochenergetische Komponente ('Typ 3<sub>1,B</sub>') mit der Lage von 'Typ 1' nahezu identisch ist. Da sich ebenfalls die Charakteristika der Emissionsspektren von 'Typ 1' und 'Typ 3<sub>1,B</sub>' gleichen, scheint es daher plausibel, dass es sich hier um die gleiche Art von Emission handelt. Die spektrale Lage der niederenergetischen Emissionsbande 'Typ 3<sub>2,B</sub>' fällt ungefähr mit der Lage von 'Typ 2' zusammen, mit einer Tendenz zu höheren Energien. Während der Auswertung ist jeder beobachtete Mischtypus grundsätzlich als 'Typ 3' kategorisiert worden. Geht man nun von der Koexistenz von 'Typ 1' und einem weiteren Typus aus, scheint es plausibel, dass beim Beobachten eines 'Typ 3<sub>2,B</sub>' nicht nur 'Typ 2', sondern auch 'Typ 4' oder 'Typ 5' vorliegen kann. Die Betrachtung der Sprungweiten von 'Typ 3<sub>2,B</sub>' (siehe Abbildung 5.9) untermauert diese These. Die Sprungweiten des 'Typ 3<sub>2,B</sub>' erstrecken sich über den gesamten Energiebereich zwischen  $2000 \text{ cm}^{-1}$  und  $8000 \text{ cm}^{-1}$ . Es wird



**Abbildung 5.20:** Illustration zur Fragestellung, ob es sich bei dem 'Typ 3' um einen eigenen Typus oder um eine Kombination der anderen Spektrentypen handelt. Analog gilt die Fragestellung für den 'Typ 6', der bei  $T = 4.5 \text{ K}$  zu beobachten ist.

daher davon ausgegangen, dass es sich bei dem 'Typ 3' um das simultane Auftreten (auf der Zeitskala der gewählten Integrationszeit  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$ ) von Emission des 'Typ 1' und eines der übrigen drei niederenergetischen Spektrentypen handelt.

Für die Bewertung von '**Typ 6**', der nur bei  $T = 4.5 \text{ K}$  zu beobachten war, werden ebenfalls die mittleren spektralen Lagen beider Emissionskomponenten ('Typ 6<sub>1.B</sub>' und 'Typ 6<sub>2.B</sub>') mit denen der übrigen Typen verglichen. Die Werte sind Tabelle 5.4 zu entnehmen.

Die hochenergetische Komponente ('Typ 6<sub>1.B</sub>') gleicht - analog wie zuvor im Falle des 'Typ 3' - bezüglich der Emissionscharakteristik dem des 'Typ 1'. Die spektralen Lagen stimmen ebenfalls miteinander überein ( $\lambda_1^{4.5\text{K}} = (440 \pm 4) \text{ nm}$ ,  $\lambda_{6,1.B}^{4.5\text{K}} = (440 \pm 4) \text{ nm}$ ).

Die mittlere Lage der langwelligen Bande des 'Typ 6<sub>2.B</sub>' liegt bei  $\lambda_{6,2.B}^{4.5\text{K}} = (495 \pm 27) \text{ nm}$ . Von den spektralen Lagen der übrigen rotverschobenen Spektrentypen ('Typ 2/4/5') ist der 'Typ 2' aufgrund seiner niederenergetischeren Lage tendenziell unpassend ( $\lambda_2^{\text{RT}} = (592 \pm 26) \text{ nm}$  /  $\lambda_2^{4.5\text{K}} = 612 \text{ nm}$ ), obgleich der Wert bei  $100 \text{ K}$  mit  $\lambda_2^{100\text{K}} = (526 \pm 13) \text{ nm}$  ein kurzwelligen Ausreißer darstellt. 'Typ 4' ist schwer für einen Vergleich heranzuziehen, da dieser nur bei Raumtemperatur zu identifizieren schien. Auf Grundlage dieser Daten könnte 'Typ 4' allerdings spektral vereinbar sein ( $\lambda_4^{\text{RT}} = (524 \pm 23) \text{ nm}$ ). Die mittlere spektrale Lage von 'Typ 5' bei  $4.5 \text{ K}$  ( $\lambda_5^{4.5\text{K}} = (560 \pm 37) \text{ nm}$ ) stimmt zwar nicht gut mit der des 'Typ 6<sub>2.B</sub>' überein, allerdings variiert diese auch stark zwischen Raumtemperatur und  $4.5 \text{ K}$  und liegt zwischen  $487 - 560 \text{ nm}$ .

Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass es grundsätzlich fraglich ist, inwieweit es sich bei 'Typ 2', 'Typ 4' und 'Typ 5' um einen unterschiedlichen Typus handelt. Die Unterschiede in der Emissionscharakteristik waren grundsätzlich bei manchen Spektren marginal und die Übergänge fließend. Dadurch war eine eindeutige Zuordnung zu den Kategorien teilweise schwierig. Das erklärt ebenfalls den 'Ausreißer' der spektralen Lage von 'Typ 2' bei  $100 \text{ K}$ . Es wird hier abschließend die Vermutung geäußert, dass es sich bezüglich des Mischtyps 'Typ 6' um eine

simultane Emission von 'Typ 1' und 'Typ 2', 'Typ 4' oder 'Typ 5' handelt (auf der Zeitskala der Integrationszeit der Spektren von  $t_{\text{int}} = 2$  s), wie es ebenfalls bei 'Typ 3' der Fall zu sein scheint.

### Allgemeine Diskussion

Ziel der folgenden allgemeinen Diskussion soll es vor allem sein, näher zu beleuchten, was ursächlich für das dynamische spektrale Verhalten von LPPentP ist. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass weitere Informationen zu Messungen von LPPentP bei tiefen Temperaturen ( $T \leq 4.5$  K) in früheren Veröffentlichungen zu finden sind [99, 123, 141].

Wie bereits in der Einleitung erwähnt worden ist, zeigt die Literatur, dass spektrale Sprünge/Verschiebungen zu niedrigen Energien bereits insbesondere an einer Reihe von strukturverwandten Polyphenylenen zu beobachten waren [44, 45, 50–59]. Dabei besteht bei den Erklärungen keine Einigkeit. Zu den zwei prominentesten und konkurrierenden Thesen zählen einerseits ein Effekt hervorgerufen durch (Photo-)Oxidation und andererseits inter - / intramolekulare Aggregation (Emission von Excimeren), möglicherweise beides im Zusammenspiel mit Konformationsänderungen. Im Falle des Einflusses von Sauerstoff wird häufig die Emission eines Moleküls mit Keto - Defekt angeführt. Eine weitere, weniger prominente Erklärung für die spektrale Verschiebung wäre die Bildung der  $\beta$  - Phase des Polymers, also eine Planarisierung des Polymerrückgrats, was zu einer Erhöhung der Konjugationslänge führt. Die Emission aus diesem Zustand zeigt sich zwar typischerweise ebenfalls rotverschoben, allerdings auch mit einer hohen vibratorischen Struktur und wird daher ausgeschlossen [143, 148]. Ebenfalls ist nicht von Phosphoreszenz auszugehen, da diese Emission mit Triplettlebensdauern von  $\approx 1$  s bei einzelnen Molekülen unterhalb der Detektionsgrenze läge [143].

Bevor die Einflüsse externer Parameter näher diskutiert werden, sei schon ein kurzer Vergleich mit den Ergebnissen von Honmou et al. [44] vorweggenommen: Dort ist bei Raumtemperatur unter Luft Einzelmolekülspektroskopie an dem Polyfluoren BDOH-PF (poly[9,9-bis(3,6-dioxaheptyl)-fluorene-2,7-diyl]) durchgeführt worden. Die einzelnen Ketten waren dabei in eine poly(ethylene oxide) (PEO) - Matrix eingebettet. Deren Spektren dienten als Vorlage für die gewählte Klassifizierung der hier gezeigten Fluoreszenz (ausgenommen 'Typ 6'), da sich die zu beobachtenden Spektrentypen glichen und zudem vergleichbare energetische Sprungweiten zeigten. Dies ist der Fall, obwohl sich BDOH-PF in seiner chemischen Struktur von LPPentP unterscheidet. Es weist neben unterschiedlichen Seitengruppen eine geringere Steifigkeit des Polymerrückgrats aufgrund einer geringeren Anzahl von verbrückten Phenyleneinheiten auf. Honmou et al. vermuten primär, dass sich die unterschiedlichen Spektren mit der

---

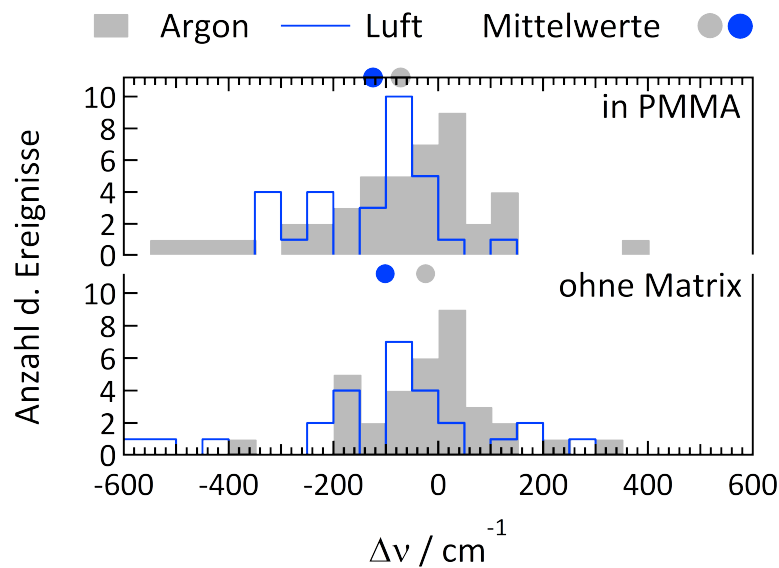
Bildung von Aggregaten (Emission von Excimeren) erklären lassen und ihre Dynamik aus Konformationsänderungen resultiert. Da bei 216 BDOH-PF-Molekülen allerdings nur in 29 % der Fälle (mindestens) ein spektraler Sprung festgestellt werden konnte und in dieser Arbeit im Falle des deutlich steiferen LPPentP dieses bei 100 % der Moleküle zu beobachten war (bei Raumtemperatur), ist das ein erstes Indiz, das gegen Konformationsänderungen spricht. Hinweise auf intermolekulare Aggregation (oder Dimerisierung) konnten ebenfalls in dieser Arbeit weder aus den Fluoreszenzmessungen noch aus den AFM - Untersuchungen gewonnen werden.

Des Weiteren wird nun der Einfluss externer Parameter, wie der Umgebung (PMMA/ohne Matrix), der Atmosphäre und der Temperatur, diskutiert, um weitere Schlussfolgerungen bezüglich der Ursachen der spektralen Dynamik ziehen zu können.

**Einfluss einer Matrix:** Vergleicht man die Untersuchungen bei Raumtemperatur zwischen dem Einbetten des LPPentP in PMMA und den Messungen auf Glassubstrat (ohne Matrix) bezüglich der auftretenden Spektrentypen (siehe Abbildung 5.7b) lassen sich keine sehr großen Unterschiede feststellen. Es ist daher festzuhalten, dass die Verwendung einer Matrix weder ursächlich für das Auftreten der spektralen Verschiebungen ist, noch eine der charakteristischen Emissionen und deren Verteilung deutlich begünstigt oder beeinflusst.

Bei Betrachtung der Auswirkungen von **Sauerstoff** ist zunächst anhand des Vergleichs der detektierten absoluten Photonenzahl (Abbildung 5.5) zu beobachten, dass diese sich beim Wechsel vom Überströmen der Probe mit Argon zu umgebender Raumluft verringert. Eine Wechselwirkung mit Sauerstoff liegt demnach vor. Des Weiteren kann ebenfalls bei dem Betrachten der spektralen Sprungzeiten (Abbildung 5.8) der Einfluss von Sauerstoff erkannt werden. In der sauerstoffärmeren Umgebung vergeht im Mittel deutlich mehr Zeit bevor ein spektraler Sprung stattfindet. Beim Vergleichen der vorkommenden Spektrentypen und deren Verteilung konnte allerdings keine deutliche Abhängigkeit von der Atmosphäre festgestellt werden. Es scheint das Vorhandensein von Sauerstoff weitestgehend spektrentypunabhängig für das Auftreten spektraler Sprünge verantwortlich zu sein oder sie zumindest zu begünstigen.

Da davon ausgegangen wird, dass zu Beginn eines Experiments alle Moleküle Emission des 'Typ 1' zeigen, liegt die Vermutung nahe, dass ein Photooxidationsprozess während der Anregung stattfindet, der dann zur einer der deutlich rotverschobenen Emissionen führt. Laut dieser These läge offensichtlich ein neuer Zustand mit niedrigerer Energie (mit langwelligerer Emission) vor, aus dem vorwiegend emittiert wird, hervorgerufen durch die lokale (chemische) Veränderung des Polymers bzw. eines Segments. Wenn im Weiteren ein Photobleichen dieses Polymersegments stattfände, existierte hohe Wahrscheinlichkeit, dass erneut aus einem nicht-photooxidierten Bereich Emission stattfindet und somit wieder 'Typ 1' vorliegt. Geht



**Abbildung 5.21:** Energiedifferenz  $\Delta\nu$  zwischen Ausgangslage und 2. Sprung, sofern bei beiden der 'Typ 1' vorlag ('Typ 1'  $\rightarrow$  'Typ x'  $\rightarrow$  'Typ 1'). Dazu sind die arithmetischen Mittelwerte der Histogramme eingetragen. Man sieht, dass eine leichte Tendenz zu negativen Differenzen bei den Messungen vorliegt, was bedeutet, dass das Spektrum nach dem 2. Sprung bzw. dem reversiblen Auftreten von 'Typ 1', tendenziell zu höheren Energien verschoben war. Diese Tendenz lässt auf zwischenzeitliches Bleichen eines niederenergetischeren Kettenglieds/Chromophors schließen.

man zudem von einem effizienten Energietransfer entlang der gesamten Polymerkette aus und davon, dass das zuvor geblichene Segment keinen Einfluss auf die neue Emission (nach zwei Spektrumsprüngen) hat, müsste sich die wiedergekehrte Emission des 'Typ 1' leicht zu höherer Energie verschoben zeigen im Vergleich zu der Ausgangsemission. Dieser Fragestellung wird mit den Daten aus Abbildung 5.21 nachgegangen, in der für die Raumtemperaturuntersuchungen die energetischen Differenzen zwischen der Emission von 'Typ 1' in der Ausgangslage und der des 'Typ 1', nachdem zwei spektrale Sprünge stattgefunden haben ('Typ 1'  $\rightarrow$  'Typ x'  $\rightarrow$  'Typ 1'), in Histogrammen dargestellt sind. Betrachtet man die Mittelwerte dieser Differenzen, ist zu sehen, dass diese negative Werte aufweisen. Das bedeutet, dass bei diesem reversiblen Spektrumsprung im Mittel eine Blauverschiebung zwischen den jeweiligen Emissionen der 'Typen 1' vorlag. Diese Tatsache geht mit der zuvor aufgestellten These einher. Allerdings sind in einer Einzelfallbetrachtung auch mehrere gegenteilige Fälle (rotverschoben nach reversiblen Spektrumsprung) zu beobachten. Diese Tatsache könnte darin begründet sein, dass die mutmaßlich stattfindende und sprunginduzierende Photooxidation, durch die chemische Veränderung, auch einen Einfluss auf die nachfolgenden Spektren haben könnte.

Betrachtet man weiter die Sprungzeiten bei tieferen Temperaturen (Abbildung 5.17), wurde ersichtlich, dass sich diese verlängert haben. Der Unterschied zwischen den mittleren Zeiten



---

bei 200 K und 100 K ist nicht sehr groß, wogegen sich die Sprungzeit bei 4.5 K noch einmal signifikant erhöht. Zunächst lässt sich daher ein thermischer Effekt vermuten. Es könnte demnach zu tiefen Temperaturen strukturelle Dynamik eingefroren werden, was auf den Einfluss von **Konformationsänderungen** hindeuten würde. Unter Berücksichtigung der chemischen Struktur von LPPentP, die von einer vergleichsweise hohen Steifigkeit des Polymers ausgehen lässt, und der Untersuchungen mit dem AFM (Abbildung 5.18), die keine Indizien von strukturell veränderten Polymeren aufweisen, wird nicht von strukturellen Dynamiken als Hauptursache ausgegangen. Die verlangsamte Sprungdynamik bei tieferen Temperaturen lässt sich dagegen ebenfalls durch die noch sauerstoffärmere Umgebung im Vergleich zu den Messungen bei Raumtemperatur erklären, da der Probenraum des Kryostaten für die Untersuchungen bei  $T \leq 200$  K zunächst evakuiert ( $\approx 10^{-5}$  mbar) und dann mit gasförmigem Helium gefüllt wurde ( $\approx 40$  mbar bei 296 K). Dass eine thermisch aktivierte chemische Reaktion mit Sauerstoff ursächlich für die veränderte Dynamik war, wird ebenfalls ausgeschlossen, da sich die Sprungzeiten zwischen 200 K und 100 K nicht sehr unterscheiden. Der deutliche Unterschied zu 4.5 K lässt sich vielmehr durch eine weitere Verringerung des Sauerstoffgehalts in der Probenatmosphäre erklären, da bei diesen Temperaturen die umgebende Wand des Probenraums wie eine Kryopumpe arbeitet, an der restliches Gas kondensiert.

Aufgrund der vorhergehenden Diskussion wird vermutet, dass Sauerstoff der entscheidende Faktor für die hier beobachtete spektrale Dynamik darstellt. In der Literatur finden sich dafür auch viele unterstützende Beobachtungen. Beispielsweise zeigen Gaal et al. [50] eindeutig an einem Ensemblefilm von Poly(9,9-dialkylfluorene) (MeLPPP), dass unter Hitze und Sauerstoff eine starke rotverschobene Fluoreszenzbande in der Fluoreszenz auftritt, die gänzlich ausbleibt, wenn Sauerstoff der Umgebung entzogen wird. Es wird ausdrücklich betont, dass es für diese Beobachtung nicht ausreicht, unter einer Stickstoffatmosphäre zu arbeiten, sondern jeglicher Sauerstoff entfernt und 'Gloveboxbedingungen' herrschen müssen. Ihrer Meinung nach ist in einer Veröffentlichung von Zeng et al. [140] aufgrund unzureichender Messbedingungen fälschlicherweise der Einfluss von Sauerstoff ausgeschlossen und stattdessen als Erklärung der spektralen Verschiebungen Excimeremission angeführt worden. Dieses ist nur ein Beispiel, das verdeutlicht, wie kontrovers die spektrale Dynamik dieser Farbstoffe diskutiert wird.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse zeigen einen starken Einfluss von Sauerstoff auf das spektrale Sprungverhalten von LPPentP. Ob Sauerstoff allein verantwortlich für die Verschiebung der Emission ist, kann hier nicht abschließend geklärt werden. Ebenfalls nicht, welche Oxidationsprodukte durch den Sauerstoff entstehen, also ob die häufig angeführten 'Keto- Defekte' der Grund für die rotverschobene Emission sind. Aufgrund der Größe so-

wie Polydispersität des Polymers und der Diversität der Spektren, scheint es denkbar, dass der Ort der Photooxidation bzw. eines geblichenen Segments eine entscheidende Rolle für die Charakteristik der Emission spielt (am Ende der Kette oder in der Mitte). Je nach Länge eines geblichenen Abschnitts sind dann unterschiedliche intramolekulare Wechselwirkungen und Kopplungen möglich (neben Förster-/Dexter-Resonanzenergietransfer auch J-(/H)-artige Kopplungen), die zu den verschiedenen Spektrentypen führen könnten. Tritt nach einem spektralen Sprung Fluoreszenz mit mehreren Emissionskomponenten auf, könnte dies beispielsweise durch einen ineffizienten Energietransfer entlang des Polymers begründet sein, sodass mehrere Chromophore auf einer Kette emittieren. Im Allgemeinen wäre dieser Erklärungsansatz auch konsistent mit der Beobachtung, dass das Vorkommen aller Spektrentypen und deren Häufigkeit unbeeinflusst von der Umgebung zu sein scheint.

---

## 6 DBOV-DMEP

Dibenzo[*hi,st*]ovalen (DBOV) gehört zu einer Klasse von Molekülen, die ein quasi - nulldimensionales Graphenfragment darstellen. Die Einschränkung der Dimensionalität von Graphen führt zu der Entstehung einer Bandlücke, die bei der ursprünglich quasi - zweidimensionalen Struktur von Graphen nicht vorliegt (am  $\Gamma$ -Punkt) [149].

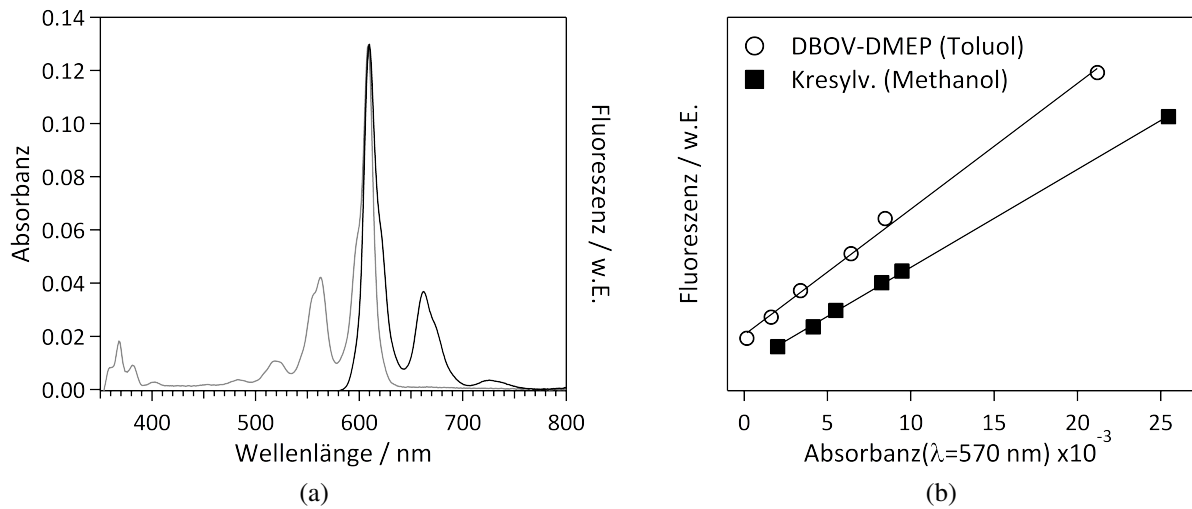
Die elektronischen und damit auch optischen Eigenschaften sind stark abhängig von der Größe, der Struktur und den Rändern der 'Nanographene' [150]. Durch *bottom-up* Synthese ist es möglich, Derivate zu synthetisieren und somit Eigenschaften gezielt zu justieren, was sie zu äußerst interessanten organischen Halbleitern macht [60, 151, 152]. Aufgrund ihrer starken Absorptionseigenschaften bei gleichzeitig hoher Fluoreszenzquantenausbeute sind sie besonders attraktiv für den Bereich der Optoelektronik [153]. DBOV zeichnet sich bereits bei Raumtemperatur durch vergleichsweise schmale und starke Fluoreszenzbanden aus, mit Fluoreszenzquantenausbeuten von 0.79 [60] bis 0.97 [61]. Zusätzlich zeigt es sich als sehr photostabil [60, 62].

In diesem Kapitel wird zunächst mit einer kurzen Charakterisierung am Ensemble in Lösung begonnen, der sich Einzelmoleküluntersuchungen bei Raumtemperatur und 4.5 K anschließen. Im Falle der Einzelmoleküluntersuchungen ist für einige Moleküle, über anregungsleistungsabhängige Messungen der Emissionsrate  $R$  und der Autokorrelationsfunktion der Fluoreszenzintensität  $g^{(2)}(\tau)$ , eine umfassende Analyse zur Charakterisierung der photophysikalischen Prozesse vorgenommen worden.

### 6.1 Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble

#### Absorptions- & Fluoreszenzspektrum

Für die spektrale Charakterisierung von DBOV - DMEP am Ensemble dienen das Absorptions- und das Fluoreszenzspektrum. Diese sind in Abbildung 6.1a dargestellt. Zu diesem Zweck wurde DBOV - DMEP mit einer Konzentration von  $c = 10^{-6}$  mol/L in Toluol gelöst. Die Spektren zeichnen sich durch vergleichsweise schmale Banden aus. Die Lage und



**Abbildung 6.1:** (a) Absorptions- und Fluoreszenzspektrum ( $\lambda_{\text{exc}} = 570 \text{ nm}$ ) von DBOV - DMEP gelöst in Toluol ( $c = 10^{-6} \text{ mol/L}$ ). (b) Integrierte Fluoreszenz von DBOV - DMEP in Toluol in Abhängigkeit der Absorbanz bei  $\lambda_{\text{exc}} = 570 \text{ nm}$  zur Ermittlung der Fluoreszenzquantenausbeute. Die Messung von Kresylviolett in Methanol diente als Referenz.

Halbwertsbreite des jeweils dominantesten Übergangs der Absorption und Fluoreszenz sind in Tabelle 6.1 eingetragen. Ebenfalls sind der Extinktionskoeffizient am Punkt der maximalen Absorption  $\varepsilon(\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}})$  und die Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  mit angegeben (s. nächsten Abschnitt). Die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f = 4.6 \text{ ns}$  ist in Toluol mit einer Konzentration von  $c \approx 10^{-6} \text{ mol/L}$  ermittelt worden. Die Daten dazu sind im Anhang (Abbildung A.5) zu finden.

### Fluoreszenzquantenausbeute $Y_f$

$Y_f$  ist über die Messung der integralen Fluoreszenzintensität in einer Konzentrationsreihe ermittelt worden (siehe Kapitel 3.3.2). Als Referenz diente Kresylviolett gelöst in Methanol. Über den Vergleich der Steigungen der integrierten Fluoreszenzintensitäten, aufgetragen gegen die Absorbanz, kann  $Y_f$  nach Gleichung 3.4 bestimmt werden. Für die Brechungsindizes sind

**Tabelle 6.1:** Daten zu den Ensemblespektren von DBOV - DMEP in Toluol aus Abbildung 6.1. Zusätzlich ist die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  und die Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  angegeben.

Lösungsm.	Absorption			Fluoreszenz			
	$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}} / \text{nm}$	$\Delta\nu_{\text{max}}^{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	$\varepsilon(\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}) / \text{m}^2 \text{mol}^{-1}$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\nu_{\text{max}}^{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	$\tau_f / \text{ns}$	$Y_f (\pm 0.03)$
Toluol	608.6	381	12964	610.0	363	4.6	0.89

---

$n_{\text{Tol}} = 1.4982$  und  $n_{\text{Meth}} = 1.3337$  verwendet worden. Die Quantenausbeute von Kresylviolett ging mit  $Y_f^{\text{Ref}} = 0.54$  ein [73]. Abbildung 6.1b zeigt die Steigung der integrierten Fluoreszenz beider Farbstoffe in Abhängigkeit von der Absorbanz. Daraus ergibt sich für DBOV - DMEP ein Wert von  $Y_f^{\text{DBOV}} = 0.89 \pm 0.03$ .

## 6.2 Einzelmolekülspektroskopie an DBOV-DMEP

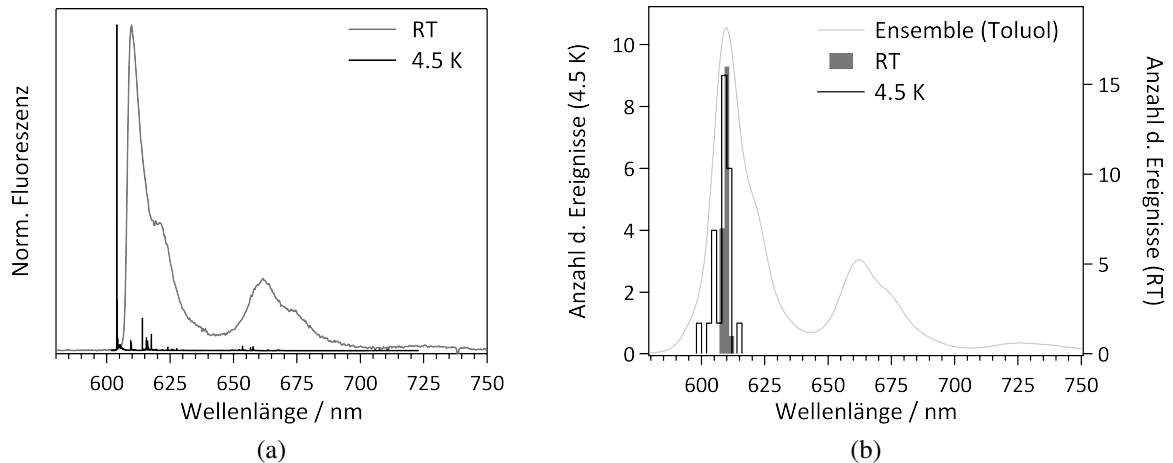
Nach der allgemeinen spektroskopischen Charakterisierung in Lösung, werden nun die Daten zu den Einzelmoleküluntersuchungen vorgestellt. Dazu sind Messungen sowohl bei Raumtemperatur (293 K) als auch bei 4.5 K durchgeführt worden. Alle gezeigten Ergebnisse stammen von Einzelmolekülen, immobilisiert in einer Zeonexmatrix (siehe Abschnitt 4.1). Bei Raumtemperatur fanden die Messungen unter einem Argonstrom statt; die Untersuchungen bei 4.5 K (im Kryostaten) in einer Heliumatmosphäre von  $\approx 30$  mbar (bei Raumtemperatur). Ausgehend von einem System mit festgelegter Teilchenanzahl und konstanten Volumen (kanonisches Ensemble) folgt, dass beim Abkühlen ein gleichbleibendes Verhältnis von Druck und Temperatur mit  $p/T = 0.10$  mbar/K vorliegt.

Sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 4.5 K war es für einzelne Moleküle möglich, mittels einer anregungsleistungsabhängigen Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$ , Zugang zu photophysikalischen Parametern, wie der *intersystem crossing* - Rate ( $k_{\text{ISC}}$ ) oder der Triplettlebensdauer ( $k_T^{-1}$ ), zu erhalten. Detaillierte Beschreibungen der Theorie und Methodik dazu finden sich in den Kapiteln 2.1.2 und 3.3.5.

### 6.2.1 Spektrale Charakterisierung

Abbildung 6.2a zeigt einen Vergleich der Fluoreszenzspektren einzelner Moleküle bei Raumtemperatur und 4.5 K. Wie schon bei den Ensembledaten zuvor, zeichnet sich das Spektrum bei Raumtemperatur durch eine vergleichsweise schmalbandige Emission aus. Bei 4.5 K ist die Emission dominiert von der rein elektronischen ZPL, was sich für das gezeigte Beispiel in einem Franck - Condon - Faktor von 0.36 widerspiegelt. Aufgrund der geringen thermischen Verbreiterung sind außerdem einzelne vibronische Übergänge gut aufzulösen (siehe auch Abbildung 6.3).

Abbildung 6.2b zeigt in Histogrammen die spektralen Verteilungen der Emissionsmaxima, sowohl für die Ergebnisse bei Raumtemperatur als auch für die bei 4.5 K. Zusätzlich ist das



**Abbildung 6.2:** (a) Fluoreszenzspektren von zwei DBOV-DMEP Molekülen in Zeonex, bei Raumtemperatur unter Argonstrom und 4.5 K in Heliumatmosphäre. (RT:  $\lambda_{\text{exc}} = 561 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 4.0 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$ , über 150 Spektren gemittelt; 4.5 K:  $\lambda_{\text{exc}} = 566 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.7 \text{ MW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 10 \text{ s}$ ) (b) Histogramme der spektralen Lagen der Fluoreszenz von DBOV-DMEP. Zusätzlich ist das Ensemblespektrum aus Abbildung 6.1a eingefügt (in Toluol,  $c = 10^{-6} \text{ mol/L}$ ). Mittelwerte der Einzelmolekülverteilungen:  $\lambda_{\text{Em}}^{\text{RT}} = (609.5 \pm 1.1) \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{Em}}^{\text{TT}} = (608.7 \pm 4.5) \text{ nm}$ .

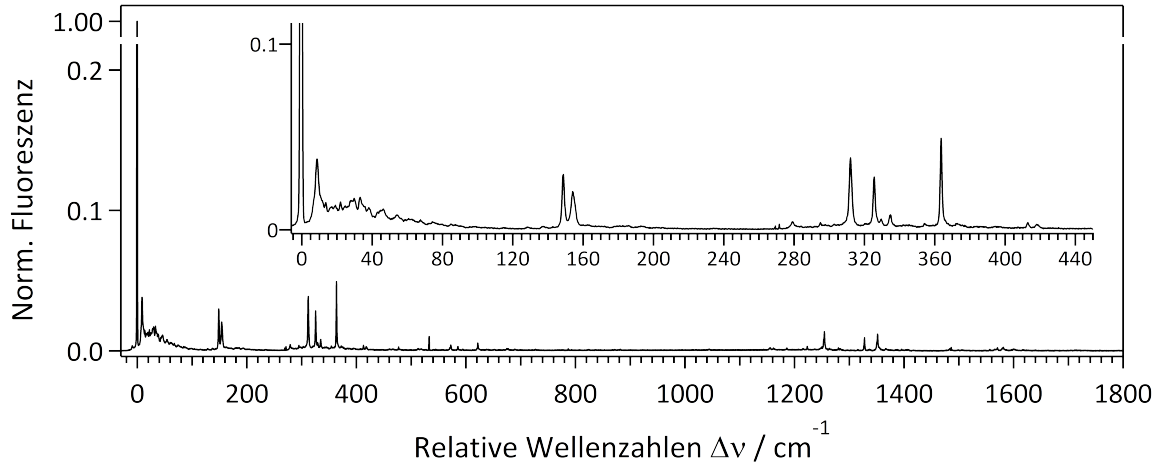
Ensemblespektrum aus Abbildung 6.1a mit eingefügt. Insbesondere für die Einzelmoleküldaten bei Raumtemperatur zeigt sich eine sehr geringe Streuung der Emissionslagen. Der arithmetische Mittelwert inkl. dessen Standardabweichung entspricht  $\lambda_{\text{Em}}^{\text{RT}} = (609.5 \pm 1.1) \text{ nm}$ . Im Vergleich zeigen die Daten der spektralen Lagen bei 4.5 K eine etwas höhere Streuung, deren arithmetisches Mittel bei  $\lambda_{\text{Em}}^{4.5\text{K}} = (608.7 \pm 4.5) \text{ nm}$  liegt.

### Hochaufgelöstes Emissionsspektrum

Abbildung 6.3 zeigt ein hochaufgelöstes Spektrum eines DBOV-DMEP - Moleküls, wobei jenes aus 12 überlappenden Segmenten zusammengesetzt worden ist. Die Tabelle 6.2 komplementiert die Abbildung mit den relativen Lagen der 30 intensivsten vibronischen Übergänge und den dazugehörigen relativen Intensitäten, bezogen auf die ZPL.

Die Schwingungsübergänge lassen sich grob in zwei Bereiche einordnen: einen niederenergetischen Bereich von  $0 - 650 \text{ cm}^{-1}$  und einen Bereich bei höheren Energien zwischen  $1200 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ .

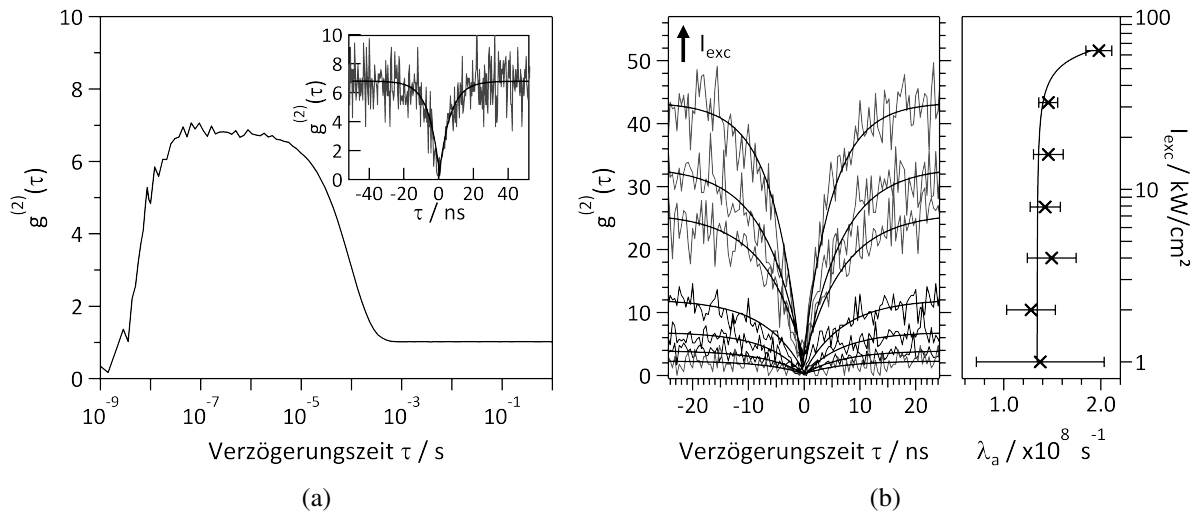
In einer Publikation von D'yachenko et al. [154] sind für Bisanthen ( $\text{C}_{28}\text{H}_{14}$ ) - einem etwas kleineren Graphenfragment - vibronische Moden berechnet und analysiert worden. In einer analogen Betrachtung, können die Frequenzen des niederenergetischen Bereichs ( $0 - 650 \text{ cm}^{-1}$ ) 'totalsymmetrischen' Vibrationsmoden zugeordnet werden. Dabei entsprechen die intensivsten Linien molekularen Deformationen, bei denen große Teile des Gerüsts sich im Ganzen bewegen. Dagegen werden die Frequenzen des höherenergetischen Bereichs Schwingungen



**Abbildung 6.3:** Hochaufgelöstes Emissionsspektrum eines DBOV-DMEP - Moleküls in Zeonex bei 4.5 K unter Heliumatmosphäre, aufgetragen und normiert gegenüber der relativen Lage  $\Delta\nu$  bzw. Intensität der ZPL. Das Spektrum ist aus 12 Einzelspektren zusammengefügt worden. Der Einsatz zeigt vergrößert den Bereich zwischen 0 - 450  $\text{cm}^{-1}$ . ( $\lambda_{\text{exc}} = 566 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.7 \text{ MW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 10 \text{ s}$ )

**Tabelle 6.2:** Relative Lagen und Intensitäten der 30 intensivsten Übergänge des hochaufgelösten Spektrums aus Abbildung 6.3. Lagen und Intensitäten sind bezogen auf die ZPL bei  $\nu_{\text{ZPL}} = 1655.5 \text{ cm}^{-1}$ . Die Intensitäten sind nicht korrigiert bzgl. der Detektionseffizienz des Aufbaus.

$\Delta\nu / \text{cm}^{-1}$	Rel. Int.	$\Delta\nu / \text{cm}^{-1}$	Rel. Int.	$\Delta\nu / \text{cm}^{-1}$	Rel. Int.
0	100.0	154	2.0	573	0.4
9	3.8	279	0.4	585	0.3
14	1.4	312	3.8	622	0.5
22	1.5	326	2.8	1223	0.3
30	1.7	334	0.8	1255	1.3
33	1.7	364	4.9	1328	0.9
38	1.2	413	0.4	1352	1.1
43	0.9	418	0.3	1486	0.2
46	1.1	477	0.3	1570	0.1
149	3.0	533	1.0	1580	0.1



**Abbildung 6.4:** (a) Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  eines DBOV - DMEP - Moleküls bei Raumtemperatur unter Argonstrom ( $I_{\text{exc}} \approx 4 \text{ kW/cm}^2$ ). Das eingesetzte Bild zeigt einen vergrößerten Bereich des *anti-bunchings* mit einer exponentiellen Anpassung ( $g^{(2)}(\tau=0) \approx 10^{-3}$ ). In (b) ist das *anti-bunching* des gleichen Moleküls für mehrere Anregungsleistungen gezeigt (linker Teil). Der sich aus den Anpassungen ergebene Parameter  $\lambda_a$  ist rechts gegenüber der Anregungsintensität dargestellt. Die Daten sind linear angepasst, um über  $\lambda_a(I_{\text{exc}} \rightarrow 0) \approx k_f$  zu extrapolieren (s. Text). In dem gezeigten Fall ergibt sich  $k_f \approx (1.3 \pm 0.05) \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  ( $7.5 \pm 0.3 \text{ ns}$ ). ( $\lambda_{\text{exc}} = 561 \text{ nm}$ )

unter Beteiligung der CH-Gruppen zugeordnet.

Die Linienbreite (FWHM) der ZPL beträgt  $\Delta\nu_{\text{ZPL}} = 0.96 \text{ cm}^{-1}$  (28.7 GHz), was etwa dem Auflösungsvermögen der verwendeten Spektrometer-Gitter-Kombination (fokale Länge: 750 mm, Gitter: 2000 Furchen/mm) von  $\approx 0.9 \text{ cm}^{-1}$  entspricht [100].

## 6.2.2 Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei Raumtemperatur

Die im Folgenden vorgestellten Untersuchungen dienen der Charakterisierung von photophysikalischen Prozessen von einzelnen DBOV-DMEP - Molekülen. Dies geschieht bei Raumtemperatur über die Analyse der Emissionsrate  $R$  und der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  auf Grundlage eines 3 - Niveau - Systems. Eine nähere Beschreibung dazu ist in Kapitel 2.1.2 und 3.3.5 zu finden.

Abbildung 6.4a zeigt die  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion eines DBOV-DMEP - Moleküls über einen großen Verzögerungsbereich. Es sind gut die Charakteristiken des *anti-bunchings* ( $\tau \lesssim 10^{-8} \text{ s}$ ) und des *bunchings* ( $10^{-7} \text{ s} \lesssim \tau \lesssim 10^{-3} \text{ s}$ ) zu sehen. Ersteres ist in einem eingefügten Bild für einen kleineren Bereich der Verzögerungszeit vergrößert dargestellt. Der Verlauf des *anti-bunching*-



## 6.2.2 Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei Raumtemperatur

**Tabelle 6.3:** Photophysikalische Parameter von vier DBOV-DMEP - Molekülen bei Raumtemperatur, die durch eine globale Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$ - Parameter ( $C$ ,  $\lambda_b$ ) zusammen mit der Emissionsrate  $R$  ermittelt wurden. Die Werte von  $k_f$  (grau) sind zuvor über das *anti-bunching* - Verhalten ermittelt worden und gingen in die globale Anpassung als Randbedingung ein.  $\bar{x}$  gibt jeweils den Mittelwert an.

#	$k_f / 10^8 \frac{1}{s}$ ( $k_f^{-1} / \text{ns}$ )	$k_{\text{ISC}} / 10^5 \frac{1}{s}$ ( $k_{\text{ISC}}^{-1} / \mu\text{s}$ )	$k_T / 10^3 \frac{1}{s}$ ( $k_T^{-1} / \mu\text{s}$ )	$k_r / 10^8 \frac{1}{s}$ ( $k_r^{-1} / \text{ns}$ )	$k_{\text{IC}} / 10^7 \frac{1}{s}$ ( $k_{\text{IC}}^{-1} / \text{ns}$ )	$Y_f / \dagger$ %	$\sigma /$ $10^{-19} \text{ m}^2$	$\eta_{\text{Det}} /$ %
1	1.8 (5.6)	2.5 (4.1)	2.5 (400)	1.4 (7.0)	3.5 (29)	80	1.6	1.9
2	2.0 (5.1)	1.8 (5.4)	2.1 (471)	1.5 (6.9)	5.2 (19)	74	0.9	1.7
3	1.3 (7.5)	2.6 (3.9)	2.5 (399)	1.2 (8.1)	1.0 (99)	92	0.7	1.6
4	0.7 (14)	2.1 (4.9)	1.8 (546)	0.6 (16)	1.0 (103)	87	0.4	2.9
$\bar{x}$	1.5 (8.0)	2.2 (4.5)	2.2 (446)	1.2 (8.4)	2.7 (38)	83	0.9	2.1

<sup>†</sup> Keine unabhängige Variable in globaler Anpassung, sondern für jedes Molekül über  $Y_f = \frac{k_r}{k_r + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}}$  berechnet.

Bereichs folgt einem exponentiellen Verhalten und ist nach

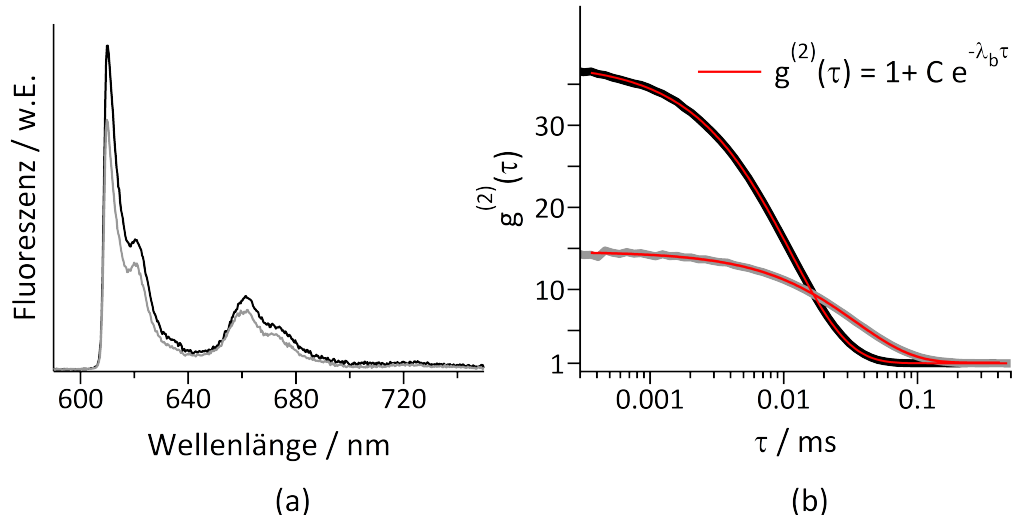
$$g^{(2)}(\tau) \approx A(1 - e^{-\lambda_a |\tau|}) + c \quad (6.1)$$

angepasst worden [34]. Im *anti-bunching* Bereich steht die Summe von  $A$  und  $c$  für den Kontrast bei großen Verzögerungszeiten  $\tau$ , d.h.  $g^{(2)}(\tau \rightarrow \infty) = A + c$  und  $c$  steht für den Wert von  $g^{(2)}(\tau)$  bei  $\tau = 0$ . Der Parameter  $\lambda_a$  ist über [96]

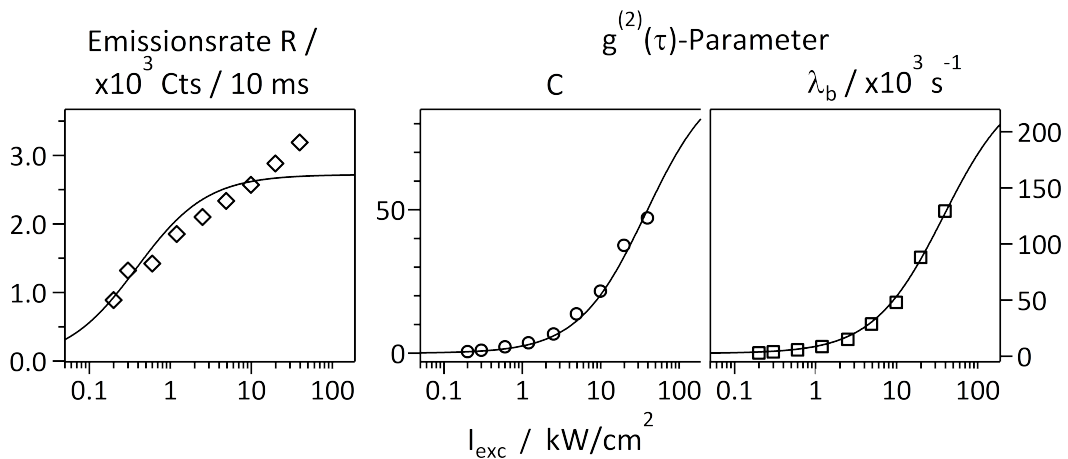
$$\lambda_a \approx k_{12} + k_f \quad (6.2)$$

verknüpft mit der Anregungsrate  $k_{12}$  (siehe auch Gleichung 2.31) und somit durch  $k_{12} = \sigma \frac{I_{\text{exc}}}{E_{\text{Ph}}}$  abhängig von der Anregungsleistung  $I_{\text{exc}}$  [80].  $\sigma$  steht für den Absorptionsquerschnitt und  $E_{\text{Ph}}$  für die Energie eines Photons des Anregungslichts.

Es ist nun eine anregungsleistungsabhängige Analyse des *anti-bunching* - Bereichs der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  durchgeführt worden. Diese ermöglicht es, für jedes Molekül individuell die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  bzw. deren Rate  $k_f = \tau_f^{-1}$  zu bestimmen. Dieser Wert geht anschließend in die folgende globale Analyse der Parameter des *bunching* - Bereichs von  $g^{(2)}(\tau)$  ein. Der linke Teil von Abbildung 6.4b zeigt das *anti-bunching* - Verhalten eines Moleküls für verschiedene Anregungsleistungen ( $I_{\text{exc}} = 1 - 63.5 \text{ kW/cm}^2$ ). In der rechten Hälfte der Abbildung 6.4b ist der Parameter  $\lambda_a(I_{\text{exc}})$  aufgetragen. Mittels einer linearen Anpassung wird der



**Abbildung 6.5:** (a) Emissionsspektren eines DBOV-DMEP - Moleküls in Zeonex (RT) für zwei Anregungsleistungen ( $I_{\text{exc}} \approx 4.9 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$  (40 Mittelungen),  $I_{\text{exc}} \approx 19.8 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$  (80 Mittelungen)). Abbildung (b) zeigt die dazugehörigen Korrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$  mit deren exponentiellen Anpassungen. ( $\lambda_{\text{exc}} = 561 \text{ nm}$ )



**Abbildung 6.6:** Emissionsrate  $R$  sowie Kontrast  $C$  und Zerfallparameter  $\lambda_b$  der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion des Moleküls aus Abbildung 6.5 gegenüber  $I_{\text{exc}}$  aufgetragen und global angepasst.

Wert  $\lambda_a(I_{\text{exc}} \rightarrow 0)$  extrapoliert. Nach Gleichung 6.2 gilt somit [34, 80]:

$$\lambda_a(I_{\text{exc}} \rightarrow 0) \cong k_f. \quad (6.3)$$

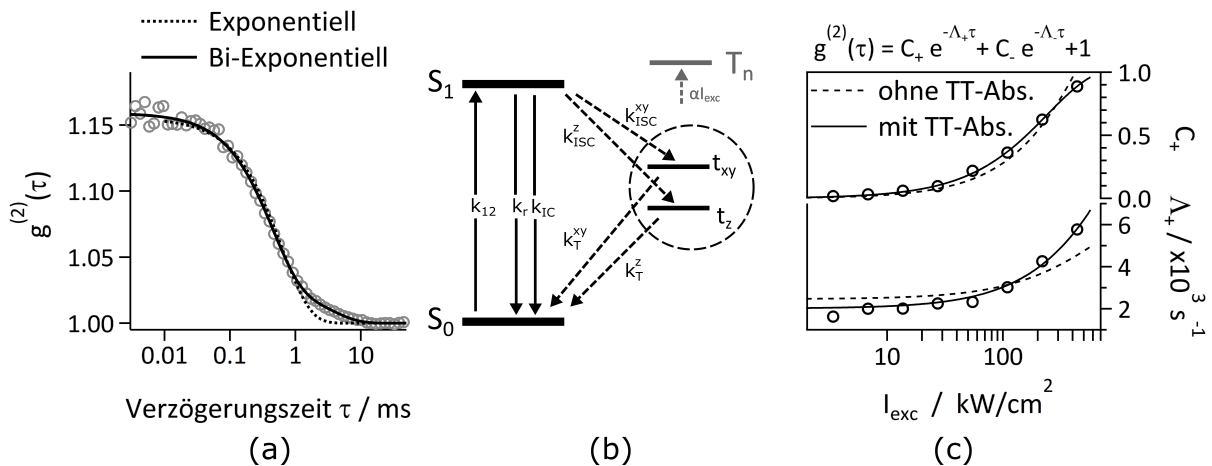
Die ermittelten Werte von  $k_f$  sind für vier untersuchte Moleküle in Tabelle 6.3 eingetragen (grau). Sie gehen in die nun folgende Analyse des *bunching* - Bereichs mit ein.

Abbildungen 6.5 und 6.6 zeigen beispielhaft Daten eines der Moleküle, aus denen im Folgenden weitere photophysikalische Parameter ermittelt wurden. In Abbildung 6.5a ist das Fluoreszenzspektrum eines DBOV-DMEP - Moleküls für zwei Anregungsleistungen zu sehen. Abbildung 6.5b zeigt die dazugehörigen Korrelationsfunktionen des *bunching* - Bereichs, die exponentiell nach Gleichung 3.7 mit den Parametern  $C$  und  $\lambda_b$  angepasst wurden. Abbildung 6.6 zeigt die ermittelten Werte der Parameter in Abhängigkeit von  $I_{\text{exc}}$ . Zudem ist die Emissionsrate  $R$  gezeigt, die zusammen mit  $C$  und  $\lambda_b$  global auf Grundlage eines 3 - Niveau - Systems angepasst wurden (siehe Kapitel 2.1.2). Diese Anpassung ist für drei weitere Moleküle gemacht worden. Die Ergebnisse aller ermittelten Parameter sind in Tabelle 6.3 eingetragen. Ebenfalls ist jeweils der Mittelwert  $\bar{x}$  angegeben.

### 6.2.3 Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei 4.5 K

Nach den gezeigten Untersuchungen bei Raumtemperatur, folgen nun Experimente bei  $T = 4.5$  K unter Heliumatmosphäre. Um auch bei diesen Temperaturen die  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion beschreiben zu können, war es nötig deren analytischen Ausdruck anzupassen, da das zuvor angenommene Modell eines 3 - Niveau - Systems nicht mehr für eine adäquate Beschreibung der Daten genügte.

Abbildung 6.7a veranschaulicht diese Tatsache anhand der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion eines DBOV-DMEP - Moleküls bei 4.5 K. Anders als bei den Raumtemperaturdaten zuvor (siehe Abbildung 6.5 und 6.6), lassen sich die Daten nun nicht mehr durch einen mono - exponentiellen Zerfall beschreiben. Es ist deutlich eine weitere Zerfallskomponente zu sehen und die  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion lässt sich gut mit einem bi-exponentiellen Verlauf anpassen. Gleiches ist bereits an anderen polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) beobachtet worden [102, 115]. Der Grund dafür ist, dass die Triplettsubniveaus  $t_x$ ,  $t_y$  und  $t_z$  aufgrund der geringen Symmetrie von DBOV - DMEP ( $C_{2h}$ ) energetisch nicht entartet sind und die Populations - sowie Depopulationsraten dieser Zustände sich unterscheiden. Bei Raumtemperatur ist aufgrund der vergleichsweise hohen thermischen Energie und Spin - Gitter - Relaxation nur eine dominierende Komponente in der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion zu beobachten. Bei tiefen Temperaturen dagegen ist der Einfluss der Nullfeldaufspaltung durch eine weitere Zerfallskomponente in



**Abbildung 6.7:** (a)  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion eines DBOV-DMEP - Moleküls in Zeonex bei  $T = 4.5$  K. Der Vergleich der exponentiellen und bi - exponentiellen Anpassung veranschaulicht, dass der Zerfall nicht nur aus einer, sondern zwei Komponenten besteht. ( $I_{\text{exc}} \approx 42 \text{ kW/cm}^2$ ) (b) Jablonski-Schema des angenommenen Vier-Niveau-Systems, bei dem zwischen zwei (detektierbaren) Triplett-niveaus unterschieden wird. (c) Anregungsintensitätsabhängige Daten der  $g^{(2)}(\tau)$ -Parameter für das  $t_{xy}$ -Niveau. Einmal global angepasst ohne Berücksichtigung einer Absorption aus dem Triplett-niveau (TT - Abs.) und einmal mit Berücksichtigung dieser (s. Text).

der Autokorrelationsfunktion sichtbar. Es ist bekannt, dass für planare PAKs die Übergangsraten des  $t_z$  - Niveaus typischerweise kleiner sind als die von  $t_x$  und  $t_y$  [102, 115, 120, 121, 155]. Letztere sind dagegen meist ähnlich groß und daher schwer in der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion zu unterscheiden. Die zwei Zerfallskomponenten der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion können somit den Übergängen in die Triplett-niveaus  $t_x$ ,  $t_y$  und in das Niveau  $t_z$  zugeschrieben werden.  $t_x$  und  $t_y$  werden daher im Weiteren als ein gemeinsames Niveau  $t_{xy}$  betrachtet, wie auch dargestellt im Jablonski-Diagramm in Abbildung 6.7b. Die Beschreibung von  $g^{(2)}(\tau)$  in einem 4 - Niveau - System ist bereits in Kapitel 3.3.5 dargelegt worden und erfolgt nach [102] mit

$$g^{(2)}(\tau) = C_+ e^{-\Lambda_+ \tau} + C_- e^{-\Lambda_- \tau} + 1. \quad (6.4)$$

Die Parameter  $C_{\pm}$  und  $\Lambda_{\pm}$  sind abhängig von der Anregungsleistung bzw. der Anregungsrate  $k_{12}$  und können grundsätzlich durch die vier Übergangsraten  $k_{\text{ISC}}^{xy/z}$  und  $k_{\text{T}}^{xy/z}$  ausgedrückt werden (siehe Abbildung 6.7b und Gleichungen 3.11 und 3.12). Es hat sich allerdings beim Anpassen der Daten gezeigt, dass  $C_{\pm}$  und  $\Lambda_{\pm}$  nur gut beschrieben werden können, wenn die scheinbaren Triplett-raten  $K_{\text{T}}^{XY/Z}$  eine mit der Anregungsleistung zunehmende Komponente beinhalten. Daher ist zusätzlich eine leistungsabhängige Rate mit dem Ausdruck  $\alpha^{xy/z} I_{\text{exc}}$  eingeführt worden (siehe auch Abbildung 6.7b und Kapitel 3.3.5), wodurch sich folgender Zusammenhang für die scheinbaren Triplett-raten ergibt  $K_{\text{T}}^{XY/Z}$ :

$$K_{\text{T}}^{XY/Z} = k_{\text{T}}^{xy/z} + \alpha^{xy/z} I_{\text{exc}} \quad (6.5)$$

Ähnliche Beobachtungen und Vorgehensweisen sind in der Literatur zu finden [80, 116]. Der Ausdruck  $\alpha^{xy/z}I_{\text{exc}}$  entspricht einer Übergangsrate, die als Absorptionsrate aus dem Triplettniveau  $t_{xy/z}$  in einen höheren Triplettzustand  $T_n$  interpretiert werden kann. Analog zu  $k_{12} = \sigma \frac{I_{\text{exc}}}{E_{\text{Ph}}}$  ist es möglich, sie ebenfalls über

$$\alpha^{xy/z}I_{\text{exc}} = \sigma_{xy/z}^* \frac{I_{\text{exc}}}{E_{\text{Ph}}} \quad (6.6)$$

als Absorptionsquerschnitt der  $t_{xy/z} \rightarrow T_n$  - Übergänge auszudrücken. Abbildung 6.7c zeigt in einem Vergleich beispielhaft eine Anpassung der Parameter  $C_+$  und  $\Lambda_+$ : Einmal ohne Berücksichtigung einer Triplett - Triplett - Absorption (TT - Abs.) (gestrichelt) und einmal mit Berücksichtigung dieser (durchgezogen). In beiden Fällen wurden die Daten global mit den übrigen Parametern  $C_-$  und  $\Lambda_-$  sowie der Emissionsrate  $R$  angepasst (nicht abgebildet).

Es sei angemerkt, dass für eine exakte analytische Beschreibung von  $R$  und der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion, unter Berücksichtigung der Triplett - Triplett - Absorption, eine Anpassung der zugrundeliegenden Differentialgleichungen erfolgen müsste. Dann wäre auch eine mögliche Repopulation von  $S_1$  analytisch einbezogen (*delayed fluorescence*). Dieser Beitrag dürfte allerdings sehr klein und hier vernachlässigbar sein. Abbildung 6.7 zeigt zudem, dass die Daten mit der eingeführten Modifikation von  $k_T^{xy/z}$  gut beschrieben werden können.

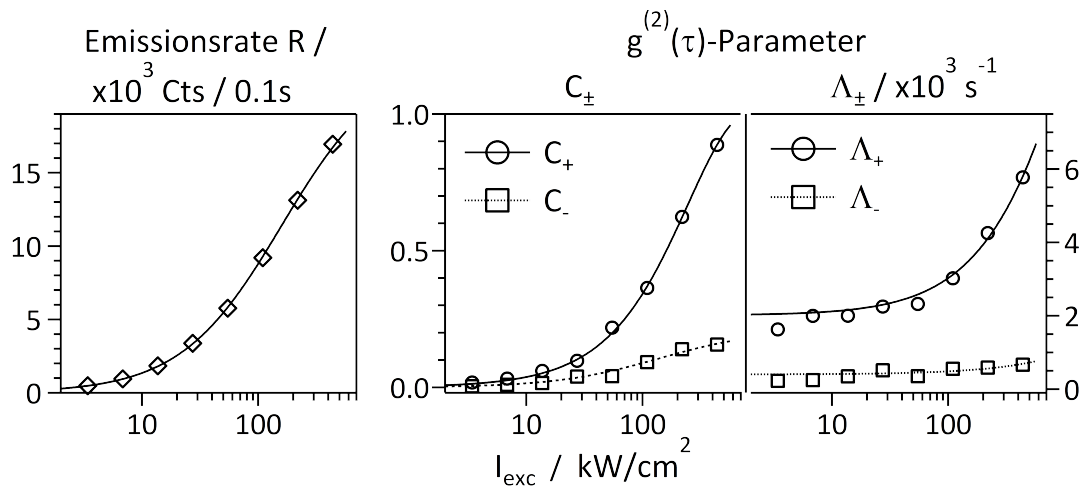
### Analyse der $g^{(2)}(\tau)$ - Funktion

Insgesamt 13 Moleküle konnten bei 4.5 K für verschiedene Anregungsleistungen vermessen werden. Deren  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktionen sind zunächst ohne das Einbeziehen der Emissionsrate  $R$  nach Gleichung 6.4 beschrieben worden. Die sich daraus ergebenden vier Parameter  $C_{\pm}$  und  $\Lambda_{\pm}$  konnten in Abhängigkeit der Anregungsleistung global nach den Gleichungen 3.11 und

**Tabelle 6.4:** Photophysikalische Parameter von DBOV-DMEP in Zeonex aus globaler Anpassung der anregungsleistungsabhängigen Parameter  $C_{\pm}$  und  $\Lambda_{\pm}$ . Angegeben ist für diese jeweils der Median [63]. Werte bei 293 K sind übernommen aus Tabelle 6.3.

T / K	$k_{\text{ISC}}^{\text{xy}} / \frac{1}{\text{s}}$ ( $k_{\text{ISC}}^{\text{xy}^{-1}}$ )	$k_{\text{ISC}}^{\text{z}} / \frac{1}{\text{s}}$ ( $k_{\text{ISC}}^{\text{z}^{-1}}$ )	$k_{\text{T}}^{\text{xy}} / \frac{1}{\text{s}}$ ( $k_{\text{T}}^{\text{xy}^{-1}}$ )	$k_{\text{T}}^{\text{z}} / \frac{1}{\text{s}}$ ( $k_{\text{T}}^{\text{z}^{-1}}$ )	$\sigma_{\text{xy}}^* /$ $10^{-26} \text{ m}^2 \dagger$	$\sigma_{\text{z}}^* /$ $10^{-26} \text{ m}^2 \dagger$
293	$2.2 \cdot 10^5$ (4.5 $\mu\text{s}$ )		$2.2 \cdot 10^3$ (0.5 ms)		-	-
4.5	$2.0 \cdot 10^4$ (0.1 ms)	$1.6 \cdot 10^3$ (0.6 ms)	$2.0 \cdot 10^3$ (0.5 ms)	$4.4 \cdot 10^2$ (2.3 ms)	13	3

$\dagger$  Angegebener Mittelwert nur eine grobe Abschätzung, da unterschätzt durch Einfluss von Verteilung der Übergangsdipolmomentorientierung ggü. Anregungslaserpolarisierung.



**Abbildung 6.8:** Emissionsrate  $R$  und  $g^{(2)}(\tau)$ -Parameter (nach Gleichung 6.4) eines DBOV-DMEP-Moleküls, aufgetragen gegenüber der Anregungsintensität bei  $T = 4.5$  K. Die fünf gezeigten Parameter sind global nach den Gleichungen 3.11, 3.12 und 3.24 angepasst worden.

3.12 angepasst werden, um die Übergangsraten  $k_{\text{ISC}}^{\text{xy/z}}$  und  $k_{\text{T}}^{\text{xy/z}}$  zu extrahieren. Aufgrund der zuvor eingeführten scheinbaren Tripletraten  $K_{\text{T}}^{\text{XY/Z}}$  (siehe Gleichung 6.5 und 6.6) ergeben sich zusätzlich Werte für  $\sigma_{\text{xy/z}}^*$ ; die Faktoren der anregungsleistungsabhängigen Komponente der Tripletraten. Die Mittelwerte aller 13 untersuchten Moleküle sind in Tabelle 6.4 eingetragen, zusammen mit den Raumtemperaturergebnissen aus Tabelle 6.3 zuvor.

### Analyse der $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion unter Einbeziehung der Emissionsrate $R$

Die zuvor gezeigten Ergebnisse ergaben sich aus der Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion bzw. deren Parameter  $C_{\pm}$ ,  $\Lambda_{\pm}$ . Diese Analyse soll nun erweitert werden, indem die Beschreibung der Emissionsrate  $R$  (siehe Kapitel 3.3.5) in die globale Auswertung inkludiert und simultan mit angepasst wird, wie es auch schon bei den Raumtemperaturmessungen zuvor geschah. Dadurch ist es möglich, zusätzlich die strahlende Rate  $k_{\text{r}}$  und Rate der inneren Konversion  $k_{\text{IC}}$  zu bestimmen (für Erläuterungen siehe auch Abschnitt 3.3.5). Des Weiteren geht die Detektionseffizienz  $\eta_{\text{Det}}$  des Aufbaus in die Beschreibung der Emissionsrate  $R$  ein.

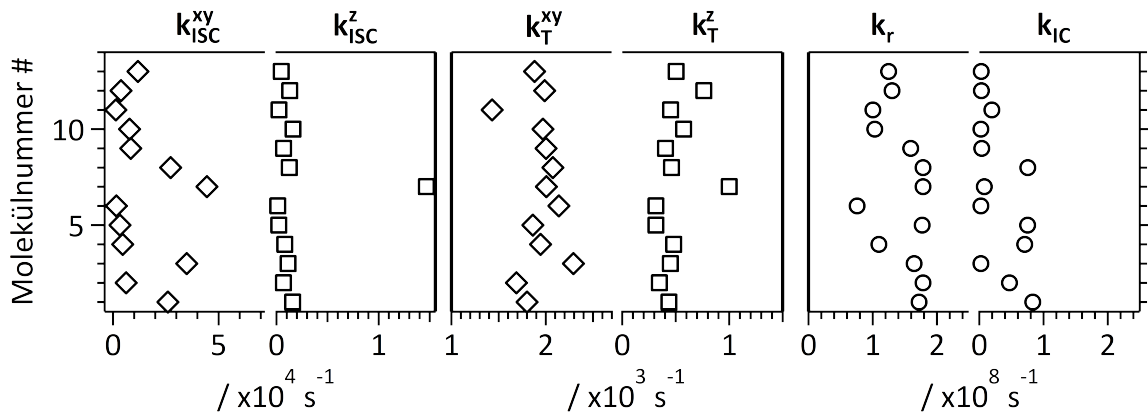
Es zeigte sich allerdings, dass die globale Anpassung der fünf Parameter ( $R$ ,  $C_{\pm}$ ,  $\Lambda_{\pm}$ ) bei  $T = 4.5$  K nicht immer in ein globales Minimum konvergierte, sofern man alle Variablen ( $k_{\text{T}}^{\text{xy/z}}$ ,  $k_{\text{ISC}}^{\text{xy/z}}$ ,  $k_{\text{r}}$ ,  $k_{\text{IC}}$ ,  $\sigma$ ,  $\sigma_{\text{xy/z}}^*$ ,  $\eta_{\text{Det}}$ ) unbeschränkt ließ. Dieses Problem tritt nun aufgrund der zusätzlichen Freiheitsgrade für die Beschreibung der Emissionsrate  $R$  auf. Im Vergleich zu den Raumtemperaturuntersuchungen zuvor liegen keine ermittelten Werte zu den Fluoreszenzlebensdauern  $k_{\text{f}}^{-1}$  ( $= \tau_{\text{f}}$ ) vor, die in die globale Analyse als Randbedingungen mit eingegeben werden können. Zudem war es aufgrund technischer Limitierungen nicht möglich mit der Anregung

in den Bereich der Sättigung zu gelangen, d.h. eine ausreichend hohe effektive Anregungsrate  $k_{12}$  für das vorliegende Molekül zu erreichen. Im Vergleich zu den Messungen bei Raumtemperatur ist die Anregungsrate  $k_{12}$  durch einen kleineren Absorptionsquerschnitt deutlich verringert (nicht - resonante Anregung). Dies kann man sich verdeutlichen, in dem man das Fluoreszenzspektrum bei 4.5 K in Abbildung 6.3 betrachtet und in erster Näherung von einer spiegelsymmetrischen Absorption ausgeht. Das Inversionszentrum läge dann im rein elektronischen Übergang (ZPL) und demnach bei  $0 \text{ cm}^{-1}$ . Die Anregung befände sich in diesem Modell mit  $\lambda_{\text{exc}} = 566 \text{ nm}$  bei  $\Delta\nu \approx 1240 \text{ cm}^{-1}$ , mit einer Anregungsbreite (FWHM) von typischerweise  $\approx 30 \text{ cm}^{-1}$  ( $\approx 1 \text{ nm}$ ). Basierend auf der geringen Fluoreszenzemission in diesem spektralen Bereich, ist ebenfalls nur eine sehr geringe Absorption für  $\lambda_{\text{exc}} = 566 \text{ nm}$  zu erwarten.

Um dennoch ein stabiles Konvergieren der globalen Anpassung zu erreichen, sind bei der Auswertung bei  $T = 4.5 \text{ K}$  zwei Annahmen in die globalen Anpassungen eingeflossen: Zum einen ist die Detektionseffizienz des Aufbaus abgeschätzt und festgelegt worden. Die Transmissionskurven der einzelnen Bauteile ergaben einen Wert von  $\eta_{\text{Det}} \approx 1 \%$  (siehe Anhang Tabelle A.2). Als weitere Begrenzung ist der bei Raumtemperatur bestimmte Mittelwert von  $k_r = 1.2 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  mit einer erlaubten Abweichung von  $50 \%$  ( $\pm 0.6 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) als Grenze in die Anpassungen eingegangen.

Abbildung 6.8 zeigt die globale Anpassung der  $g^{(2)}(\tau)$ - Parameter  $C_{\pm}$  und  $\Lambda_{\pm}$  eines DBOV-DMEP- Moleküls bei  $T = 4.5 \text{ K}$  nach den Gleichungen 3.12 bzw. 3.11. Ebenso ist die Leistungsabhängigkeit der Emissionsrate  $R$  abgebildet und simultan mit Gleichung 3.24 angepasst worden. Abbildung 6.9 zeigt die Ergebnisse für die 13 untersuchten Moleküle. In den Tabellen 6.5 und 6.6 sind dazugehörige Mittelwerte angegeben. Für die Bestimmung des Mittelwertes ist an dieser Stelle der Median gewählt worden, um den Einfluss von 'Ausreißern' zu verringern. Die einzelnen Datenpunkte von  $Y_f$ ,  $\sigma$  und  $\sigma_{xy/z}^*$  sind im Anhang (Abbildung A.6 und A.7) abgebildet.

Durch das Einbeziehen der Emissionsrate  $R$  in die globale Analyse haben sich die Ergebnisse zu den Übergangsraten der photophysikalischen Prozesse (Tabellen 6.5 und 6.6) geringfügig im Vergleich zu den gezeigten Ergebnissen aus Tabelle 6.4 zuvor verändert. Dies gilt vor allem für  $\sigma_{xy/z}^*$ , also die Koeffizienten für die anregungsleistungsabhängige Komponente der scheinbaren Tripletraten. Diese haben sich um einen Faktor von etwa 9 - 13 verringert. Die Werte von  $\sigma_{xy/z}^*$  werden ob ihrer physikalischen Aussagekraft allerdings grundsätzlich als fraglich eingeschätzt und sollen daher vorerst als Korrekturfaktoren verstanden werden. Des Weiteren haben sie die Werte von  $k_{\text{ISC}}^{xy/z}$  um einen Faktor 2 - 2.5 verringert, was auf die verbesserten Randbedingungen durch das Einbeziehen der Emissionsrate  $R$  zurückgeführt wird. Die



**Abbildung 6.9:** Photophysikalische Parameter für 13 DBOV-DMEP-Moleküle, die anregungsleistungsabhängig untersucht und deren Parameter ( $R$ ,  $C_{\pm}$ ,  $\Lambda_{\pm}$ ) global angepasst wurden (wie gezeigt in Abbildung 6.8).

**Tabelle 6.5:** Photophysikalische Parameter von DBOV-DMEP in Zeonex aus globaler Anpassung der anregungsleistungsabhängigen Parameter  $C_{\pm}$ ,  $\Lambda_{\pm}$  unter Einbeziehen der Emissionsrate  $R$ . Werte bei 293 K sind übernommen aus Tabelle 6.3. Einzelwerte für  $T = 4.5$  K sind in Abbildung 6.9 zu sehen. Angegeben ist für diese jeweils der Median.

T / K	$k_{ISC}^{xy} / \frac{1}{s}$ ( $k_{ISC}^{xy-1}$ )	$k_{ISC}^z / \frac{1}{s}$ ( $k_{ISC}^z-1$ )	$k_T^{xy} / \frac{1}{s}$ ( $k_T^{xy-1}$ )	$k_T^z / \frac{1}{s}$ ( $k_T^z-1$ )	$k_r / \frac{1}{s}$ ( $k_r^{-1}$ )	$k_{IC} / \frac{1}{s}$ ( $k_{IC}^{-1}$ )
293	$2.2 \cdot 10^5$ (4.5 $\mu$ s)		$2.2 \cdot 10^3$ (0.5 ms)		$1.2 \cdot 10^8$ (8.4 ns)	$2.7 \cdot 10^7$ (38 ns)
4.5	$7.9 \cdot 10^3$ (0.1 ms)	$8.2 \cdot 10^2$ (1.2 ms)	$2.0 \cdot 10^3$ (0.5 ms)	$4.5 \cdot 10^2$ (2.2 ms)	$1.6 \cdot 10^8$ † (6.3 ns)	$0.8 \cdot 10^7$ # (0.1 $\mu$ s)

† Nicht vollständig frei in globaler Anpassung, sondern über Raumtemperaturwert mit 50 % erlaubter Abweichung beschränkt ( $k_r(\text{RT}) \pm 50\%$ ). # Wert stark gebunden an die vorgegebene Detektionseffizienz ( $\eta_{\text{Det}} = 1\%$ ).

**Tabelle 6.6:** Weitere Parameter, die über die globale Anpassung von  $R$ ,  $C_{\pm}$ ,  $\Lambda_{\pm}$  bestimmt wurden und Tabelle 6.5 komplettieren. Werte bei 293 K sind aus Tabelle 6.3 übernommen. Für die Werte bei 4.5 K ist jeweils der Median angegeben.

T / K	$Y_f / \%$ <sup>a</sup>	$\sigma / 10^{-20} \text{ m}^2$ †	$\sigma_{xy}^* / 10^{-26} \text{ m}^2$ †	$\sigma_z^* / 10^{-26} \text{ m}^2$ †	$\eta_{\text{Det}} / \%$
293	83	9.0	-	-	2.1
4.5	95 #	0.5 #	1.4	0.2	1 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Keine freie Variable in globaler Anpassung, sondern über  $Y_f = \frac{k_r}{k_r + k_{IC} + k_{ISC}}$  für jedes Molekül berechnet worden. <sup>b</sup> Parameter nicht frei, sondern über Abschätzung der Bauteile festgelegt (siehe Tabelle A.2). # Wert stark abhängig von der vorgegebenen Detektionseffizienz ( $\eta_{\text{Det}} = 1\%$ ). † Angegebener Mittelwert nur eine grobe Abschätzung, da tendenziell unterschätzt durch Einfluss von Verteilung der Übergangsdipolmomentorientierung ggü. Anregungslaserpolarisierung.



---

Bestimmung der (von der Anregungsleistung unabhängigen) Tripletraten  $k_T^{xy/z}$  weist dagegen keinen nennenswerten Unterschied bezüglich der zwei Auswertungen auf.

Es folgt nun eine Diskussion der gezeigten Daten, die maßgeblich anhand der Ergebnisse der erweiterten Analyse (inklusive  $R$ ) aus den Tabellen 6.5 und 6.6 geführt wird.

## 6.3 Diskussion der Ergebnisse

Die Untersuchungen an DBOV-DMEP haben ergeben, dass dieses Molekül sich sehr gut für die Einzelmolekülspektroskopie eignet. Dies ist begründet durch sowohl einen hohen Absorptionsquerschnitt bei hoher Fluoreszenzquantenausbeute als auch durch eine sehr hohe **Photostabilität**, die insbesondere unter inerter Atmosphäre gegeben ist. Dazu folgen vorab nun Anmerkungen, die nicht auf gezeigten Ergebnissen, sondern vorwiegend auf qualitativen Erkenntnissen beruhen, die während der Untersuchungen gewonnen wurden:

Messungen von mehreren Minuten waren unter Argonstrom bei Raumtemperatur fast immer möglich. Stichprobenartige Tests zeigten, dass an Luft dagegen die Moleküle nach einigen 10 s blichen. Dies ging einher mit einer erhöhten Rate von  $k_T$  (Faktor  $\approx 38$ ) und  $k_{ISC}$  (Faktor  $\approx 2$ ) unter Luft gegenüber den Untersuchungen unter Argonstrom. Die Faktoren sind nicht über absolut ermittelte Werte, sondern nur über einen relativen Vergleich der Korrelationsfunktionen von fünf Molekülen, gemessen an Luft, abgeschätzt worden. Offensichtlich zeigten sich beide Übergangsraten beeinflusst von der Anwesenheit von Sauerstoff, der bekanntermaßen als *quencher* des  $S_1$ - und des  $T_1$ -Zustands gilt und zu einem schnelleren Photobleichen führen kann [29–32, 147].

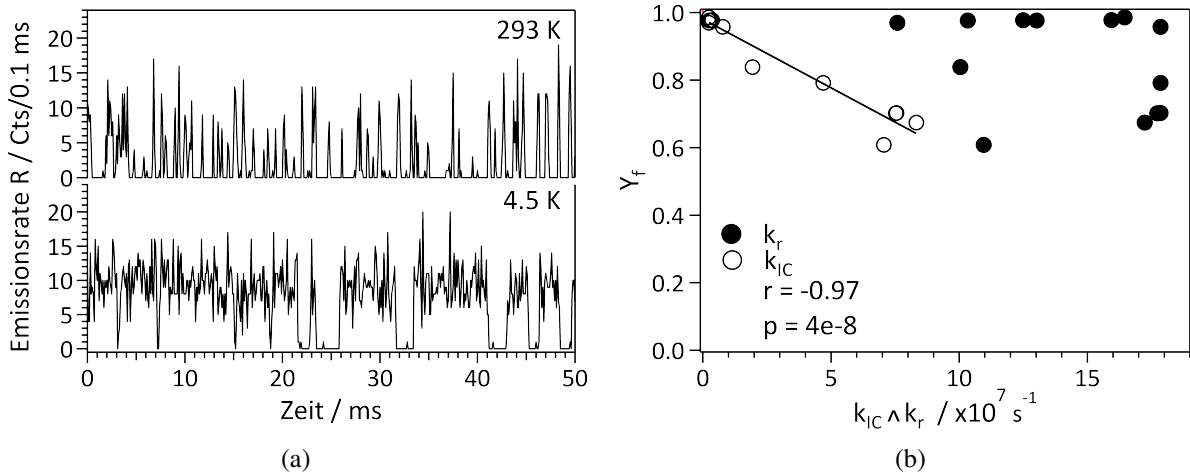
Bei tiefen Temperaturen unter Heliumatmosphäre war die Photostabilität weiter erhöht. So konnte selbst bei Anregungsintensitäten von  $I_{exc} > 100 \text{ kW/cm}^2$  i.d.R. über viele Minuten eine zeitlich stabile und konstante Fluoreszenz detektiert werden.

Die **Fluoreszenzquantenausbeuten** ( $Y_f^{RT} = 83 \%$  bzw.  $Y_f^{4.5K} = 95 \%$ ) sind vor dem Hintergrund der Stichprobengröße der Einzelmolekülmessungen gut vereinbar mit dem Wert in Lösung bei Raumtemperatur von  $Y_f^{Ens} = 89 \%$  (siehe Abbildung 6.1b). In der Literatur sind ebenfalls hohe Fluoreszenzquantenausbeuten für DBOV - Derivate zu finden (79 % [60], 89 % <sup>a</sup>, 97 % [63]).

Für den **Absorptionsquerschnitt** ist bei den Einzelmoleküluntersuchungen bei Raumtemperatur in Zeonex ein mittlerer Wert von  $\sigma_{SMS}^{RT}(561 \text{ nm}) \approx 9.0 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$  ermittelt worden (siehe

---

<sup>a</sup>Informationen überliefert von A. Narita aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Müllen des Max-Planck-Instituts für Polymerforschung (Mainz)



**Abbildung 6.10:** (a) Zeitspuren der Emissionsrate  $R$  zweier DBOV-DMEP-Moleküle in Zeonex bei Raumtemperatur (293 K) und 4.5 K. Beide Moleküle sind in einer anregungsleistungsabhängigen Analyse charakterisiert worden und zeigen anschaulich die Temperaturabhängigkeit von  $k_{ISC}$ . ( $\lambda_{exc}^{RT} = 561$  nm,  $\lambda_{exc}^{4.5K} = 566$  nm) (b) Zusammenhang von Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  und innerer Konversion  $k_{IC}$  sowie strahlender Rate  $k_r$  (4.5 K, 13 charakterisierte Moleküle).  $k_{IC}$  zeigt eine lineare Korrelation mit  $Y_f$ . Der Korrelationskoeffizient nach Pearson  $r$  sowie Signifikanzwert  $p$  sind angegeben. Für  $k_r$  ist keine Korrelation erkennbar.

Tabelle 6.3; linear polarisierte Anregung). Für die Ensemblemessung in Toluol ergibt sich aus der Extinktion  $\varepsilon(\lambda)$  (ermittelt aus Abbildung 6.1a) und über die Beziehung  $\sigma = \frac{\ln(10)}{N_A} \varepsilon(\lambda)$  ( $N_A$ : Avogadro-Konstante) ein Wert von  $\sigma_{Ens}^{RT}(561 \text{ nm}) \approx 4.5 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$ . Dabei ist bereits eine isotrope Verteilung der Moleküle berücksichtigt worden ( $\sigma = \frac{1}{3} \sigma_{exp}$  [156, S.302]). Die Diskrepanz zwischen Ensemblewert und Einzelmolekülwert kann durch eine Selektion der ausgewählten Moleküle begründet werden. So werden bei Einzelmoleküluntersuchungen tendenziell Moleküle mit hoher Emissionsrate  $R$ , also solche mit kollinearere Lage von Übergangsdipolmoment und Polarisation des Anregungslasers, ausgewählt. Bei 4.5 K ergibt sich aus den Einzelmolekülmessungen ein mittlerer Wert von  $\sigma_{SMS}^{4.5K}(568 \text{ nm}) \approx 0.5 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$  (zirk. pol. Anregung) und ist demnach um etwa einen Faktor 18 kleiner als bei Raumtemperatur. Diese Abnahme kann zum einen durch die ungünstigere Anregungswellenlänge begründet werden ( $\lambda_{exc}^{RT} = 561$  nm vs.  $\lambda_{exc}^{4.5K} = 566$  nm; vergleiche Abbildung 6.1a). Dies würde eine Verringerung um einen Faktor 2 erklären. Des Weiteren ist zu Beginn dieses Abschnitts 6.2.3 bereits erläutert worden, dass bei 4.5 K und einer Anregungswellenlänge von  $\lambda_{exc} = 566$  nm grundsätzlich von einer geringen Absorption auszugehen ist. Dies gilt zumindest, sofern von einem näherungsweise spiegelsymmetrischen Absorptionsspektrum ausgegangen wird. Beide Faktoren gemeinsam führen mutmaßlich zu der starken Verringerung des effektiven Absorptionsquerschnitts.

Ein Vergleich der *intersystem crossing - Raten* ( $k_{ISC}$ ) zwischen Raumtemperatur ( $k_{ISC}(RT) = 2.2 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$ ) und 4.5 K ( $k_{ISC}^{xy}(4.5 \text{ K}) = 7.9 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ ) zeigt eine starke Abnahme dieser Übergangs-

---

rate bei tiefen Temperaturen. Da die Übergänge des  $t_{xy}$  - Niveaus bei Raumtemperatur dominieren, ist es sinnvoll diese Komponente der Raten bei 4.5 K für einen Vergleich heranzuziehen. Für die **Triplettrate** ( $k_T$ ) ist dagegen keine signifikante Temperaturabhängigkeit zu erkennen ( $k_T(\text{RT}) = 2.2 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$  und  $k_T^{xy}(4.5 \text{ K}) = 2.0 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ ).

Die deutlich unterschiedlichen *intersystem crossing* - Raten lassen sich gut anhand der zwei gezeigten Zeitspuren in Abbildung 6.10a veranschaulichen, die bei vergleichbaren Anregungsraten  $k_{12}$  aufgenommen worden sind. Der Berechnung von  $k_{12}$  liegen für die gezeigten Beispiele die individuell ermittelten Absorptionsquerschnitte  $\sigma^{\text{RT}} = 6.7 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$  und  $\sigma^{4.5\text{K}} = 0.6 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$  zugrunde, woraus sich Anregungsraten von  $k_{12}^{\text{RT}} = 7.6 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$  bzw.  $k_{12}^{4.5\text{K}} = 8.6 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$  ergeben. Bei 4.5 K sind deutlich längere Zeitabschnitte erkennbar (mehrere ms), in denen das Molekül emittiert, ohne in den dunklen Tripletzustand überzugehen. Dagegen sind bei Raumtemperatur längere Phasen der Emission nicht erkennbar. Das Molekül geht aufgrund der hohen *intersystem crossing* - Rate innerhalb weniger Anregungszyklen in den dunklen, langlebigen Tripletzustand über. Aufgrund der vergleichbaren Triplettraten  $k_T$  bei Raumtemperatur und 4.5 K, hat dies auch einen deutlich höheren Kontrast der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion bei Raumtemperatur zur Folge, der bei 4.5 K dagegen deutlich geringer ausfiel. Die in den vorherigen Abschnitten ausgewählten Einzelbeispiele zeigen für  $I_{\text{exc}} \approx 10 \text{ kW/cm}^2$  bei Raumtemperatur einen Kontrast von  $\approx 20$  (Abbildung 6.6), wogegen er für das Beispiel bei 4.5 K  $\approx 2$  beträgt (Abbildung 6.8). Temperaturabhängige Einzelmoleküldaten von  $k_{\text{ISC}}$  anderer Chromophore sind kaum bekannt. Es existieren Werte von Terrylen, dotiert in monokristallinem *p*-Terphenyl, nach denen die *intersystem crossing* - Rate von  $k_{\text{ISC}}^{\text{RT,T}} = 9.5 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$  [34] bei Raumtemperatur um etwa zwei Größenordnungen auf  $k_{\text{ISC}}^{1.4,\text{T}} = 2.0 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$  [115] bei 1.4 K sinkt. Die Änderung der Triplettlebensdauer fällt dagegen ebenfalls gering aus ( $k_T^{\text{RT,T}} = 6.9 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$  [34] /  $k_T^{1.4,\text{T}} = 1.9 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$  [115]). Diese Werte sind allerdings in unterschiedlichen Arbeitsgruppen ermittelt worden. Zudem liegen ihnen nur wenige Datenpunkte zugrunde, die im Falle der Raumtemperaturdaten außerdem stark streuen. Des Weiteren ist bekannt, dass *p*-Terphenyl bei  $\approx 190 \text{ K}$  einen Phasenübergang aufweist, wodurch die Vergleichbarkeit der Werte zwischen Raumtemperatur und 4.5 K ungewiss ist. Dennoch kann konstatiert werden, dass sie den gleichen Trend aufzeigen wie die Ergebnisse von DBOV - DMEP.

Ursächlich für eine veränderliche *intersystem crossing* - Rate kann beispielsweise eine Verzerrung des Moleküls außerhalb der Ebene sein. Diese kann zu einer erhöhten Spin - Bahn - Kopplung und als Folge zu einer zunehmenden Rate von  $k_{\text{ISC}}$  führen [157]. Da es sich bei DBOV - DMEP um ein vergleichsweise steifes Molekül handelt, wird dieser Fall allerdings als nicht sehr wahrscheinlich erachtet. Zudem erscheint es kontraintuitiv, dass innerhalb der festen Polymermatrix die Verzerrung bei tiefen Temperaturen abnehmen würde. Es ist daher plausibler, dass ein thermisch aktivierter Prozess zugrunde liegt und die Besetzung von höheren vibrato-

rischen Zuständen des  $S_1$  energetisch den Übergang in einen Triplettzustand  $T_n$  begünstigt. In weiteren Untersuchungen wäre es demnach interessant über eine temperaturabhängige Messung an einem Molekül die Entwicklung der *intersystem crossing* - Rate zu ermitteln. Darüber müsste es möglich sein der Temperaturabhängigkeit eine thermische Aktivierungsenergie zuzuordnen, die wiederum Hinweise auf den zugrundeliegenden Prozess liefern würde.

Die mittleren **strahlenden Raten** ( $k_r$ ) besitzen bei Raumtemperatur ( $k_r^{\text{RT}} = 1.2 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) und 4.5 K ( $k_r^{4.5\text{K}} = 1.6 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) ähnliche Werte. Sie sind allerdings nicht unabhängig voneinander ermittelt worden. Der Raumtemperaturwert ging mit einer erlaubten Abweichung von 50 % als Grenze zur Anpassung des jeweiligen Wertes bei 4.5 K ein. In den meisten Fällen (77 %) konvergierten die Werte dabei innerhalb der vorgegebenen Barrieren. In den restlichen Fällen lief der Parameter in der Anpassung allerdings gegen die obere Grenze. Es scheint nicht plausibel, dass in diesen Fällen real derart höhere strahlende Raten vorlagen, die Gründe dieses Verhaltens bleiben allerdings gegenwärtig unklar. Diese Tatsache unterstreicht jedoch, dass es nötig war der globalen Anpassung die Begrenzung von  $k_r$  vorzugeben, um ein stabiles Konvergieren der übrigen Parameter zu gewährleisten.

Für die **innere Konversion**  $k_{\text{IC}}$  ist zunächst vermeintlich eine Abnahme zu tiefen Temperaturen zu beobachten. Der mittlere Wert verringert sich um 71 % von  $k_{\text{IC}}^{\text{RT}} = 2.7 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$  auf  $k_{\text{IC}}^{4.5\text{K}} = 0.8 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ . Dies ist an dieser Stelle allerdings maßgeblich der Wahl des Medians geschuldet, für den sich bei 4.5 K einheitlich als Angabe entschieden wurde, um bei anderen Parametern den Einfluss von 'Ausreißern' zu minimieren (arithm. Mittel:  $\bar{k}_{\text{IC}}^{4.5\text{K}} = 3.0 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ ). Aufgrund des grundsätzlich relativ hohen Wertes der inneren Konversion, stellt diese den entscheidenden Einfluss für die Fluoreszenzquantenausbeute ( $Y_f$ ) dar. Dies wird deutlich anhand der Abbildung 6.10b, in der für  $T = 4.5 \text{ K}$  die einzelnen Werte von  $Y_f$  gegenüber  $k_{\text{IC}}$  dargestellt sind. Ebenso ist in gleicher Abbildung  $Y_f$  gegenüber  $k_r$  abgebildet. Da  $Y_f$  über  $Y_f = \frac{k_r}{k_r + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}}$  ermittelt wird, sind die Parameter ebenfalls nicht unabhängig voneinander bestimmt worden. Letztendlich ist die Darstellung gleichbedeutend mit der (trivialen) Aussage, dass eine hohe innere Konversion die Fluoreszenzquantenausbeute reduziert. Sie zeigt allerdings zudem, dass scheinbar die innere Konversion  $k_{\text{IC}}$  der entscheidende Faktor für die Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  ist.

Für die Messungen bei Raumtemperatur stehen nur vier Datenpunkte zur Verfügung, weshalb die Signifikanz eines Korrelationstests hier grundsätzlich schwach ist. Dennoch zeigen diese vier Datenpunkte den gleichen Trend (Abbildung A.8 im Anhang).

---

## 7 Chlorophyll *a*

Chlorophylle werden aufgrund ihrer großen Bedeutung in der Natur seit vielen Jahrzehnten untersucht und auch spektroskopisch vermessen. Dabei fällt eine große Vielseitigkeit der (spektroskopischen) Eigenschaften auf, die je nach Umgebung und äußeren Einflüssen in einem hohen Maße variieren können.

Einzelmolekülspektroskopie ist stets ein geeignetes Mittel, um im Vergleich zu *in vivo*- und Ensemble - Untersuchungen eine vergleichsweise definierte und homogene Umgebung vorliegen zu haben bzw. es zu ermöglichen, einzelne spektroskopische Eigenschaften analysieren zu können, ohne die Mittelung über ein Ensemble.

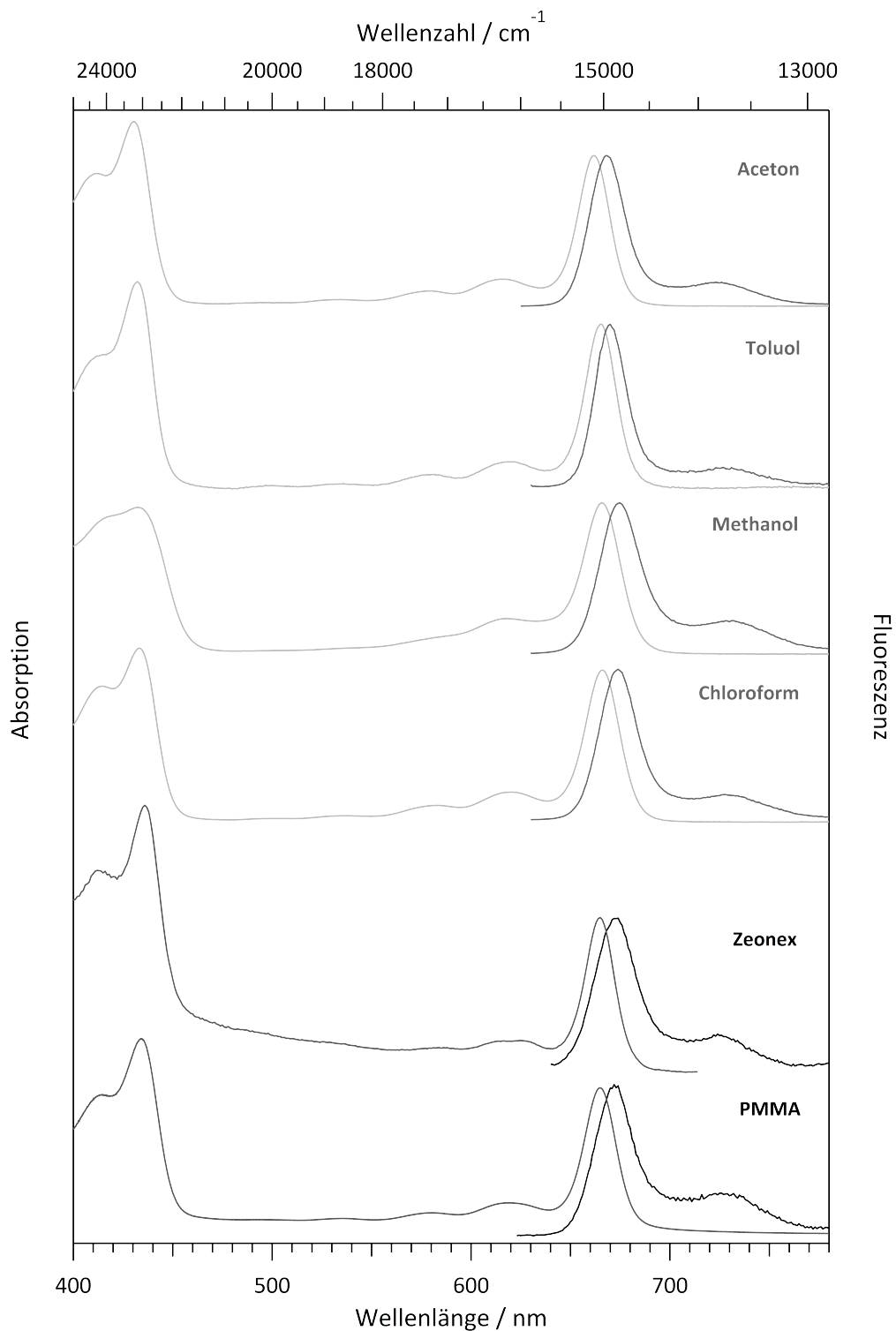
Trotz des langen Zeitraums, in dem Chlorophylle bereits untersucht werden, sind Einzelmoleküluntersuchungen an Chlorophyllen aus der Literatur nicht bekannt. Ausgenommen davon ist eine Veröffentlichung von Dong-Mei et al. [158], die Einzelmolekülspektroskopie an Chlorophyll *a* (Chl *a*) auf Glas beinhaltet. Es werden allerdings ausschließlich Fluoreszenzzeitspuren gezeigt und analysiert; Fluoreszenzspektren sind nicht abgebildet.

In diesem Kapitel werden, nach einer Vorstellung des Farbstoffs im Ensemble, sowohl Einzelmoleküluntersuchungen bei Raumtemperatur als auch bei tiefer Temperatur ( $T = 4.5 \text{ K}$ ) vorgestellt. Letztere ermöglicht es, mittels einer anregungsleistungsabhängigen Messung, Zugang zu den Übergangsraten der photophysikalischen Prozesse von Chl *a* zu erhalten.

### 7.1 Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble

Zunächst werden einige spektroskopische Eigenschaften von Chl *a* am Ensemble in verschiedenen Lösemitteln vorgestellt. Die Absorptions- sowie Fluoreszenzspektren sind in Abbildung 7.1 zusammen dargestellt; Tabelle 7.1 komplementiert diese mit Parametern, die aus den Spektren ermittelt wurden. Außerdem beinhaltet die Tabelle zusätzlich Werte von Fluoreszenzlebenszeiten ( $\tau_f$ ) sowie Fluoreszenzquantenausbeuten ( $Y_f$ ) (siehe auch Abschnitt 7.1.1 bzw. Abschnitt 7.1.2).

Dabei fällt auf, dass der Extinktionskoeffizient im Punkt der maximalen Absorption  $\varepsilon(\lambda_{\max}^{\text{abs}})$



**Abbildung 7.1:** Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Chl *a*, gemessen in vier verschiedenen Lösemitteln sowie zwei festen Matrizen (Zeonex/PMMA). Die Spektren sind jeweils normiert auf das Maximum der  $Q_y$ -Bande. Für die Fluoreszenzspektren ist bei  $\lambda_{\text{exc}} = 618 \text{ nm}$  (Aceton, Zeonex, PMMA) bzw.  $\lambda_{\text{exc}} = 625 \text{ nm}$  (Toluol, Methanol, Chloroform) angeregt worden. Im Falle der Polymermatrizen ist der hohe spektrale Untergrund zwischen der Soret- und Q-Bande, insbesondere im Fall von Zeonex, auf eine ungenügende Korrektur bzgl. der Matrix zurückzuführen (siehe Text Abschnitt 4.3).

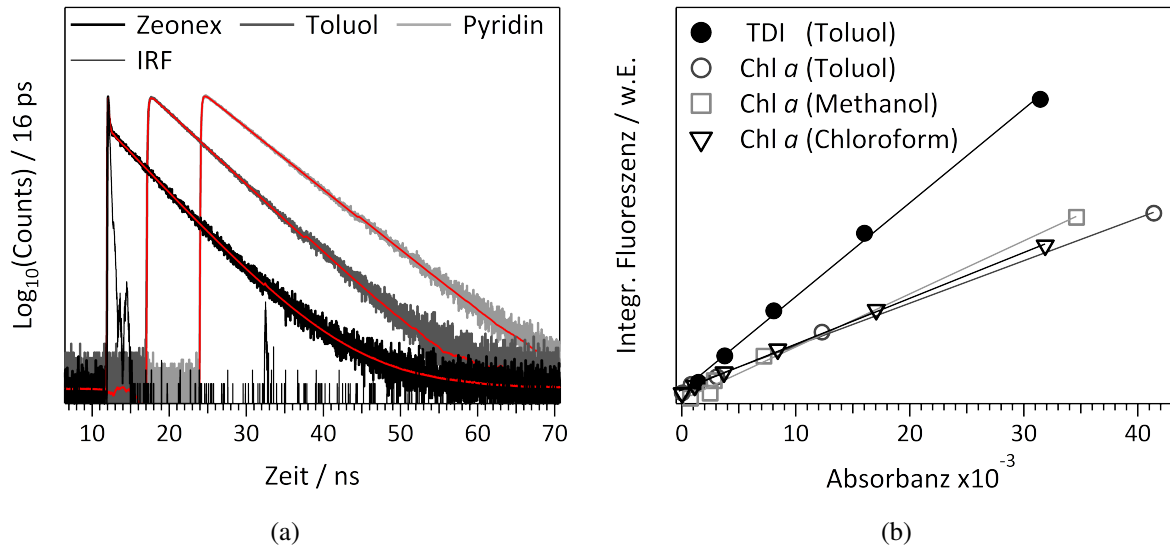
**Tabelle 7.1:** Spektrale Lagen der Absorptions- und Fluoreszenzmaxima von Chl *a* (Spektren in Abbildung 7.1) für die Q<sub>y</sub>-Bande ( $\lambda_{\max}$ ) mit deren Halbwertsbreiten ( $\Delta\nu_{\max}$ ) und dem molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten bei  $\lambda_{\max}^{\text{abs}}$ .  $\tau_f$  gibt die Fluoreszenzlebensdauer an (siehe Abschnitt 7.1.1).  $Y_f$  steht für die Fluoreszenzquantenausbeute (siehe Abschnitt 7.1.2).

Lösungsm. / Matrix	Absorption			Fluoreszenz			
	$\lambda_{\max}^{\text{abs}} /$ nm	$\Delta\nu_{\max}^{\text{abs}} /$ cm <sup>-1</sup>	$\varepsilon(\lambda_{\max}^{\text{abs}})$ m <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>	$\lambda_{\max}^{\text{em}} /$ nm	$\Delta\nu_{\max}^{\text{em}} /$ cm <sup>-1</sup>	$\tau_f /$ ns	$Y_f$ (± 0.04)
Aceton	662	427	11306	668	473	6.0 <sup>a</sup>	-
Toluol	665	418	3258	670	418	4.9	0.33
Methanol	666	493	4054	674	523	5.7 <sup>a</sup>	0.33
Chloroform	666	458	4852	674	496	5.0 <sup>a</sup>	0.33
PMMA	665	445	-	672	522	-	-
Zeonex	665	405	-	673	544	7.0/5.0 <sup>†</sup>	-

<sup>a</sup> Werte aus [159]. <sup>†</sup>Bestimmung aus zwei unterschiedlichen Probenherstellungen (siehe Abschnitt 7.1.1).

in Aceton vergleichsweise groß ist. Bezüglich der Einflüsse von Lösemitteln auf Chlorophyll, sind in der Literatur mehrere Veröffentlichungen zu dem Einfluss der Polarität und 'Trockenheit' (frei von Wasser) auf die spektroskopischen Eigenschaften zu finden, was häufig mit der Koordinationszahl des Mg<sup>2+</sup>-Ions in Verbindung gebracht wird. Von den hier gewählten Lösemitteln ist bekannt, dass in Methanol das Mg<sup>2+</sup>-Ion hexakoordiniert und in den übrigen pentakoordiniert vorliegen soll [160, 161]. Die Wahl des Lösemittels kann deutliche Folgen bzgl. der spektroskopischen Eigenschaften haben: Livingston et al. [162] berichten beispielsweise von einer gänzlich ausgelöschten Fluoreszenz von Chlorophyllen, wenn man dem Lösemittel jegliches Wasser, Alkohol und ähnliche Substanzen entzieht. Geringste Mengen an Wasser würden allerdings schnell zu einer 'Reaktivierung' der Fluoreszenz führen. Zu der schwachen Fluoreszenz treten allerdings simultan häufig spektrale 'Begleiterscheinungen', wie zusätzliche oder verschobene Banden auf [162–164], was hier nicht beobachtet werden konnte.

Für einen Vergleich der Extinktionskoeffizienten von Chl *a* seien an dieser Stelle Werte angegeben, die in einer Veröffentlichung von Seely et al. [165] ermittelt wurden:  $\varepsilon_{\text{ac}} = 7660 \text{ m}^2\text{mol}^{-1}$  (Aceton),  $\varepsilon_{\text{me}} = 6660 \text{ m}^2\text{mol}^{-1}$  (Methanol) und  $\varepsilon_{\text{et}} = 6940 \text{ m}^2\text{mol}^{-1}$  (Ethanol). Ähnliche Werte sind für eine Reihe von weiteren Lösemitteln ermittelt worden, ohne starke Ausreißer. Die Ergebnisse stehen demnach in Diskrepanz zu den hier vorgestellten Werten. Die Lage der Absorptionsmaxima stimmt dagegen exakt überein. Daher muss hier davon ausgegangen werden, dass größere Ungenauigkeiten in der Berechnung der Stammlösungskonzentration vorlagen oder beim Aliquotieren der Lösungen starke Abweichungen entstanden sind (siehe auch Kapitel 4.3).



**Abbildung 7.2:** (a) Fluoreszenzabklingkurven von Chl *a* für drei unterschiedliche Umgebungen inklusive der exponentiellen Anpassungen (rot). Im Fall von Zeonex ist neben der IRF zudem noch ein Beitrag von gestreutem Anregungslicht berücksichtigt worden. Die gezeigte IRF ist repräsentativ für alle drei Untersuchungen und stammt aus der Messung mit Toluol. Für eine bessere Darstellung sind die Zerfälle zeitlich versetzt worden. ( $\lambda_{\text{exc}} = 633\text{-}635\text{ nm}$ , Repetitionsrate = 10 MHz,  $\lambda_{\text{det}} = 670\text{-}674\text{ nm}$ ). (b) Darstellung der integralen Fluoreszenz von TDI und Chl *a* in verschiedenen Lösemitteln in Abhängigkeit der Absorbanz zur Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute (nach Gleichung 3.4).

### 7.1.1 Fluoreszenzlebensdauer

Messungen der Fluoreszenzlebensdauer von Chl *a* sind sowohl in einer festen Zeonexmatrix als auch gelöst in Toluol und Pyridin durchgeführt worden. Die gepulste Anregung erfolgte dabei jeweils in die erste Seitenbande der Absorption ( $\lambda_{\text{exc}} = 633\text{-}635\text{ nm}$ , Repetitionsrate = 10 MHz) und die Detektion im Hauptmaximum der Fluoreszenz ( $\lambda_{\text{det}} = 670\text{-}674\text{ nm}$ ).

Abbildung 7.2a zeigt die drei Fluoreszenzzerfälle, inklusive der exponentiellen Fits bei Berücksichtigung der IRF. Die ermittelten Zerfallszeiten sind Tabelle 7.2 zu entnehmen. Für Toluol und Pyridin ergeben sich Zeiten von  $\tau_{\text{Tol}}^{\text{Ens}} = 4.9\text{ ns}$  beziehungsweise  $\tau_{\text{Pyr}}^{\text{Ens}} = 6.2\text{ ns}$ . Für Chl *a* in Zeonex sind zwei unterschiedliche Zeiten an verschiedenen Probenpräparationen (siehe auch Abschnitt 4.3) ermittelt worden. Die erste Zerfallszeit ist an einem vergleichsweise di-

**Tabelle 7.2:** Ermittelte Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_f$  von Chl *a* am Ensemble.

Lösemittel / Matrix	Toluol	Pyridin	Zeonex <sup>†</sup>
$\tau_f / \text{ns}$	4.9	6.2	7.0/5.0

<sup>†</sup>Bestimmung mit zwei unterschiedlichen Probenpräparationen (siehe Abschnitt 7.1.1).



### 7.1.2 Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute $Y_f$

cken mit Chl *a* dotierten Zeonexfilm ermittelt worden (7.6 cm x 2.6 cm x  $\approx 0.3$  mm, siehe auch Abschnitt 4.3) und fällt mit  $\tau_{\text{Zeo}}^{\text{Ens}} = 7.0$  ns vergleichsweise lang aus. Der dazugehörige Fluoreszenzzerfall ist ebenfalls in Abbildung 7.2a dargestellt. Die scheinbar schnelle Komponente dieses Zerfalls ( $< 0.02$  ns) wurde auf den Beitrag gestreuten Anregungslichts zurückgeführt und ist ebenfalls in der Anpassung berücksichtigt worden (siehe Kapitel 3.3.3).

Der zweite, kürzere Wert von  $\tau_{\text{Zeo,alt}}^{\text{Ens}} = 5.0$  ns (siehe Anhang Abbildung A.9) resultiert aus einer alternativen Probenpräparation. Sie erfolgte, analog zur Anfertigung der Einzelmolekülproben, mittels *spin coating* einer vergleichsweise hochkonzentrierten Chl *a* - Lösung. Der Probenfilm ist daher deutlich dünner (einige hundert Nanometer) im Vergleich zu dem dicken Film mit  $\approx 0.3$  mm Stärke zuvor. Möglicherweise stellt die verringerte Fluoreszenzlebensdauer einen Hinweis bezüglich etwaiger Grenzflächeneffekte dar, die einen relevanten Einfluss auf  $\tau_f$  gehabt haben könnten.

In der Literatur lassen sich zum Vergleich viele Messungen der Fluoreszenzlebensdauer von Chl *a* in Lösung finden. Je nach Lösemittel und Veröffentlichung liegen diese in einem Bereich von 5.0 - 7.8 ns [159, 160, 166, 167].

### 7.1.2 Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute $Y_f$

Eine Beschreibung zur Ermittlung der Fluoreszenzquantenausbeute ( $Y_f$ ) ist in Abschnitt 3.3.2 finden. Für Chl *a* wurde dieser Wert in Toluol, Methanol und Chloroform ermittelt, jeweils über eine Konzentrationsreihe und mit Terrylendimid (TDI) in Toluol als Referenz. Die Ergebnisse sind in Abbildung 7.2b dargestellt. Für die Quantenausbeute von TDI ist ein Wert von  $Y_{\text{ref}} = 0.73 \pm 0.04$  angenommen worden [124]. Für die Brechungsindizes ist ein mittlerer Wert  $n(\lambda = 683 \text{ nm})$  gewählt worden ( $n_{\text{Tol.}} = 1.4908$ ,  $n_{\text{Meth.}} = 1.3218$  [168],  $n_{\text{Chlor.}} = 1.4407$  [169]). Die 683 nm entsprechen bei einer Integration des Fluoreszenzspektrums etwa derjenigen Integrationsgrenze, welche die gesamte Integrationsflächen unterhalb des Spektrums in zwei gleich große Hälften teilt. Die Anregung aller Fluoreszenzspektren erfolgte mit  $\lambda_{\text{exc}} = 625$  nm.

Die aus den Steigungen ermittelten Fluoreszenzquantenausbeuten liegen nach dieser Bestimmung alle bei  $Y_f = 0.33 \pm 0.04$ . In der Literatur existieren viele (ältere) Vergleichswerte, die

**Tabelle 7.3:** Ermittelte Fluoreszenzquantenausbeuten  $Y_f$  von Chl *a* am Ensemble.

Lösemittel / Matrix	Toluol	Methanol	Chloroform
$Y_f$	$0.33 \pm 0.04$	$0.33 \pm 0.04$	$0.33 \pm 0.04$

je nach Lösemittel vorwiegend zwischen 0.23 und 0.35 liegen [170–173]. Für Methanol findet sich sowohl ein Wert von 0.22 [172] als auch einer von 0.32 [170]. Wie schon zuvor bei den Extinktionskoeffizienten (siehe Abschnitt 7.1), wird zudem mehrfach ein signifikanter Einfluss bezüglich der Polarität des Lösemittels bzw. ein starker Einbruch der Fluoreszenzausbeute in unpolaren Lösemitteln postuliert [162, 171]. Neben der bereits zuvor genannten unterschiedlichen Koordinierung des  $\text{Mg}^{2+}$  - Ions, wird als Grund beispielsweise von Bowers et al. eine Dimerisierung [171] angeführt. Livingston et al. dagegen stellen die These einer isomeren Veränderung (Enolisierung am ankondensierten Fünfring) [162] in unpolaren Lösemitteln auf. Zudem wurde eine signifikante Temperaturabhängigkeit von Broyde et al. beobachtet, bei der die relative Fluoreszenzquantenausbeute bei 77 K um den Faktor 1.8 und bei 4 K um einen Faktor von 3.9 gegenüber der Messung bei Raumtemperatur anstieg ( $c = 10^{-6}$  M in Ethanol) [164]. Ausgehend von  $Y_{f,RT} = 0.22$  geben sie einen Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute auf 0.85 bei 4 K an.

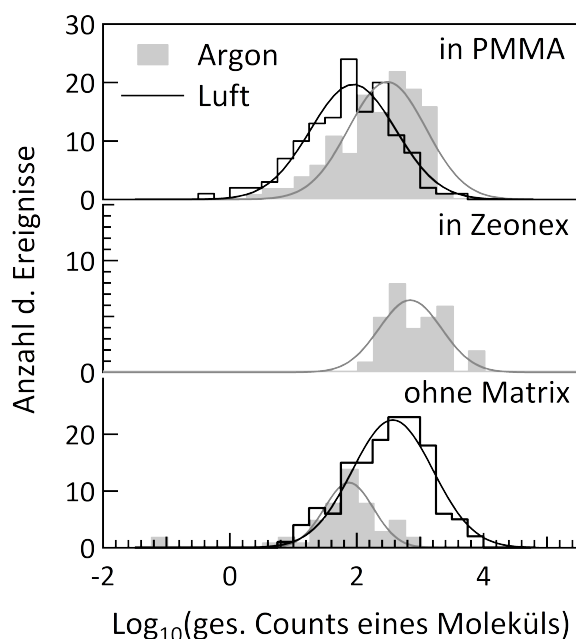
Gelöst in Dichlorethan erhöhte sich die Fluoreszenzquantenausbeute erst nach Zugabe von 1 % Ethanol v/v (um den Faktor 2.8 bei 4 K gegenüber Raumtemperatur), ohne diese Zugabe blieb sie konstant [164].

## 7.2 Einzelmolekülspektroskopie an Chl *a*

Es folgen nun die Ergebnisse der einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen an Chl *a*. Diese sind bei Raumtemperatur und bei 4.5 K durchgeführt worden. Die gezeigten Tieftemperaturmessungen erfolgten in Heliumatmosphäre bei einem Druck-Temperatur - Verhältnis von  $p/T \approx 0.14$  mbar/K. Durch die Messungen bei tiefen Temperaturen war es möglich, von einigen Molekülen eine anregungsleistungsabhängige Analyse der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  durchzuführen (siehe Kapitel 2.1.2 & 3.3.5). Dadurch konnten erfolgreich Übergangsraten der photophysikalischen Prozesse ermittelt werden. Die anschließende Diskussion befasst sich mit einer detaillierten Erörterung der Ergebnisse zu den einzelnen Parametern.

### 7.2.1 Photostabilität

In diesem Abschnitt soll die Photostabilität von Chl *a* für verschiedene Umgebungen bei Raumtemperatur verglichen werden. Abbildung 7.3 zeigt in Histogrammen die aufsummierten Photonen von Einzelmolekülmessungen, ermittelt aus untergrundkorrigierten Fluoreszenzzeitspuren. Dabei sind die Moleküle stets bis zum Punkt ihres Bleichens gemessen worden (typischerweise  $T_{\text{Bleich}} < 1$  min). Die Messreihen sind alle am selben Raumtemperatursetup durchgeführt



Umgebung	$\lambda_{\text{exc}} / \text{nm}$	Counts
<u>in PMMA</u>		
Luft	640	88
Argon	640	303
<u>in Zeonex</u>		
Argon	633	699*
<u>ohne Matrix</u>		
Luft	640	369
Argon	627	75

(20 MHz)

**Abbildung 7.3:** Histogramme aufsummierter detektierter Photonen von Chl *a*-Einzelmolekülen über die gesamte Dauer der untergrundkorrigierten Fluoreszenzzeitspuren. In der Tabelle sind die Mittelwerte aufgelistet, ermittelt über die Anpassung der logarithmischen Histogramme mittels einer Normalverteilung. Ebenfalls sind die Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{exc}}$  und die Repetitionsrate angegeben, sofern gepulst angeregt wurde. Die Proben der Messungen ohne Matrix stammen aus Lösungen mit unterschiedlichen Lösemitteln (Luft: Methanol, Argon: Chloroform). Bei PMMA und Zeonex wurde Toluol als Lösemittel verwendet. Der Zeonexlösung sind zusätzlich 10 % Aceton (v/v) zugegeben worden.

\* Histogramm zum Vergleich mit halbierten Werten dargestellt, da die Anregungsintensität ( $I_{\text{exc}} \approx 0.6 \text{ kW/cm}^2$ ) gegenüber den restlichen Untersuchungen ( $I_{\text{exc}} \approx 0.3 \text{ kW/cm}^2$ ) verdoppelt war.

worden (siehe Kapitel 3.2), es kann daher von vergleichbaren Detektionseffizienzen ausgegangen werden. Allerdings unterscheidet sich zwischen den Messreihen teilweise die Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{exc}}$ , wie der Tabelle in Abbildung 7.3 zu entnehmen ist.

Die Werte der detektierten Counts bei den Messungen in PMMA können im direkten Vergleich gegenübergestellt werden, da in diesem Fall, bis auf die Atmosphäre, alle Messparameter und auch die Probe identisch gewesen sind. Unter Luft wurden dabei weniger Photonen detektiert als unter einem Argonstrom, was ein typisches Verhalten darstellt. Der Sauerstoff in der Luft fungiert als möglicher *quencher* von Singulett- und Triplettzuständen, sodass reaktiver Singulett-Sauerstoff entstehen kann. Im Weiteren kann dieser den Farbstoff oxidieren und zum Photobleichen führen [29, 31, 147]. Die Tatsache, dass der Vorgang des *quenchings* die Übergangsraten in ( $k_{\text{ISC}}$ ) sowie aus ( $k_{\text{T}}$ ) dem Triplett verkürzen kann und dadurch die Anzahl der emittierten Photonen pro Zeit beeinflusst, wird an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt.

In den Messreihen ohne Matrix, bei denen die Chl *a*-Moleküle auf dem Borosilikatglas lagen, zeigen die Zahlen der detektierten Photonen ein entgegengesetztes Bild, was wahrschein-

lich maßgeblich auf die unterschiedliche Anregung zurückzuführen ist. Die Untersuchungen an Luft fanden hier mit  $\lambda_{\text{exc}} = 640 \text{ nm}$  und unter Dauerstrichbetrieb (engl.: *continuous wave*, cw) statt, die unter Argonstrom gepulst (Repetitionsrate = 20 MHz) bei einer Wellenlänge von  $\lambda_{\text{exc}} = 627 \text{ nm}$ . Zudem sind bei der Probenpräparation unterschiedliche Lösemittel verwendet worden (Luft: Methanol, Argon: Chloroform). Obwohl bei der Probenherstellung (mittels *spin coating*) das Lösemittel (größtenteils) verdampft sein sollte, könnte dieses dennoch einen signifikanten Einfluss haben, indem beispielsweise weiterhin unterschiedliche Koordinationen des  $\text{Mg}^{2+}$  - Ions durch Restmoleküle des Lösemittels vorliegen.

Bemerkenswert ist der Vergleich der Messung an Luft in PMMA mit der an Luft ohne Matrix (Lösung aus Methanol). Ohne Matrix sind an Luft deutlich mehr Photonen detektiert worden als in PMMA an Luft und sogar mehr als in PMMA unter Argonstrom. Dies stellt ein weiteres Indiz eines signifikanten Einflusses des in der Präparation verwendeten Lösemittels dar.

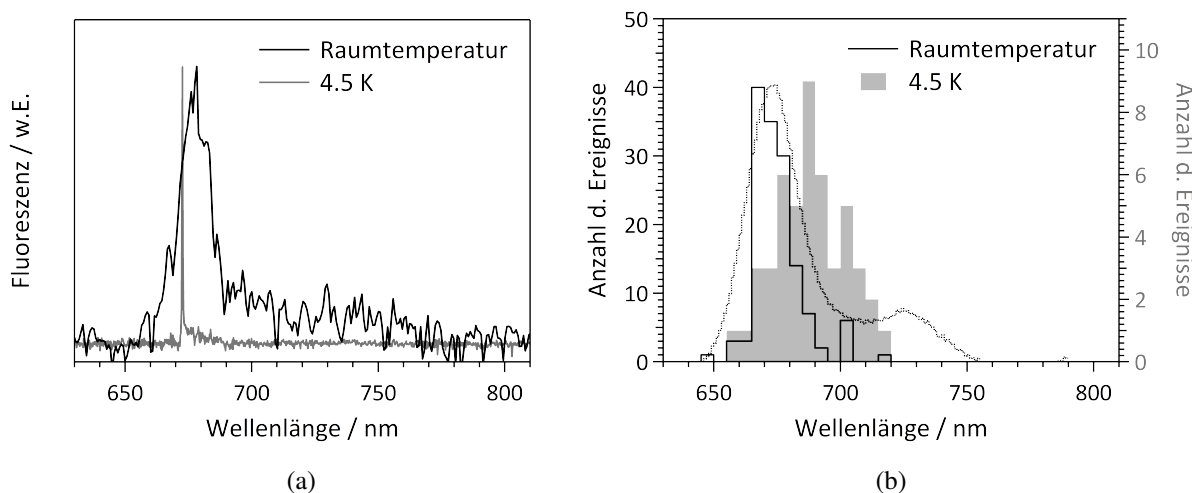
Der Wert in Zeonex ist nur bedingt mit den übrigen zu vergleichen, da die Anregungsintensität bei den Messungen etwa um einen Faktor 2 größer gewesen ist. Um diese Tatsache in erster Näherung auszugleichen, sind die gesamten Counts eines jeden Moleküls für das Histogramm in Abbildung 7.3 halbiert worden. Daraus resultiert ein mittlerer Wert von 699 Counts, der signifikant größer ist als alle anderen Werte. Trotz bedingter Vergleichbarkeit weist dieser hohe Wert auf eine relativ hohe absolute Photonenabsorption der Fluoreszenz für Chl a - Moleküle in Zeonex hin.

## 7.2.2 Spektrale Charakterisierung und Fluoreszenzlebensdauer

### Spektrale Charakterisierung

Für die spektrale Charakterisierung von Chl a sind die Emissionsmaxima der Einzelmolekülspektren ermittelt und in Histogrammen aufgetragen worden. Abbildung 7.4a zeigt Beispielspektren für Chl a in Zeonex bei Raumtemperatur sowie bei  $T = 4.5 \text{ K}$ . Wie schon zuvor bei den Ensemblespektren zu sehen war, zeichnet sich bereits bei Raumtemperatur das Fluoreszenzspektrum durch eine schwache vibronische Progression aus, die bei 4.5 K scheinbar gänzlich verschwindet. Hier werden beinahe alle Photonen in die Nullphononenlinie (engl.: *zero phonon line*, ZPL) emittiert.

In Abbildung 7.4b sind die Lagen der Emissionsmaxima der dazugehörigen Messreihen gezeigt. Ebenso ist das Ensemblespektrum (aus Abbildung 7.1 in Zeonex) zum Vergleich hinterlegt, dessen Maximum ( $\lambda_{\text{Ens}} = 673 \text{ nm}$ ) mit dem der Verteilung der Einzelmoleküle bei Raumtemperatur übereinstimmt ( $\lambda_{\text{RT}}^{\text{SMS}} = (673 \pm 5) \text{ nm}$ ). Die Einzelmolekülverteilung stammt anteilig aus Messungen mit cw - Anregung ( $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$  (#73)) und einer gepulsten Breit-

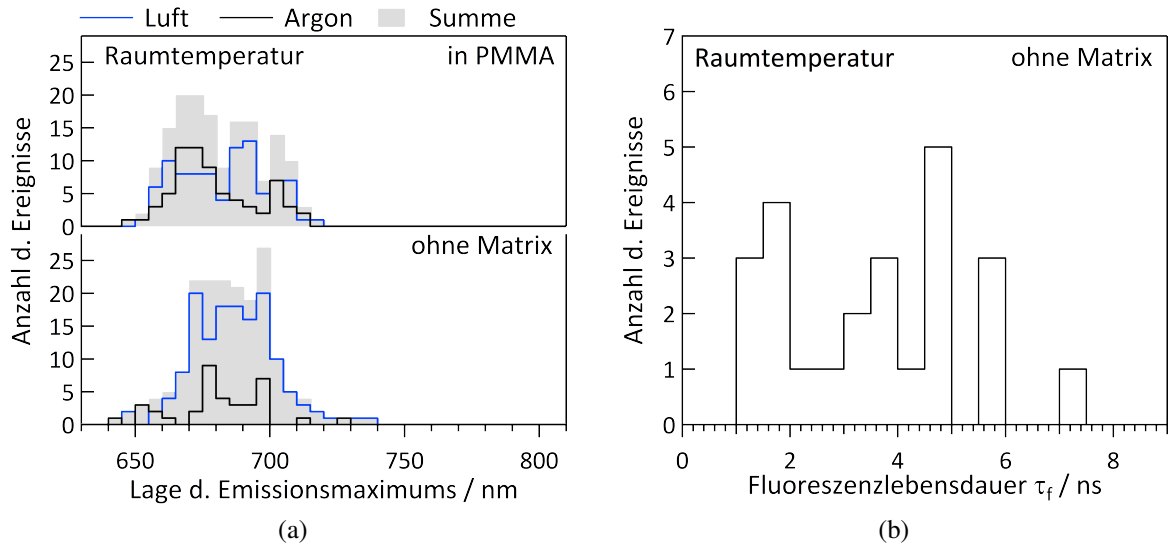


**Abbildung 7.4:** (a) Fluoreszenzspektren von zwei Chl *a* - Molekülen in Zeonex bei Raumtemperatur unter Argonstrom ( $\lambda_{\text{exc}} = 633$  nm (cw),  $I_{\text{exc}} = 1.7$  kW/cm<sup>2</sup>,  $t_{\text{int}} = 1$  s, über 9 Spektren gemittelt) und bei  $T = 4.5$  K in Heliumatmosphäre ( $\lambda_{\text{exc}} = 635$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{\text{exc}} = 2$  kW/cm<sup>2</sup>,  $t_{\text{int}} = 10$  s). (b) Verteilungen der Emissionsmaxima von Einzelmolekülspektren mit zusätzlich hinterlegtem Ensemblespektrum aus Abbildung 7.1 (gestrichelt). Anzahl der Datenpunkte: 142 (RT) und 48 (4.5 K). Daten zur spektralen Lage siehe Tabelle 7.4.

band - Anregung ( $\lambda_{\text{exc}} = 608 - 628$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz (#69)), jeweils unter Argonstrom. Tabelle 7.4 beinhaltet die spektralen Lagen der gezeigten Histogramme, ermittelt über die Anpassung einer Normalverteilung. Zu tiefen Temperaturen zeigen sich die Daten der Einzelmoleküle zum einen zu niedrigeren Energien verschoben ( $\lambda_{\text{em}}^{\text{RT}} - \lambda_{\text{em}}^{4.5\text{K}} = (15 \pm 7)$  nm bzw.  $(343 \pm 153)$  cm<sup>-1</sup>) und zudem deutlich verbreitert.

In weiteren Untersuchungen sind Verteilungen von spektralen Lagen in PMMA und ohne Matrix durchgeführt worden. Deren Verteilungen sind in Abbildung 7.5a zu sehen und zeigen keine eindeutige Häufung an Werten. Daher ist für diese Untersuchungen in Tabelle 7.4 der arithmetische Mittelwert für die Emissionslage  $\lambda_{\text{em}}$  mit dessen Standardabweichung angegeben. Die Werte der Messungen an Luft und unter Argonstrom sind dabei zusammengefasst worden, da diese keine unterscheidbaren Tendenzen aufwiesen. Wie bereits zuvor im Abschnitt zur Photostabilität (Abschnitt 7.2.1) erwähnt, sei erneut angemerkt, dass die Proben ohne Matrix aus verschiedenen Probenlösungen, mit unterschiedlichen Lösemitteln stammen (an Luft: Methanol, Argonstrom: Chloroform). Außerdem ist bei den Molekülen unter Argonstrom mit einem gepulsten Laser angeregt worden ( $\lambda_{\text{exc}} = 627$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz) und bei denen an Luft mit cw - Anregung ( $\lambda_{\text{exc}} = 640$  nm).

Aufgrund der gezeigten Verteilungen ist zu konstatieren, dass sich die Chl *a* - Einzelmoleküle bezüglich des spektralen Verhaltens am homogensten bei der Präparation in Zeonex zeigten.



**Abbildung 7.5:** (a) Histogramme zur spektralen Emissionslage von Chl *a* - Einzelmolekülen bei Raumtemperatur für unterschiedliche Umgebungen. Die Mittelwerte der Verteilungen sind in Tabelle 7.4 eingetragen. Der Stichprobenumfang für die Messreihe in PMMA beträgt 260 Werte (144 Luft / 116 Argon), der für die Untersuchungen ohne Matrix 181 (144 Luft / 37 Argon). ( $I_{\text{exc}} \approx 0.3 \text{ kW/cm}^2$ , in PMMA:  $\lambda_{\text{exc}} = 640 \text{ nm}$ , ohne Matrix:  $\lambda_{\text{exc}} = 640 \text{ nm}$  (Luft) /  $\lambda_{\text{exc}} = 627 \text{ nm}$  gepulst mit Repetitionsrate = 20 MHz (Argon)) (b) Verteilung der ermittelten Fluoreszenzlebenszeiten von Chl *a* ohne Matrix bei Raumtemperatur und unter Argonstrom. Mittelwert und Standardabweichung ergeben  $\bar{\tau}_{\text{oM,RT}} = (3.5 \pm 1.7) \text{ ns}$ .

**Tabelle 7.4:** Spektrale Lagen von Chl *a* - Einzelmolekülen in verschiedenen Umgebungen. Die Bestimmung der Mittelwerte  $\lambda_{\text{em}}$  und Halbwertsbreiten  $\Delta\nu_{\text{em}}$  ist in Zeonex jeweils über die Anpassung einer Normalverteilung geschehen, für die Messungen in PMMA bzw. ohne Matrix sind der arithmetische Mittelwert und dessen Standardabweichung angegeben. Den Daten in PMMA und ohne Matrix liegt die Summe aus Messungen unter Luft und unter Argonstrom zugrunde (siehe Abbildung 7.5a). Der Fehler ist auf eine Klassenbreite des Histogramms festgelegt.

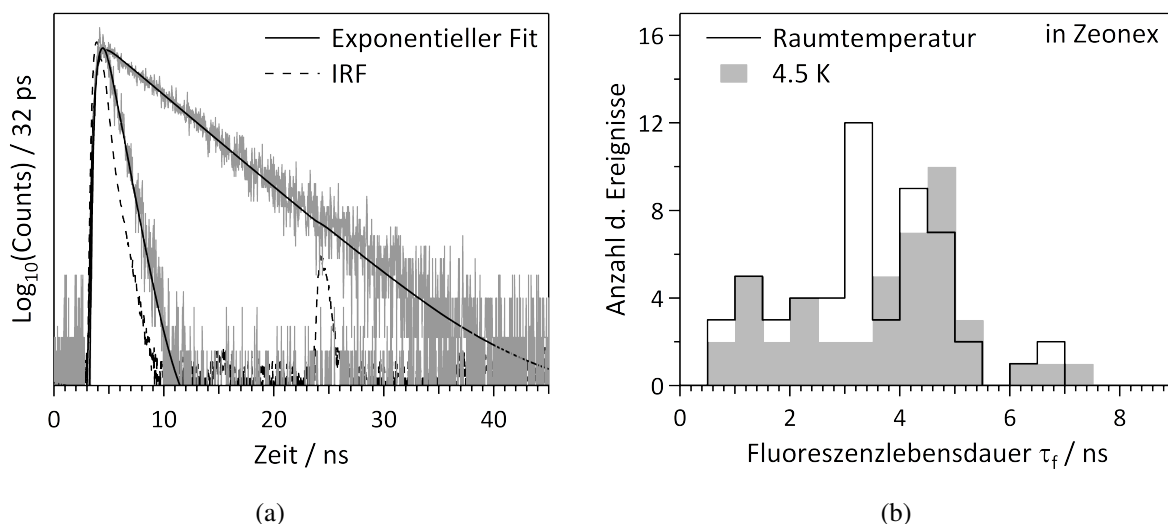
Umgebung	Temp. <sup>†</sup>	$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\nu_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	$\tau_f / \text{ns}$
Zeonex:				
Ensemble <sup>a</sup>	RT	673	545	7.0/5.0
Raumtemperatur	RT	$673 \pm 5$	360	$3.4 \pm 1.4$
4.5 K	4.5 K	$688 \pm 5$	708	$3.6 \pm 1.6$
PMMA	RT	$681 \pm 16$	691	-
ohne Matrix	RT	$685 \pm 16$	683	$3.5 \pm 1.7$

<sup>†</sup> RT: Raumtemperatur. <sup>a</sup>Aus Abschnitt 7.1 übertragen.

### Fluoreszenzlebensdauer

Für Untersuchungen in Zeonex und ohne Matrix sind Messungen mit einer gepulsten Anregung durchgeführt und Fluoreszenzlebenszeiten einzelner Moleküle ermittelt worden.

In Abbildung 7.6a sind exemplarisch zwei Fluoreszenzzerfälle für die Messreihe bei Raumtemperatur in Zeonex dargestellt. Die exponentiellen Anpassungen unter Berücksichtigung



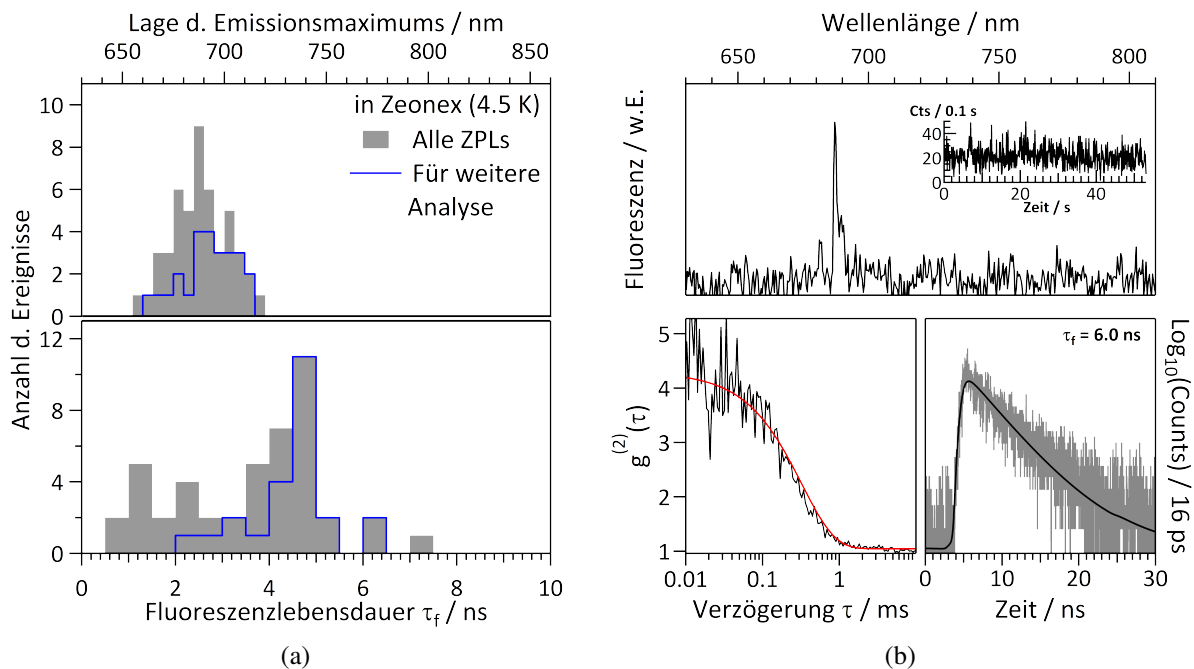
**Abbildung 7.6:** (a) Fluoreszenzzerfälle von zwei Chl *a*- Einzelmolekülen in Zeonex bei Raumtemperatur unter Argonstrom. Die Zerfälle sind exponentiell angepasst, wodurch sich Zerfallszeiten von  $\tau_{f,1} = 1.4 \text{ ns}$  sowie  $\tau_{f,2} = 6.1 \text{ ns}$  ergeben. ( $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$ , Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{\text{exc}} \approx 1.5 \text{ kW/cm}^2$ ). (b) Verteilung der ermittelten Fluoreszenzzerfallszeiten von Chl *a* in Zeonex bei Raumtemperatur (unter Argonstrom) und 4.5 K (Heliumatmosphäre). Die Mittelwerte inkl. Standardabweichung der Verteilungen betragen  $\bar{\tau}_{Z,RT} = (3.4 \pm 1.4) \text{ ns}$  und  $\bar{\tau}_{Z,4.5K} = (3.6 \pm 1.6) \text{ ns}$  (siehe auch Tabelle 7.4).

der IRF sind ebenfalls abgebildet. In Abbildung 7.6b sind die Histogramme aller ermittelten Zeiten bei Raumtemperatur denen bei 4.5 K gegenübergestellt. Die Werte zeigen in beiden Fällen keine eindeutige Häufung, sondern jeweils eine breite Verteilung. Deren Mittelwerte ergeben mit  $\bar{\tau}_{Z,RT} = (3.4 \pm 1.4) \text{ ns}$  und  $\bar{\tau}_{Z,4.5K} = (3.6 \pm 1.6) \text{ ns}$  niedrigere Zeiten als die zuvor im Ensemble ermittelten Werte ( $\tau_{\text{Zeo}}^{\text{Ens}} = 7.0 \text{ ns}$  bzw.  $\tau_{\text{Zeo,alt}}^{\text{Ens}} = 5.0 \text{ ns}$ ).

Ein gleiches Bild zeigt sich für die Fluoreszenzlebenszeiten bei den Messungen, die ohne Matrix (unter Argonstrom) durchgeführt wurden. Deren Verteilung ist in Abbildung 7.5b abgebildet und weist ebenfalls eine vergleichbare Streuung der Zeiten auf. Der arithmetische Mittelwert von  $\bar{\tau}_{\text{om,RT}} = (3.5 \pm 1.7) \text{ ns}$  ist vergleichbar mit den Ergebnissen in Zeonex. Alle ermittelten Werte sind in Tabelle 7.4 zusammengetragen.

### 7.2.3 Übergangsraten photophysikalischer Prozesse bei 4.5 K

Ziel der folgenden Untersuchungen an Chl *a*-Einzelmolekülen war es, Zugang zu photophysikalischen Parametern wie der *intersystem crossing*-Rate ( $k_{\text{ISC}}$ ) oder der Tripletrate ( $k_{\text{T}}$ ) zu erhalten. Dies ist möglich über die Analyse der Fluoreszenzintensitäts-Autokorrelationsfunktion zweiter Ordnung  $g^{(2)}(\tau)$ , wie bereits mehrfach in der Literatur gezeigt wurde [13, 102, 115, 118]. Eine Erläuterung der Theorie und Messmethode findet sich in den Ka-

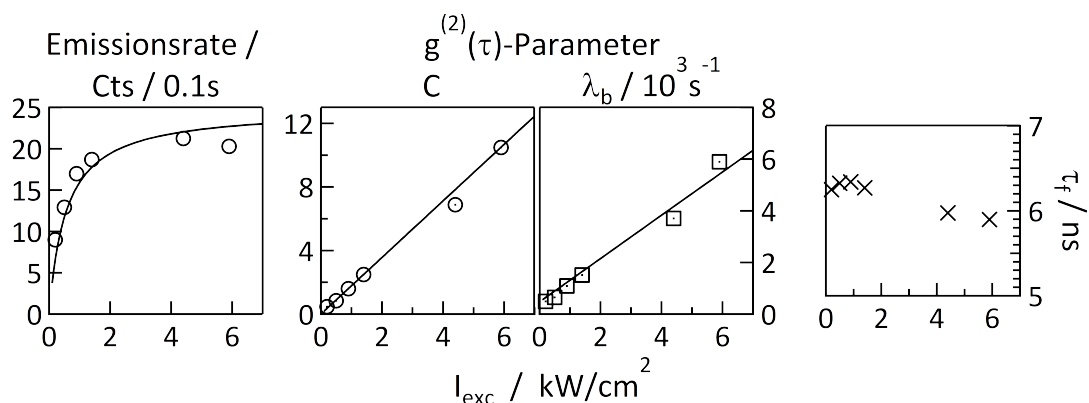


**Abbildung 7.7:** (a) Histogramm der Fluoreszenzlebensdauern (oben) und spektralen Lagen (unten) von Chl *a* in Zeonex bei  $T = 4.5$  K (Histogramme in grau übernommen aus Abbildung 7.4b und 7.6b). In blau ist gezeigt, welche dieser Moleküle für die weitere Analyse verwendet wurden. (b) Emissionsspektrum und Fluoreszenzzeitspur eines für die weitere Analyse verwendeten beispielhaften Chl *a* - Moleküls in Zeonex bei  $T = 4.5$  K (oben,  $t_{\text{int}} = 10$  s). Außerdem sind die dazugehörige Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  (unten links) und der simultan gemessene Fluoreszenzzerfall (unten rechts) gezeigt. ( $\lambda_{\text{exc}} = 635$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{\text{exc}} \approx 2.9$  kW/cm<sup>2</sup>)

piteln 2.1.2 und 3.3.5. Das Vorgehen wird hier daher nur kurz skizziert. Für die Analyse ist es nötig, an einem Molekül die Parameter der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  in Abhängigkeit der Anregungsintensität zu bestimmen. Bei den Raumtemperaturmessungen lag selbst unter Argonstrom keine ausreichende Photostabilität vor, um eine solche Messung durchführen zu können. Bei tiefen Temperaturen war dagegen eine hinreichende Photostabilität gegeben. Des Weiteren zeigte Chl *a* bei Raumtemperatur i.d.R. keinen Kontrast in der Autokorrelation, zumindest nicht messbar über die Dauer bis zum Photobleichen. In Abschnitt 7.3 wird näher auf diese Thematik eingegangen.

Für die Tieftemperaturuntersuchungen ist die Probenpräparation von Chl *a* eingebettet in eine Zeonex - Matrix gewählt worden. Abbildung 7.7 zeigt erneut die im vorherigen Abschnitt präsentierten Histogramme der spektralen Lage sowie der ermittelten Fluoreszenzlebensdauer. Dabei sind nur solche Moleküle berücksichtigt worden, die eine zeitliche stabile und schmalbandige Emission (ZPL) zeigten, was für 16 % (48/302) der Fall war. Von diesen konnte bei 45 Molekülen erfolgreich die Fluoreszenzlebensdauer mit einem exponentiellen Zerfall angepasst werden.





**Abbildung 7.8:** Emissionsrate  $R$  und Kontrast  $C$  sowie die Zerfallsrate  $\lambda_b$  der  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion (siehe Gleichung 7.1) für ein Chl  $a$ -Molekül bei 4.5 K in Abhängigkeit der Anregungsintensität. Alle drei Parameter sind global angepasst worden. Ebenfalls gezeigt ist die jeweils simultan ermittelte Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  (rechts), die als Randbedingung in die globale Anpassung mit eingehend.

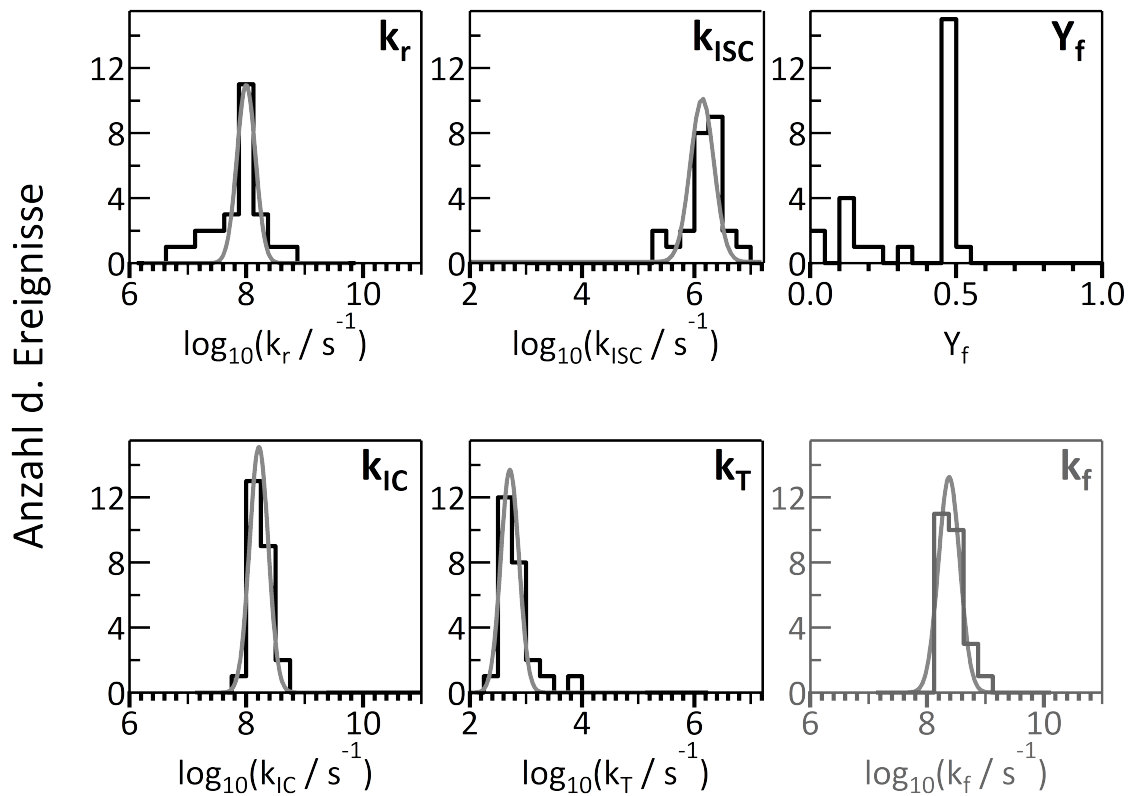
Im Weiteren war es nun für 25 Moleküle dieser Verteilungen möglich eine Analyse der Autokorrelationsfunktion in Abhängigkeit der Anregungsintensität durchzuführen. Abbildung 7.7b zeigt beispielhaft Daten eines dieser 25 Chl  $a$ -Moleküle. Im oberen Bild ist die ZPL inklusive der eingefügten Fluoreszenzzeitspur abgebildet. Im unteren Teil ist auf der linken Seite die dazugehörige Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  dargestellt, ermittelt über die gesamte Messdauer, inklusive der exponentiellen Anpassung. Rechts ist die Abbildung des simultan gemessenen Fluoreszenzzerfalls gezeigt. Die darüber ermittelte Fluoreszenzlebensdauer geht als Randbedingung in die weitere Analyse ein.

Die  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion, die in Abbildung 7.7b zu sehen ist, zeigt den charakteristischen *bunching*-Bereich eines Einzelphotonenemitters. Dieser kann hier gut mit einem exponentiellen Zerfall der Form

$$g^{(2)}(\tau) \cong C e^{-\lambda_b \tau} + 1 \quad (7.1)$$

beschrieben werden. Dabei steht der Parameter  $C$  für den Kontrast und  $\lambda_b$  für die Zerfallsrate der Funktion.

Abbildung 7.8 (mittig) zeigt diese beiden Parameter in Abhängigkeit der Anregungsintensität für das in Abbildung 7.7b vorgestellte Molekül. Ebenso ist die Emissionsrate  $R$  dargestellt (Abbildung 7.8 links), ermittelt aus der Fluoreszenzzeitspur. Die drei Parameter können alle über die gleichen folgenden photophysikalischen Größen beschrieben werden: Anregungsrate  $k_{12}$ , intersystem crossing - Rate  $k_{\text{ISC}}$ , Tripletttrate  $k_{\text{T}}$ , strahlende Rate  $k_{\text{r}}$ , innere Konversion  $k_{\text{IC}}$  und Absorptionsquerschnitt  $\sigma$ . Eine globale Anpassung dieser drei Messwerte ( $R$ ,  $C$  und  $\lambda_b$ ) erlaubt daher die Extraktion dieser Größen, aus denen sich im Weiteren ebenfalls die Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_{\text{f}}$  oder die Triplettquantenausbeute  $Y_{\text{ISC}}$  berechnen lassen.



**Abbildung 7.9:** Verteilungen photophysikalischer Parameter von Chl *a* bei 4.5 K in Zeonex.  $Y_f$  ist keine unabhängige Variable, sondern ergibt sich über  $Y_f = \frac{k_r}{k_r + k_{ISC} + k_{IC}} \cdot k_f$  (grau) ist unabhängig ermittelt worden und ging als Randbedingung für die Bestimmung der anderen Parameter ein. Alle Übergangsraten sind logarithmiert dargestellt und mit einer Normalverteilung angepasst worden. In Tabelle 7.5 sind die dazugehörigen Mittelwerte eingetragen.

In der Praxis zeigten sich allerdings insbesondere  $k_{IC}$  und  $\sigma$  stark abhängig von der in die Anpassung eingehende Setupdetektionseffizienz  $\eta_{Det}$ , die vorab über die einzelnen Bauteile des Aufbaus mit 1 % abgeschätzt und festgelegt worden ist (siehe Anhang Tabelle A.2). Die Bestimmung von  $k_f$  zeigte sich dagegen diesbezüglich vergleichsweise stabil. Gleiches gilt für  $k_{ISC}$  und  $k_T$ , da diese Raten bereits lediglich über die Anregungsleistungsabhängigkeit der  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion bestimmt werden können, unabhängig von  $R$  bzw.  $\eta_{Det}$ .

In Abbildung 7.9 sind die Ergebnisse für die 25 analysierten Moleküle zu sehen. Für alle Übergangsraten sind klare Häufungen der ermittelten Werte zu erkennen, die zunächst logarithmiert und dann über Normalverteilungen angepasst wurden. Die Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  zeigt im Vergleich eine etwas größere Streuung, obgleich 16 der 25 Moleküle in einem schmalen Bereich um den Wert von  $Y_f \approx 50\%$  liegen. Wie zuvor bereits erwähnt, geht  $Y_f$  allerdings nicht als unabhängige Variable in die Analyse ein, sondern ergibt sich aus den anderen Übergangsraten (siehe Gleichung 2.11). In grau ist zudem in der Abbildung 7.9 die

## 7.2.4 Anregungsspektren

**Tabelle 7.5:** Photophysikalische Parameter von Chl *a* in Zeonex bei T = 4.5 K, resultierend aus den Ergebnissen, die in Abbildung 7.9 gezeigt sind.

$k_{\text{ISC}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{ISC}}^{-1}$ )	$k_{\text{T}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{T}}^{-1}$ )	$k_{\text{r}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{r}}^{-1}$ )	$k_{\text{IC}}^{\#} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{IC}}^{-1}$ )	$\sigma / \dagger, \#$ $10^{-21} \text{ m}^2$	$Y_{\text{f}}^{a, \#}$	$Y_{\text{ISC}}^a$	$k_{\text{f}} / \text{s}^{-1}{}^b$ ( $k_{\text{f}}^{-1}$ )
$1.8 \cdot 10^6$ (0.5 $\mu\text{s}$ )	$5.2 \cdot 10^2$ (1.9 ms)	$1.0 \cdot 10^8$ (10 ns)	$1.6 \cdot 10^8$ (6.1 ns)	4	36 %	1 %	$2.3 \cdot 10^8$ (4.4 ns)

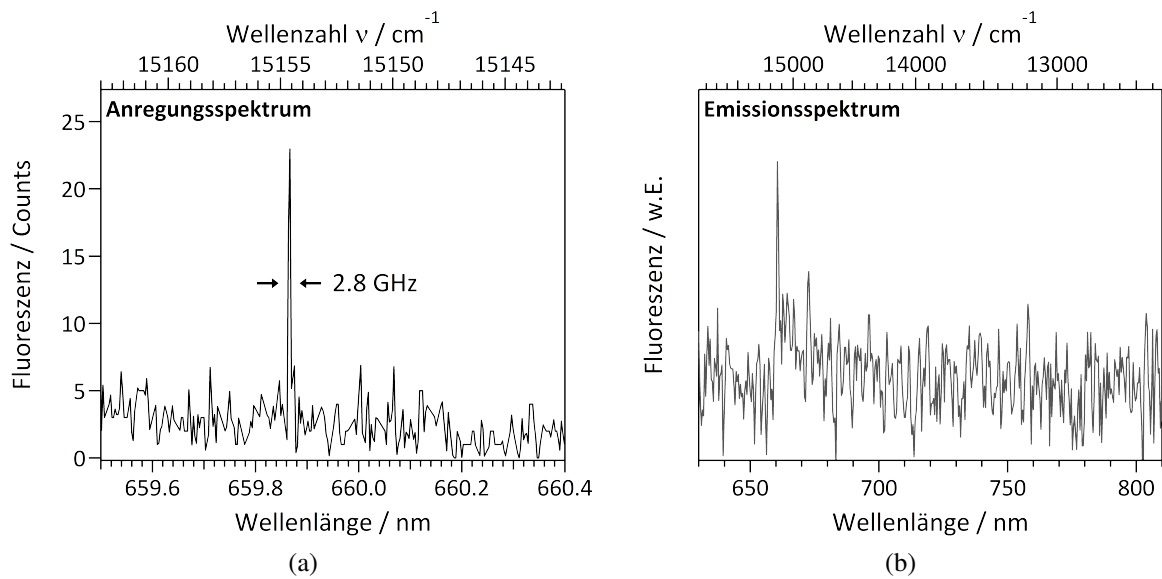
<sup>a</sup> Angegebener Mittelwert keine unabhängige Variable in Anpassung, sondern für jedes Molekül über  $Y_{\text{f}} = \frac{k_{\text{r}}}{k_{\text{r}} + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}}$  bzw.  $Y_{\text{ISC}} = \frac{k_{\text{ISC}}}{k_{\text{r}} + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}}$  berechnet. <sup>b</sup> Werte unabhängig über gepulste Anregung bestimmt und als Randbedingung in die Bestimmung der ermittelten Raten eingegangen. <sup>†</sup> Angegebener Mittelwert nur eine grobe Abschätzung, da unterschätzt durch Einfluss von Verteilung der Übergangsdipolmomentorientierung ggü. Anregungslaserpolarisierung. <sup>#</sup> Wert stark gebunden an die vorgegebene Detektionseffizienz ( $\eta_{\text{Det}} = 1 \%$ ).

unabhängig bestimmte Fluoreszenzlebensdauer ( $k_{\text{f}} = \frac{1}{\tau_{\text{f}}}$ ) aufgetragen (Mittelwert über alle Anregungsintensitäten eines Moleküls).

In Tabelle 7.5 sind die ermittelten Größen, inklusive einer Abschätzung für den Absorptionsquerschnitt, eingetragen. Letzterer ist hier nicht genau zu ermitteln, da die Lage der molekularen Übergangsdipolmomente bezüglich der festen Laserpolarisation (linear) statistisch verteilt ist und einen maßgeblichen Einfluss darstellt (Verteilung von  $\sigma$  siehe Anhang Abbildung A.10a). Der ermittelte Wert von  $\sigma$  stellt demnach einen effektiven mittleren Absorptionsquerschnitt dar.

## 7.2.4 Anregungsspektren

In einer weiteren Messung sind einige Anregungsspektren von Chl *a* gemessen worden. Informationen zu der Methodik sind in Kapitel 3.3.1 zu finden. Wie zuvor zu sehen war, zeichnet sich das Emissionsspektrum von Chl *a* durch eine sehr schwache Seitenbande aus und beinahe alle emittierten Photonen entstammen rein elektronischen Übergängen (siehe Abbildung 7.4a und 7.7b), ohne die Beteiligung von Phononen/Vibrationen (ZPL). Zusätzlich ist die Emission von Chl *a* grundsätzlich nicht sehr intensiv, weshalb die Detektion von Anregungsspektren eine Herausforderung darstellte. Es ist dennoch gelungen, erfolgreich von sechs Molekülen ein Anregungsspektrum aufzunehmen. Dafür war es notwendig die Filterkante des im Emissionstrahlengang verwendeten Langpassfilters für jedes Molekül individuell anzupassen. Durch das Verkippen des Filters ist dieses für den Bereich von einigen Nanometern realisierbar. Darüber ist versucht worden, die Filterkante möglichst nahe an die niederenergetische Flanke der ZPL zu verschieben.

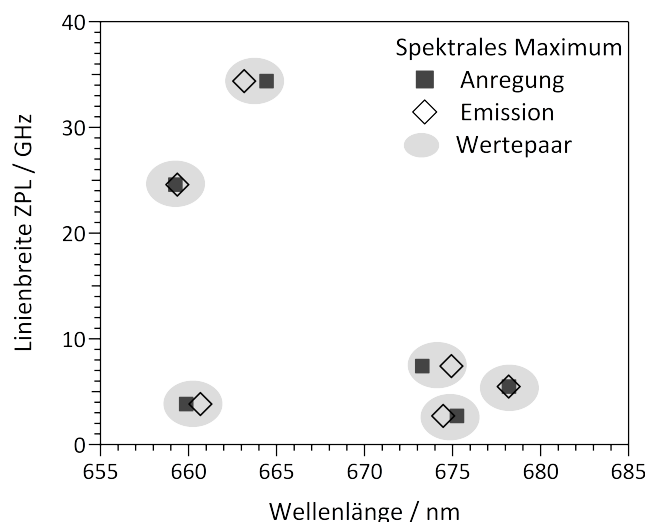


**Abbildung 7.10:** Anregungs- (a) und Emissionsspektrum (b) eines Chl *a*- Moleküls in Zeonex bei  $T = 4.5$  K. (Emissionsspektrum:  $\lambda_{\text{exc}} = 630$  nm,  $I_{\text{exc}} \approx 0.4$  kW/cm<sup>2</sup>,  $t_{\text{int}} = 10$  s; Anregungsspektrum:  $\lambda_{\text{exc}} = 662$ -659 nm, 1024 Pixel,  $t_{\text{int}} = 100$  ms,  $I_{\text{exc}} \approx 0.03$  kW/cm<sup>2</sup>).

Abbildung 7.10 zeigt beispielhaft das Anregungs- und Emissionsspektrum eines Chl *a*- Moleküls in Zeonex. In Abbildung 7.11 sind paarweise von insgesamt sechs Molekülen bestimmte Lagen des Anregungs- und Emissionsmaximums zu sehen, aufgetragen gegen die dazugehörige Linienbreite, die aus dem jeweiligen Anregungsspektrum ermittelt wurde. Es ist deutlich zu sehen, dass einige Linienbreiten mit 2-3 GHz nahe an der Linienbreite des Anregungslasers liegen. Andere Werte sind allerdings auch deutlich darüber, wobei in diesen Fällen von spektraler Diffusion als Ursache ausgegangen wird. Die schmalste ermittelte Linie ist diejenige, die in der Abbildung 7.10b mit 2.8 GHz abgebildet ist. Da kein Stokes - Shift zwischen der ZPL in Anregung und Emission existieren sollte, werden kleinere Abweichungen bezüglich der spektralen Lagen auf Kalibrationsungenauigkeiten des Spektrometers (für die Emissionsspektren) zurückgeführt.

## 7.3 Diskussion der Ergebnisse

Die nun folgende Diskussion der Daten folgt weitestgehend separaten Besprechung sowie Einordnung der einzelnen photophysikalischen Parameter für Chl *a*, die bei  $T = 4.5$  K ermittelt werden konnten. Begonnen wird dabei mit der inneren Konversion  $k_{\text{IC}}$ . Aufgrund des nicht messbaren Kontrasts der  $g^{(2)}(\tau)$ - Funktion bei Raumtemperatur (RT) erfolgt vorab eine theoretische Betrachtung zu dem Ratenverhältnis von innerer Konversion  $k_{\text{IC}}$  und der gesamten



**Abbildung 7.11:** Spektrale Lagen von Anregungs- und Emissionsspektrum aller gemessenen Moleküle, aufgetragen gegenüber der ermittelten Linienbreite aus dem Anregungsspektrum.

nicht-strahlenden Rate aus  $S_1$  ( $k_{nr} = k_{IC} + k_{ISC}$ ), mit entsprechenden Werten aus der Literatur. Darüber soll abgeschätzt werden, in welchem Maße innere Konversion  $k_{IC}$  stattfinden muss, sodass bei Raumtemperatur der Kontrast verschwindend klein ist.

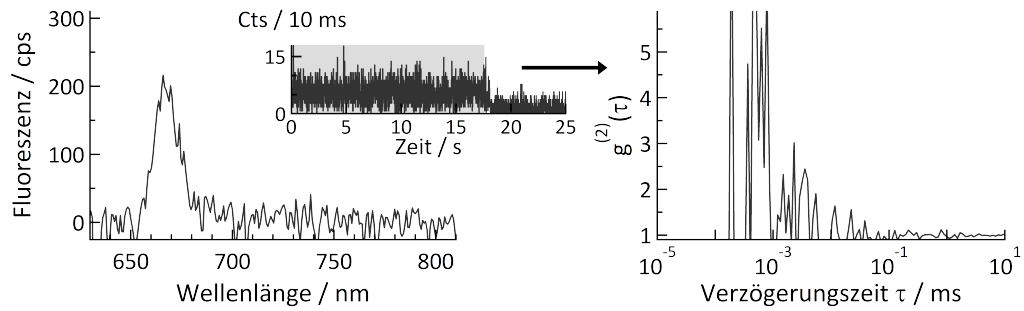
Die darauf folgende Diskussion zu weiteren Parametern ( $k_T^{-1}$ ,  $k_{ISC}$ ,  $k_r$ ,  $Y_f$ ,  $\lambda_{em}$ ,  $\tau_f$ ) orientiert sich dann hauptsächlich an den ermittelten Werten bei  $T = 4.5$  K.

### Innere Konversion $k_{IC}$

Die Beobachtung eines ausbleibenden  $g^{(2)}(\tau)$ -Kontrasts bei RT steht in starker Diskrepanz zu den Beobachtungen bei  $T = 4.5$  K. In letzterem Fall war in der Regel bereits nach einigen Hundert detektierten Photonen ein starker Kontrast zu beobachten (vergleiche Abbildung 7.7b). Abbildung 7.12 zeigt repräsentativ ein Spektrum eines Chl *a*-Moleküls bei Raumtemperatur inklusive der Fluoreszenzzeitspur und der Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$ . Für den geringen Kontrast werden zwei mögliche Erklärungsansätze angeführt:

Zum einen könnte bei den Untersuchungen der Sauerstoffgehalt der Umgebung trotz Argonstrom noch ausreichend groß gewesen sein, um die Triplettlebensdauer  $k_T^{-1}$  stark herab zu setzen. Sauerstoff fungiert bekanntermaßen als guter *quencher* von Singulett- und Triplettzuständen [27, 28, 174]. Dies hätte eine starke Verringerung des Kontrasts in der Autokorrelation zur Folge.

Ein weiterer möglicher Grund für den niedrigen Kontrast könnte eine temperaturabhängige und bei Raumtemperatur vergleichsweise hohe innere Konversionsrate  $k_{IC}$  sein. Eine deutliche Verringerung der inneren Konversion bei  $T = 4.5$  K würde dann zu einer Erhöhung des Kon-



**Abbildung 7.12:** Spektrum eines Chl *a*-Moleküls in Zeonex bei Raumtemperatur unter Argonstrom ( $t_{\text{int}} = 1$  s). Eingefügt ist die Fluoreszenzzeitspur, in welcher der Zeitraum grau hinterlegt ist, über den sowohl für das Spektrum als auch für die Autokorrelation (rechts) gemittelt bzw. korreliert wurde. (Breitbandanregung mit  $\lambda_{\text{exc}} = 608 - 628$  nm, gepulst bei einer Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{\text{exc}} \approx 0.6$  kW/cm<sup>2</sup>)

trasts führen.

Um diese zwei Szenarien genauer anhand von Literaturdaten zu beleuchten, sind in Abbildung 7.13 theoretische Autokorrelationsfunktionen nach Gleichung 2.23 für zwei unterschiedliche Triplettlebensdauern  $k_T^{-1}$  dargestellt. Dabei wird von einer gegebenen Fluoreszenzquantenausbeute von  $Y_f = 33\%$  ausgegangen. Auch die restlichen Parameter sind identisch, mit einer Extinktion  $\varepsilon = 13160$  M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>, einer Anregungswellenlänge  $\lambda_{\text{exc}} = 635$  nm und einer Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f = 6.3$  ns. Es soll nun erörtert werden, wie sich bei gegebener Fluoreszenzquantenausbeute unterschiedliche Verhältnisse der nicht - strahlenden Depopulationsprozesse ( $k_{\text{IC}}$  und  $k_{\text{ISC}}$ ) auf den Kontrast auswirken. Aus den Werten von  $Y_f$  und  $\tau_f$  ergibt sich mit

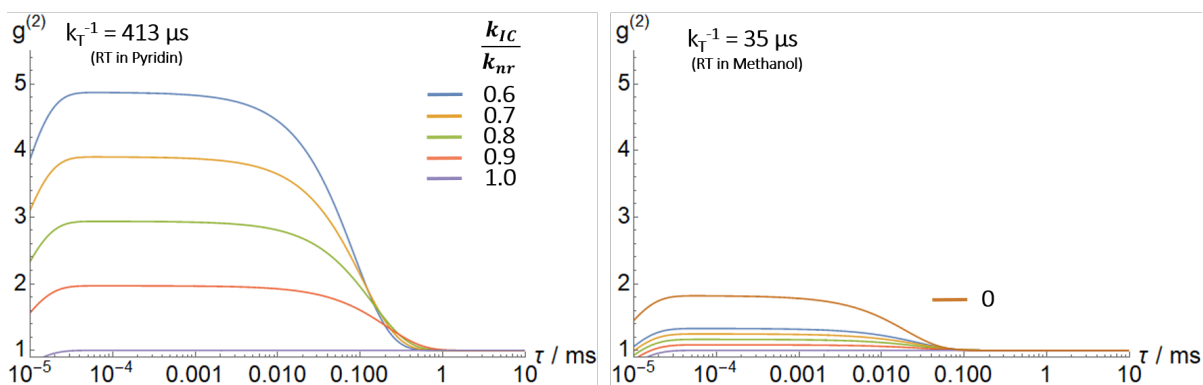
$$Y_f = \frac{k_r}{k_r + k_{\text{ISC}} + k_{\text{IC}}} = \frac{k_r}{\tau_f^{-1}} \quad (7.2)$$

ein Wert für die Summe der nicht - strahlenden Raten:

$$k_{\text{ISC}} + k_{\text{IC}} = k_{\text{nr}} = 1.06 \cdot 10^8 \frac{1}{\text{s}} \quad (7.3)$$

Bei den abgebildeten Verläufen ist nun das Verhältnis von  $\frac{k_{\text{IC}}}{k_{\text{nr}}}$  variiert worden. Für den Fall der längeren Triplettlebensdauer von  $k_T^{-1} = 413$   $\mu\text{s}$  (Abbildung 7.13 links) ist stets ein starker Kontrast in der Korrelationsfunktion zu sehen. Ausgenommen ist der Fall von  $\frac{k_{\text{IC}}}{k_{\text{nr}}} \rightarrow 100\%$ , was gleichbedeutend ist mit  $k_{\text{ISC}} \rightarrow 0$ . Es ist trivial, dass für diesen Fall der Kontrast verschwindet, da der Triplettzustand nun nicht mehr bevölkert wird. Allerdings steigt bereits bei einem geringen Anteil von  $k_{\text{ISC}}$  an der nicht - strahlenden Rate der Kontrast stark an und würde mutmaßlich bereits bei wenigen Hundert detektierten Photonen zu sehen sein.

Der rechte Teil der Abbildung 7.13 zeigt nun die Auswirkungen einer Verringerung der Tri-



**Abbildung 7.13:** Theoretische Verläufe von  $g^{(2)}(\tau)$ . Die Werte für  $k_T^{-1}$  stammen aus [128]. Weitere verwendete Werte:  $\sigma_{\text{abs}} = 2.11 \cdot 10^{-21} \text{ m}^2$  ( $\hat{=}$  Anregung in die Seitenbande mit  $\epsilon = 13160 \frac{1}{\text{M}\cdot\text{cm}}$ ),  $I_{\text{exc}} = 0.5 \text{ kW/cm}^2$ ,  $\lambda_{\text{exc}} = 635 \text{ nm}$ ,  $k_r = \frac{Y_r}{\tau_r} = \frac{0.33}{6.3\text{ns}} = 5.24 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_{\text{nr}} = k_{\text{ISC}} + k_{\text{IC}} = 1.07 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ .

plettlebensdauer auf  $k_T^{-1} = 35 \mu\text{s}$ . Dieses Modell spiegelt den zuvor bereits genannten Fall einer niedrigen Triplettlebensdauer wider und der Kontrast ist im Vergleich deutlich geringer. Erst für den Fall  $k_{\text{nr}} \rightarrow k_{\text{ISC}}$  ( $\frac{k_{\text{IC}}}{k_{\text{nr}}} = 0 \%$ ) steigt dieser merklich an, sodass man sicher erwarten könnte diesen auch bei wenigen Photonen bereits aufzeichnen zu können.

Da keine eigene Ermittlung der Triplettlebensdauer  $k_T^{-1}$  bei Raumtemperatur erfolgen konnte, lässt sich nicht mit Sicherheit sagen, welches dieser beiden gezeigten Modelle näher an der Realität liegt. Die in der Literatur angegebenen Werte für  $k_T^{-1}$  sind nach eigenem Kenntnisstand nur für Untersuchungen in Lösung bekannt und variieren zudem stark. Je nach Lösemittel und Umgebung liegen sie zwischen 30 - 5000  $\mu\text{s}$  [128, 175–179] und verkürzen sich unter Einfluss von Sauerstoff um etwa zwei Größenordnungen [177]. Trotz restlichem Sauerstoff bei den hier gezeigten Untersuchungen unter Argonstrom, wird ein derart starker Einfluss von  $\text{O}_2$  allerdings als unrealistisch eingeschätzt. Zudem stellt der Wert für die Triplettlebensdauer von  $k_T^{-1} = 35 \mu\text{s}$  einen vergleichsweise kleinen Wert dar, bei welchem dennoch ein Korrelationskontrast zu beobachten sein sollte, ginge man von einer vernachlässigbaren inneren Konversion  $k_{\text{IC}} \rightarrow 0$  aus. Daher wird zu dem Schluss gekommen, dass innere Konversion bei Raumtemperatur in einem signifikanten Maße stattfindet, sofern die Annahme einer Fluoreszenzquantenausbeute von 0.33 zutreffend ist.

Das Ergebnis von  $k_{\text{IC}}^{4.5\text{K}} = 1.6 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ , welches bei 4.5 K ermittelt worden ist, deckt sich mit dieser Schlussfolgerung. Vorab sei erneut erwähnt, dass der Wert der inneren Konversion  $k_{\text{IC}}$  allerdings innerhalb der Analysemethode stark abhängig ist von der vorgegebenen Detektionseffizienz, die mit  $\eta_{\text{Det}} = 1 \%$  abgeschätzt wurde. Gleichwohl stellt hier die innere Konversion nicht nur einen signifikanten sondern sogar den dominierenden Anteil ( $Y_{\text{IC}} = 61 \%$ ) der Depopulationsprozesse von  $\text{S}_1$  dar. Auch unter Berücksichtigung einer gewissen Fehleranfälligkeit

von  $k_{IC}$  ist eindeutig, dass die innere Konversion zu einem signifikanten Anteil stattfinden muss, um die erhobenen Daten beschreiben zu können.

Angaben zu einer inneren Konversionsrate aus der Literatur sind nicht bekannt. Allerdings wird beispielsweise von Bowers et al. der inneren Konversion in unpolaren Lösemitteln ein mutmaßlich wesentlicher Beitrag zugesprochen [171].

### **Fluoreszenzquantenausbeute $Y_f$**

Wenngleich die Fluoreszenzquantenausbeute kein unabhängig bestimmter Parameter in der Analyse darstellte, soll dieser charakteristische Wert eines Chromophors ebenfalls im Folgenden diskutiert werden.

$Y_f$  weist im Vergleich zu den zugrundeliegenden Übergangsraten eine starke Streuung auf, mit Werten zwischen 3 - 50 %. Allerdings liegt der arithmetische Mittelwert mit 36 % nur leicht über dem für Chl *a* typischen Wert von etwa 33 %, der ebenfalls hier im Ensemble bei Raumtemperatur bestimmt wurde (siehe Abschnitt 7.1.2). Da  $Y_f$  u.a. über die innere Konversion  $k_{IC}$  ermittelt wurde, liegt auch diesem Wert die gleiche Fehleranfälligkeit zugrunde, gegeben durch den Einfluss der abgeschätzten Detektionseffizienz des Aufbaus  $\eta_{Det}$ . Dennoch sollen die ermittelten Werte eingeordnet werden. In Abschnitt 7.1.2 ist dies bereits für die Ensembledaten geschehen. In der Literatur liegen die Werte für Raumtemperatur typischerweise bei  $\leq 35$  %. Ebenfalls wurde allerdings bereits erwähnt, dass eine Veröffentlichung von Broyde und Brody (1967) [164] existiert, in welcher ein starker Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute im Temperaturbereich von 300 K und 4 K um einen Faktor von 3.9 auf  $\approx 85$  % (in Ethanol) beobachtet wurde. In einer anderen Veröffentlichung von Krasnovsky et al. [179] wird ein Wert von 55-60 % in Pyridin bei  $T = 77$  K aus [180] zitiert. Bei den hier gezeigten Ergebnissen existiert ebenfalls eine größere Gruppe von Molekülen, deren Werte im Bereich um 50 % liegen. Ebenso existieren welche, bei denen die Fluoreszenzquantenausbeute deutlich weniger als 30 % beträgt. Weitere Beobachtungen dieser Art oder gar Messungen an Chl *a* - Einzelmolekülen sind nicht bekannt. Dass Chlorophylle allerdings unter gewissen Umständen in der Lage sind ihre Fluoreszenzquantenausbeute zu regulieren ist aus Messungen *in vivo* geläufig, wie der folgende Abschnitt kurz erläutern soll:

#### **Verhalten *in vivo*: non - photochemical quenching**

Dass Chlorophylle *in vivo* (eingebettet in einem Proteingerüst / Photosystem) in der Lage sind die Fluoreszenzquantenausbeute zu regulieren und somit auf äußere Einflüsse zu reagieren, ist bereits 1960 von Kautsky et al. entdeckt worden und als Kautsky-Effekt



---

bekannt [181]. Er beschreibt das Auftreten einer kurzzeitig erhöhten Fluoreszenz von Chlorophyll *in vivo*, nachdem es aus dem Dunklen ans Licht gebracht wird [182]. Dieser kurzzeitige Effekt wird auf ein 'geschlossenes' Reaktionszentrum innerhalb des Photosystems zurückgeführt, wodurch kein Energietransfer entlang der Energiesenke hin zum Reaktionszentrum des Photosystems stattfinden kann.

Um vor Photooxidationsschäden zu schützen, existieren *in vivo* Mechanismen, die in *photochemical quenching* (PQ) und *non-photochemical quenching* (NPQ) kategorisiert werden. Erster steht für photochemische Reaktionen, die zur Abregung des Moleküls führen (Ladungstransfer). Der zweite Mechanismus steht dagegen für einen Prozess, bei dem die Anregungsenergie in Wärme umgewandelt wird und zu einer Abregung (*quenching*) führt. Dieser Mechanismus ist häufig in der Literatur bestätigt und kann eine dominierende Rolle ( $Y_{Qu} = 75\%$  [183]) für den Übergang von  $S_1$  nach  $S_0$  einnehmen [181, 182, 184–187]. Ob dieses *in vivo*-Verhalten übertragbar ist auf hier gezeigte Messungen in einer Polymermatrix und der ermittelten inneren Konversion entspricht, ist schwer zu beurteilen, da der genaue Mechanismus des Effekts nicht vollständig verstanden zu sein scheint. Grundsätzlich ist es allerdings sicher, dass gewisse Umstände (in der Umgebung) vorliegen können, die einen hohen Einfluss auf die innere Konversion  $k_{IC}$  und somit auch auf die Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  bei Chlorophyllen haben können.

### ***Intersystem crossing - Rate ( $k_{ISC}$ ) und strahlende Rate ( $k_f$ )***

Werte für die *intersystem crossing*-Rate  $k_{ISC}$  von Chl *a* bei 4.5 K sind aus der Literatur nur wenige bekannt. Daher kann der hier ermittelte mittlere Wert nur schwer eingeordnet werden ( $k_{ISC} = 1.8 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ ). Renger et al. haben in einer Veröffentlichung einen deutlich höheren Wert von  $k_{ISC}^{Lit} = 1.4 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  angegeben, resultierend aus einem theoretischen Model zur Anpassung einer temperaturabhängig gemessenen Fluoreszenzlebensdauer von Chl *a*-Dimeren in WSCP (*Water-Soluble Chlorophyll Protein*) [188]. Außerdem haben Elli et al. einen Wert von sog. 'red pool chlorophylls' im Photosystem I ermittelt, also von einer vergleichsweise 'roten' Spezies innerhalb dieses Lichtsammelkomplexes ( $\lambda_{em} = 745 \text{ nm}$ ). Demnach ergibt sich ein vergleichbarer Wert von  $k_{ISC}^{Lit} = 5.9 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$  [68]. Die dazugehörige Triplettquantenausbeute wurde auf  $Y_{ISC}^{Lit} = 1\%$  abgeschätzt und stimmt sogar überein mit dem hier ermittelten Wert  $Y_{ISC} = 1\%$  (Verteilung im Anhang A.10b). Zu diesem Parameter lassen sich allerdings, je nach Messumgebung, in der Literatur sehr unterschiedliche Werte finden ( $Y_{ISC} < 0.5\%$  [189],  $Y_{ISC} = < 10\%$  bzw.  $64\%$  [171]).

Zur **strahlenden Rate**  $k_r$  existieren noch weniger Vergleichswerte in der Literatur. Ein häufig zitierter Wert stammt aus einer Veröffentlichung von Brody und Rabinowitch (1956) [166] mit  $k_{r,\text{lit}}^{-1} = 15.2 \text{ ns}$ , ermittelt über  $k_r^{-1} = \frac{\tau_f}{Y_f}$  in Ethylether bei Raumtemperatur, der in der gleichen Größenordnung wie der hier bestimmte mittlere Wert von  $k_r^{-1} = 10 \text{ ns}$  liegt.

Zu Bakteriochlorophyll *a* existieren von Connolly et al. mehrere Werte in Lösung, ermittelt über die gleiche Beziehung, die ebenfalls in vergleichbarer Größenordnung zwischen 12-18 ns liegen [190].

### Triplettlebensdauer $k_T^{-1}$

Wie bereits zuvor in der Diskussion zur inneren Konversion  $k_{IC}$  erwähnt wurde, finden sich in der Literatur verschiedene Werte für die Triplettlebensdauer  $k_T^{-1}$ . Diese liegen je nach Lösemittel im Ensemble bei Raumtemperatur zwischen 30 - 5000  $\mu\text{s}$  [128, 175–179]. Die Triplettlebensdauer reduziert sich stark, um etwa zwei Größenordnungen, sobald Sauerstoff als *quencher* in der Umgebung vorhanden ist [177]. Die hier bei 4.5 K ermittelte mittlere Triplettlebensdauer beträgt  $k_T^{-1} = 1.9 \text{ ms}$ . Vergleichswerte bei tiefen Temperaturen existieren in der Literatur nur wenige. Muring et al. veröffentlichten mehrere Ergebnisse, bestimmt in Lösung bei  $T = 77 \text{ K}$ , die je nach gewähltem Lösemittel und Anregungswellenlänge zwischen 0.93 - 4.38 ms liegen [191]. Den angegebenen Werten ist dabei die Anzahl der Liganden am zentralen  $\text{Mg}^{2+}$  - Ion des Chlorophylls zugeordnet. Daraus ergäben sich mittlere Triplettlebensdauern von 2.5 ms und 1.4 ms für Lösemittel, die mit einem bzw. zwei Liganden koordinieren und 0.8 ms wenn im Lösemittel zwei Liganden und zusätzlich Wasserstoffbrückenbindungen am Makrozyklus vorliegen. Muring et al. führen an, dass die höhere Anzahl an Liganden nur indirekt eine Verringerung der Triplettlebensdauer zur Folge hat, indem sie zu einer kleineren Energieaufspaltung zwischen HOMO und LUMO führen und demnach auch zu einer geringeren Energielücke zwischen  $T_1$  und  $S_0$ . Dem folgend zeigen sie, dass die Triplettlebensdauer mit dem *energy gap law*<sup>a</sup> beschrieben werden kann. Damit widersprechen sie vorherigen Thesen von Bowman [178]. Dieser postulierte, dass der Grad der geometrischen Störung senkrecht zur Molekülebene an den vier Stickstoffatomen des Chlorophylls entscheidend sei für die Triplettlebensdauer. In einer hexakoordinierten Anordnung des  $\text{Mg}^{2+}$  - Ions, d.h. es existieren zwei zusätzliche Liganden der Lösung symmetrisch von unten und oben (*anti* - bzw. *syn* - koordiniert [193] /  $\alpha$  - bzw.  $\beta$  - koordiniert [194]), befindet sich das  $\text{Mg}^{2+}$  - Ion zusammen mit dem Tetrapyrrolring in einer Anordnung höherer Planarität als bei einer pentakoordinierten Anordnung. Bei letzterer ist das  $\text{Mg}^{2+}$  - Ion 0.3 - 0.4 Å oberhalb des Makrozyklus lokalisiert [178].

<sup>a</sup>Beschreibt eine typische Gesetzmäßigkeit großer Moleküle, nach der die nicht-strahlenden Übergänge mit Verringerung der Energielücke zunehmen [192]

Die pentakoordinierte Geometrie führe dadurch zu einer Erhöhung der Triplettdepopulationsrate um einen Faktor von 1.76 (Verringerung der Triplettlebensdauer um 0.57). Dieses ist an Chl *a*, gelöst in trockenem und wässrigen Pyridin, bei Raumtemperatur gezeigt worden [178]. Clarke et al. haben mittels ODMR<sup>b</sup> - Messungen die Triplettlebensdauer von Chl *a* in n-Octan bei T = 2 K bestimmt [195]. Sie geben an, durch die Variation der Anregungswellenlänge zwei verschiedene Spezies von Chl *a* mit unterschiedlichen Emissionsmaxima der Fluoreszenz adressieren zu können:  $\lambda_{em,1} = 670 \text{ nm}$  ( $\lambda_{exc,1} = 514 \text{ nm}$ ) und  $\lambda_{em,2} = 680 \text{ nm}$  ( $\lambda_{exc,2} = 457.9 \text{ nm}$ ). Die Triplettlebensdauern dieser zwei Spezies unterschieden sich ebenfalls mit  $k_{T,1}^{-1} = 3.0 \text{ ms}$  und  $k_{T,2}^{-1} = 1.4 \text{ ms}$ . Die erste soll dabei einer pentakoordinierten, die zweite einer hexakoordinierten Spezies zuzuordnen sein. Die in dieser Arbeit ermittelte Triplettlebensdauer liegt mit  $k_T^{-1} = 1.9 \text{ ms}$  näher am Wert der hexakoordinierten Spezies. Einen weiteren Wert haben Clarke et al. in Pyridin mit  $k_T^{-1} = 1.3 \text{ ms}$  angegeben, der ebenfalls einem hexakoordinierten Mg<sup>2+</sup> - Ion zugeschrieben wird. Auch in diesem Fall zeigte sich die Fluoreszenzemission rotverschoben [195]. Die Thematik der spektralen Lage wird später im Abschnitt 'Spektrale Lage und Fluoreszenzlebensdauer' detaillierter diskutiert.

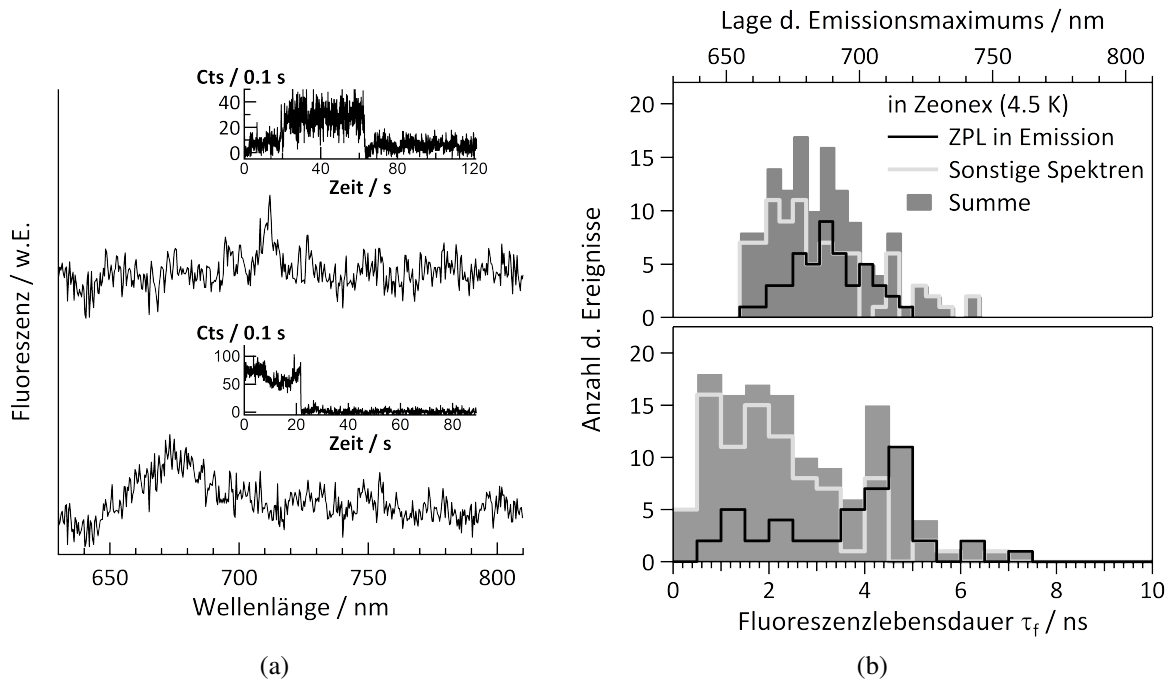
## Spektrale Lage und Fluoreszenzlebensdauer $\tau_f$

Abschließend werden die Ergebnisse (4.5 K) von zwei Parametern diskutiert, die unabhängig voneinander bestimmt wurden: Die spektrale Lage des Emissionsmaximums  $\lambda_{em}$  und die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$ .

Zuvor sind im Ergebnisteil in Abbildung 7.7 alle spektralen Lagen der Emissionsmaxima und die dazugehörigen Fluoreszenzlebensdauern gezeigt worden, die in der Fluoreszenz eine schmale und zeitlich stabile Emission aufwiesen. Dies war in 16 % der Fall (im Folgenden als Emission mit ZPL bezeichnet). Dabei fallen sowohl für die Werte von  $\lambda_{em}$  als auch von  $\tau_f$  Diskrepanzen zu den Messungen bei Raumtemperatur auf (s. auch Tabelle 7.4). Zunächst soll die **spektrale Lage** diskutiert werden:

Die spektrale Lage der ZPLs liegt im Vergleich zu den Einzelmolekülmessungen bei Raumtemperatur tendenziell bei niedrigeren Energien (siehe Abbildung 7.4b). Für Einzelmoleküle (in Zeonex) lag sie bei Raumtemperatur bei  $\lambda_{em}^{RT} = 673 \text{ nm}$ , in Übereinstimmung mit den Ensembledaten ( $\lambda_{em}^{Ens} = 673 \text{ nm}$ , RT). Für T = 4.5 K lag sie bei  $\lambda_{em}^{4.5K} = 688 \text{ nm}$ , was einer energetischen Verschiebung von  $\Delta\nu_{em} \approx 343 \text{ cm}^{-1}$  entspricht. Diejenigen Moleküle, die bei T = 4.5 K für die weitere Analyse verwendet werden konnten, häuften sich innerhalb der Verteilung selbst bei tendenziell niedrigen Energien ( $\lambda_{em}^{sel} \approx 692 \text{ nm}$ ). Der Grund für diese Rotverschiebung soll im Folgenden anhand einiger typischer Ursachen erörtert werden.

<sup>b</sup>Optically detected magnetic resonance



**Abbildung 7.14:** (a) Zwei Beispielspektren inklusive deren Fluoreszenzzeitspur für Chl *a* in Zeonex bei  $T = 4.5$  K, welche bei der bisherigen Auswertung aussortiert wurden. ( $\lambda_{\text{exc}} = 635$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz,  $t_{\text{int}} = 10$  s,  $I_{\text{exc}} \approx 2.9$  kW/cm $^{-1}$ ) Die Lage dieser Spektren und ihre Fluoreszenzlebensdauer sind in (b) unter 'Sonstige Spektren' in Histogrammen gezeigt. Ebenfalls sind die Histogramme der bereits zuvor gezeigten schmalen und zeitlich stabilen Spektren eingefügt (ZPL, siehe auch Abbildung 7.7a). Die über eine Normalverteilung ermittelte spektrale Lage der 'Sonstigen Spektren' ergibt  $\lambda_{\text{em,s}} = (673 \pm 5)$  nm. Der arithmetische Mittelwert inkl. Standardabweichung der Fluoreszenzlebenszeiten beträgt  $\tau_{f,s} = (2.3 \pm 1.5)$  ns.

Zunächst ist es möglich, dass eine spektrale Verschiebung aufgrund des Abkühlens zu beobachten ist. Infolge eines Vergleichs mit der Literatur, wird dieser Effekt als einziger Grund allerdings ausgeschlossen: Ensembleuntersuchungen von Rätsep et al. zeigten beispielsweise eine Rotverschiebung von 18 cm $^{-1}$  (in 1-Propanol), 51 cm $^{-1}$  (in 2-Propanol) und 212 cm $^{-1}$  (in Diethylether) zwischen 293 K und 4.5 K [196].

Die Annahme, dass die Temperatur nicht als einziger Grund für die spektrale Verschiebung angeführt werden kann, führte zu der Überlegung, dass die Chl *a*-Moleküle mit einer ZPL in der Emission eventuell nur eine ausgewählte Spezies aller Chlorophylle abbilden könnten. Bisher sind nur diejenigen, die eine ZPL zeigten, berücksichtigt worden (16%). Daher folgt nun eine Betrachtung von allen aufgezeichneten Spektren einzelner Moleküle bei 4.5 K. Zwei Beispiele von bisher aussortierten Spektren ('Sonstige Spektren'), die einen Anteil von 30% (90/302) ausmachten, sind inklusive ihrer Fluoreszenzzeitspuren in Abbildung 7.14a dargestellt. Die restlichen, unberücksichtigten 54% der Moleküle, sind nicht verwertbar gewesen, aufgrund von beispielsweise zu schwacher Emission oder sofortigem Photobleichen.

Die Verteilung der spektralen Lagen der 'Sonstigen Spektren' ist in Abbildung 7.14b abgebil-

---

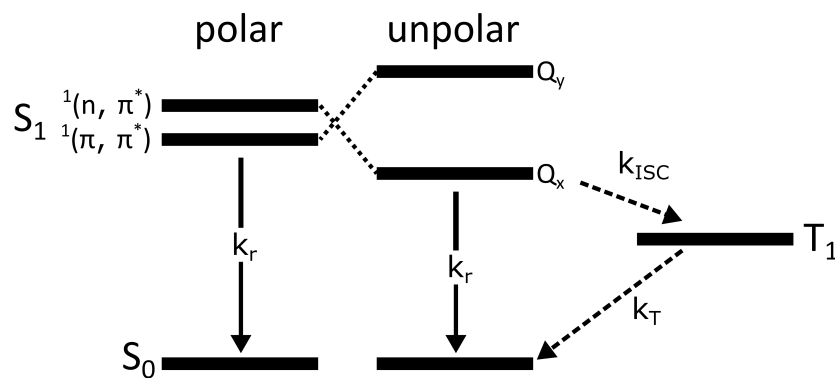
det, sowie auch die der bisher gezeigten ZPLs. Gleiches gilt für die Fluoreszenzlebensdauer. Es ist deutlich zu sehen, dass die ZPLs auch gegenüber den 'Sonstigen Spektren' tendenziell eine niederenergetischere Emission mit längerer Fluoreszenzlebensdauer zeigen.

Von einer beobachteten **Phosphoreszenz** als Erklärung für die spektrale Verschiebung wird abgesehen, da diese zu schwach für eine Detektion wäre und die Emission zudem in niederenergetischeren Bereichen läge [179, 197].

Dass das Vorliegen von **Dimeren** (in der Ausgangslösung) für diese Emission verantwortlich ist, wird ebenfalls für unwahrscheinlich erachtet, obwohl in der Literatur postuliert wird, dass Chlorophylle, in starker Abhängigkeit vom Lösemittel, über einen weiten Konzentrationsbereich zur Aggregation neigen können [198]. Spektral kann dies grundsätzlich zu vergleichbaren Verschiebungen führen [199]. Allerdings sind die untersuchten Lösungen aus der Literatur deutlich höher konzentriert, als die hier verwendeten Konzentrationen für die Einzelmolekülspektroskopie ( $c \approx 10^{-9}$  mol/L). Oba et al. haben für Dimere in Ethanol in der Absorption eine Rotverschiebung von  $\Delta\nu_{\text{Oba}} \approx 520 \text{ cm}^{-1}$  beobachtet. Dabei war allerdings zusätzlich eine weitere, deutlich niederenergetischere Bande zu beobachten [200]. Fong et al. zeigten für Monohydrat - Dimere ( $\text{Chl } a \cdot \text{H}_2\text{O}$ )<sub>2</sub> eine Verschiebung der Fluoreszenz von  $\Delta\nu_{\text{Fong}} \approx 720 \text{ cm}^{-1}$ , bei gleichzeitiger Verringerung der Fluoreszenzlebensdauer um einen Faktor von  $\approx 2$  ( $\tau_{\text{f,mono}} = 7.3 \text{ ns} \rightarrow \tau_{\text{f,dimer}} = 3.7 \text{ ns}$ ) [201]. Beide genannten Beobachtungen aus der Literatur sind nicht sehr gut mit den hier gezeigten Ergebnissen vereinbar, da die hier beobachteten spektralen Verschiebungen kleiner sind und der Trend für die Fluoreszenzlebensdauer hier zu größeren Werten für die rotverschobenen Spektren ist. Zudem wäre zu erwarten, dass in den Ensemblespektren (siehe Abschnitt 7.1), bei denen deutlich höhere Konzentrationen vorlagen ( $\approx 10^{-6}$  M), Auswirkungen einer stattfindenden Dimerisierung/Aggregation zu beobachten gewesen wären. Dies war allerdings nicht der Fall.

Es wird im Weiteren nicht davon ausgegangen, dass es sich bei der rotverschobenen Spezies (mit ZPL - Emission) um einzelne Moleküle von **Pheophytin a** handeln könnte, bei denen das zentrale  $\text{Mg}^{2+}$  - Ion herausgelöst ist. Untersuchungen an Bakteriochlorophyll haben gezeigt, dass das  $\text{Mg}^{2+}$  - Ion keinen großen Einfluss auf die spektrale Lage des  $\text{Q}_y$  - Übergangs hat [202, 203]. Die Stärke dieses Einflusses ist allerdings stark von der Umgebung, d.h. dem Lösemittel, abhängig. Fiedor et al. haben dazu an Bakteriochlorophyll eine umfassende Studie mit verschiedenen Lösemitteln unternommen, bei denen die spektrale Verschiebung der  $\text{Q}_y$  - Absorptionsbande zwischen  $17 \text{ cm}^{-1}$  -  $165 \text{ cm}^{-1}$  lag [159].

Da die hier untersuchten Proben aus einer Toluol - Zeonex - Aceton - Lösung stammten, ist es schwierig generell etwas über die Umgebung der Moleküle auszusagen. So ist auch nicht vorherzusagen, in welcher Art das  $\text{Mg}^{2+}$  - Ion des Moleküls komplexiert ist. Wie bereits mehr-



**Abbildung 7.15:** (a) Darstellung des Einflusses von polaren und unpolaren Lösemitteln auf die energetische Lage von nahe beieinander liegenden  ${}^1(n, \pi^*)$  und  ${}^1(\pi, \pi^*)$ -Übergängen. Modifiziert nach [207].

fach erwähnt, zeigen eine Reihe von Veröffentlichungen, dass die photophysikalischen Eigenschaften der Chlorophylle sehr sensitiv auf die Koordinationszahl sowie zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen reagieren [161, 196, 203, 204].  $\tau_f$  sei tendenziell am längsten bei einer hexakoordinierten Konformation (mit zwei Liganden;  $L_2$ ) und am kürzesten in einer protischen Umgebung mit 5-facher Koordination des  $Mg^{2+}$ -Ions (ein Ligand und Wasserstoffbrückenbindungen;  $HL_1$ ) [203]. Eine sechsfache Koordination sei zudem bei tiefen Temperaturen sowie hohen Drücken präferiert und führe insbesondere zu einer starken 'Rotverschiebung' des  $Q_x$ -Übergangs [196, 203, 205]. Da sich die Moleküle hier in einer festen Matrix befinden, sind allerdings keine großen Änderungen der Koordination durch das Abkühlen zu erwarten. Krafczyk misst den Wasserstoffbrückenbindungen einen entscheidenden Beitrag für spektrale Verschiebungen bei [161]. In Aceton soll das  $Mg^{2+}$ -Ion von Chl *a* vorwiegend 5-fach koordiniert vorliegen [161], gleiches gilt vermutlich für Toluol [206]. Grundsätzlich liegt immer ein gewisses Gleichgewicht der Zustände vor.

Es ist möglich, dass die hier gezeigten Moleküle, die eine ZPL-Emission zeigten und für die Analyse der photophysikalischen Prozesse herangezogen wurden, eine Spezies mit 6-facher Koordination (evtl. + Wasserstoffbrückenbindung) darstellen. Dafür gab es ebenfalls bereits Hinweise bei der Diskussion zur Triplettlebensdauer  $k_T^{-1}$  zuvor.

Ein alternativer Erklärungsansatz, der die Schlussfolgerungen der vorherigen Diskussion allerdings nicht ausschließt, beruht maßgeblich auf einer Beschreibung von Maggiora und Ingraham [207] und geht im Speziellen auf den unterschiedlichen Einfluss der Polarität des Lösemittels auf die Lage der  $Q_y$ - bzw.  $Q_x$ -Banden ein. Diese werden einem  $\pi \rightarrow \pi^*$ - bzw. einem  $n \rightarrow \pi^*$ -Übergang zugeordnet und zeigen bei steigender Polarität des Lösemittels eine Rot- bzw. Blauverschiebung [207]. Veranschaulicht ist dieses in Abbildung 7.15. Dabei stüt-

---

zen sich Maggiora und Ingraham maßgeblich auf eine theoretische Herangehensweise und die Beobachtungen von Fernandez und Becker [163], die in unpolaren Lösemitteln eine, neben der  $Q_y$ -Bande, niederenergetischere Emission entdeckten. Zusätzlich zu dieser Tatsache war in diesem Fall Phosphoreszenz zu beobachten. Bei Zugabe von Ethanol verschwanden sowohl die zusätzliche Emissionsbande als auch die Phosphoreszenz. Zurückgeführt wird dieses Verhalten auf einen energetisch tiefer liegenden  $^1(n, \pi^*)$ -Zustand, wie es in Abbildung 7.15 illustriert ist. Die *intersystem crossing*-Rate aus einem  $^1(n, \pi^*)$ -Zustand ist im Vergleich zum  $^1(\pi, \pi^*)$ -Zustand erhöht und gleichzeitig die Fluoreszenzlebensdauer verlängert.

Neben allen bereits diskutierten Einflüsse von Koordination und Polarität des Lösemittels, gibt es außerdem Beispiele für eine hohe Sensitivität der photophysikalischen Parameter von Chlorophyllen gegenüber **mechanischem Stress**. So zeigen Senge et al. in einer umfassenden Betrachtung von Porphyrinen, welche weitreichenden Einfluss strukturelle Verzerrungen auf die gesamten photophysikalischen Parameter haben können [208]. Je nach Art der Verzerrung / Verformung können sich Fluoreszenzquantenausbeute, Triplettquantenausbeute sowie die zugrunde liegenden Übergangsraten ( $k_r$ ,  $k_{IC}$ ,  $k_{ISC}$ ) um mehrere Größenordnungen ändern. Ebenso können starke Verschiebungen der Absorptions- sowie Fluoreszenzbanden die Folge sein ( $\Delta\nu_{\text{abs}} \approx 1355 \text{ cm}^{-1}$  bzw.  $\Delta\nu_{\text{fl}} \approx 1736 \text{ cm}^{-1}$ ). Das solch starke Verschiebungen grundsätzlich möglich sind, ist für die Funktionsweise von Lichtsammelkomplexen eine essentielle Eigenschaft von Chlorophyllen. Dadurch kann in der Natur über energetische Abstufungen der Energieniveaus ein sog. 'Energietrichter' gebildet und effizienter Energietransfer zu einem Reaktionszentrum gewährleistet werden. Dies zeigt, dass Chlorophylle grundsätzlich je nach Umgebung eine hohe Varianz der Eigenschaften aufweisen können.

Ungeklärt ist allerdings bisher, warum die Fluoreszenzlebensdauer sich grundsätzlich in allen Einzelmoleküluntersuchungen verringert gegenüber den Ergebnissen der Ensemblemessungen zeigt. Dort lagen die ermittelten Werte im Vergleich zu den mittleren 3.4 - 3.6 ns der Einzelmoleküluntersuchungen bei  $\tau_{\text{Zeo}}^{\text{Ens}} = 7.0 \text{ ns}$  bzw.  $\tau_{\text{Zeo,alt}}^{\text{Ens}} = 5.0 \text{ ns}$ . Im Falle der kürzeren Zeit glich die Probenherstellung der Ensemblemessung die der Einzelmolekülprobe. Es wird vermutet, dass die Probengeometrie (dünner Polymerfilm von wenigen hundert Nanometern auf einem Glassubstrat) ursächlich für die kürzeren Zeiten ist.

So Kreiter et al. zeigten für Farbstoffmoleküle (DiI) innerhalb eines 20 nm Polymerfilms, aufgetragen auf Glas mittels *spin coating*, eine Abhängigkeit zwischen der Lage des Übergangsdipolmoments und der Fluoreszenzlebenszeit [209]. Diese zeigte sich um einen Faktor 2.1 länger, wenn der Übergangsdipol senkrecht zur Grenzfläche orientiert war im Vergleich einem, der parallel angeordnet war. Das gleiche ist bereits zuvor von Macklin et al, bei glei-

cher Probenanfertigung, an Einzelmolekülen beobachtet worden [19]. Hier wurde zudem eine schwache Korrelation der Fluoreszenzlebensdauer mit der spektralen Emissionslage beobachtet (größere  $\tau_f$  einhergehend mit niederenergetischerer Emission). Diese Korrelation konnte hier nicht signifikant festgestellt werden.

Dennoch ist es grundsätzlich denkbar, dass Grenzflächeneffekte einen entscheidenden Einfluss liefern. Moleküle mit kurzer Lebensdauer könnten sich näher an der Grenzfläche befunden haben, als diejenigen mit längerer Fluoreszenzlebensdauer. Damit übereinstimmen würde auch die Erfahrung, dass an den zu Beginn der Messungen hergestellten Proben, welche mit einer höheren Geschwindigkeit des *spin coaters* präpariert wurden, keine erfolgreichen Messungen durchgeführt werden konnten (bzgl. einer Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$ ).

Ebenfalls denkbar wäre das Vorliegen unterschiedlich stark verzerrter Moleküle, was ebenfalls zu einer starken Absenkung der Fluoreszenzlebensdauer geführt haben könnte, wie Senge et al. an Porphyrinen zeigten [208].



---

## 8 Water-Soluble Chlorophyll Protein (WSCP)

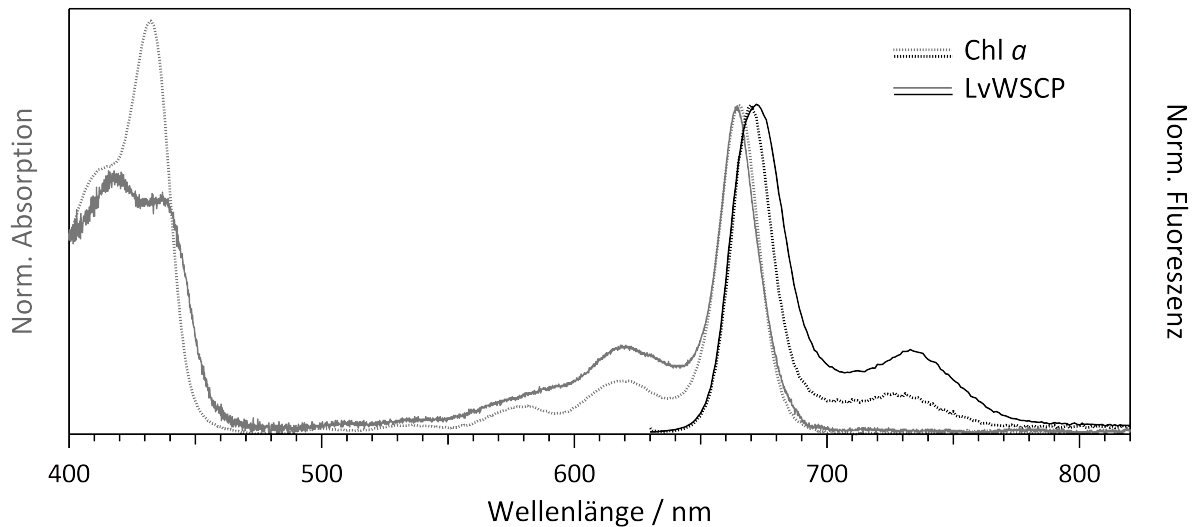
Wasserlösliche Chlorophyllproteine (*water-soluble chlorophyll protein* - WSCP) der Klasse II, die in Kreuzblütlern (*Brassicaceae*) zu finden sind, binden jeweils ein Chlorophyll (Chl) pro Apoprotein und liegen in ihrer Quartärstruktur als Tetramer vor (siehe Abschnitt 4.4). Sie weisen für ein Protein außergewöhnliche Stabilität gegenüber Denaturierung auf und bewahren ihre Struktur selbst bei extremen pH- Werten oder Temperaturen von 100 °C [69–72]. Zudem scheinen die eingeschlossenen Chlorophyllmoleküle teilweise gegen Photooxidation geschützt zu sein, ohne dass Carotinoide vorliegen. Die vier eingeschlossenen Chlorophylle eines LvWSCP - Tetramers sind paarweise in Dimeren, jeweils in einer *open sandwich* - Konfiguration, angeordnet.

Im Zuge einer spektroskopischen Charakterisierung sind im folgenden Kapitel sowohl Untersuchungen am Ensemble sowie von einzelnen LvWSCP - Molekülen gezeigt. Zu letzteren existieren nach aktuellem Kenntnisstand noch keine vergleichbaren Studien in der Literatur. Für alle gezeigten Ergebnisse ist rekombinantes LvWSCP der Klasse IIb mit jeweils vier Chl *a* pro Tetramer verwendet worden (weitere Informationen in Kapitel 4.4).

### 8.1 Spektroskopische Charakterisierung am Ensemble

Zunächst ist eine spektroskopische Charakterisierung von LvWSCP in Lösung vorgenommen worden. Dafür sind zwei unterschiedliche Herangehensweisen mit verschiedenen Probenpräparationen gewählt worden: Zum einen sind ein Absorptions - sowie Fluoreszenzspektrum einer Ensemblelösung angefertigt worden, gemessen in einer standardmäßigen Quarzglasküvette (Probe I). Dafür wurde LvWSCP in Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8) mit einer Tetramerkonzentration von  $\approx 10^{-7}$  mol/L gelöst. Abbildung 8.1 zeigt die Spektren dieser Lösung im Vergleich zu denen von Chl *a*, gelöst in Toluol aus Abbildung 7.1.

Zusätzlich dazu ist in einer weiteren Ensembleprobe ein Tropfen einer Probenlösung zwischen

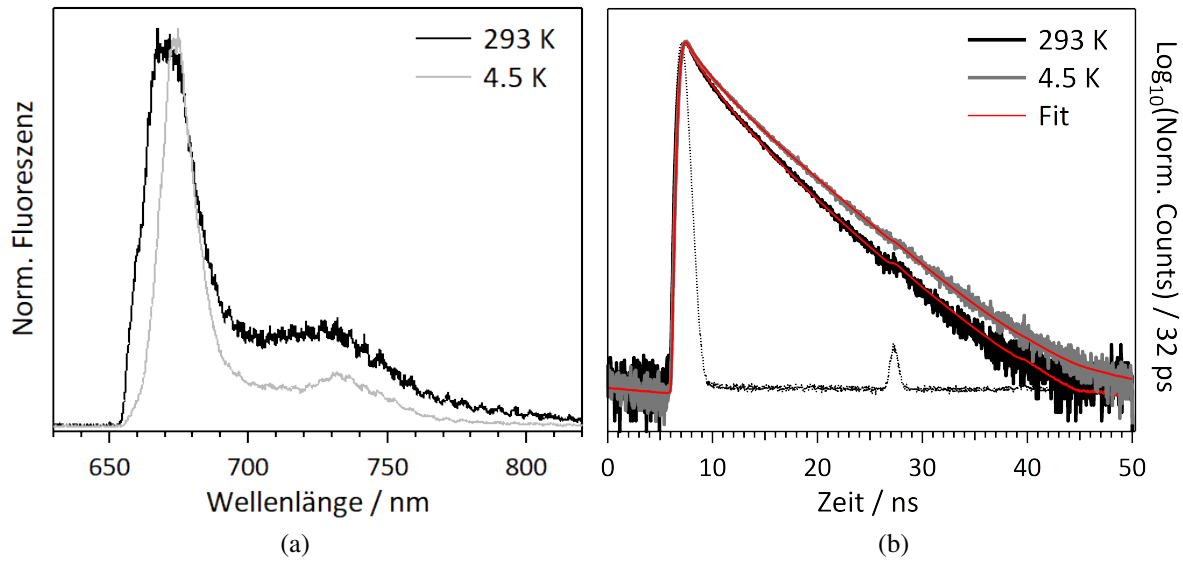


**Abbildung 8.1:** Absorptions- und Fluoreszenzspektrum von LvWSCP (Probe I) gelöst in Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8, TetramerKonz.:  $c \approx 10^{-7}$  mol/L,  $\lambda_{\text{exc}} = 620$  nm). Ebenfalls sind die Spektren von Chl *a*, gelöst in Toluol ( $c \approx 10^{-6}$  mol/L) aus Abbildung 7.1, mit abgebildet.

zwei Glassubstrate platziert und versiegelt worden (Probe II - Skizze in Abbildung 4.5). Die Ensemblelösung bestand aus Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8) und Glycerin im Verhältnis 1:2 v/v mit einer Konzentration der LvWSCP - Moleküle von ebenfalls  $\approx 10^{-7}$  mol/L. In dieser Probengeometrie war es möglich, die Probe in den Tieftemperaufbau einzubauen und diese dort nicht nur bei Raumtemperatur, sondern auch bei 4.5 K untersuchen zu können. Neben den Fluoreszenzspektren, gezeigt in Abbildung 8.2a, sind simultan die Fluoreszenzzerfälle detektiert worden, die sich in Abbildung 8.2b befinden. Die Anpassung der Zerfälle erfolgte unter Berücksichtigung der IRF (gestrichelt eingezeichnet) mit bi-exponentiellen Zerfällen (Fits). Es sei bemerkt, dass der Glycerinfilm der Probe bei  $T = 293$  K in flüssigem und bei  $T = 4.5$  K im festen Aggregatzustand vorlag.

Die spektralen Lagen der Absorptions- und Emissionsmaxima der Ensemblespektren von Probe I und Probe II sowie die ermittelten Fluoreszenzlebensdauern von Probe II sind der Tabelle 8.1 zu entnehmen. Dabei fällt auf, dass die Lebenszeiten bei 293 K kürzer sind gegenüber denen bei 4.5 K. Dass im Falle des flüssigen Aggregatzustands Diffusion oder Rotation einen entscheidenden Einfluss auf die gemessene Fluoreszenzlebensdauer hat, wird auf dieser Zeitskala als unwahrscheinlich eingeschätzt.

Bei dem hier betrachteten System handelt es sich um vier gekoppelte Chromophore (4 x Chl *a*), bestehend aus zwei stark gekoppelten Dimeren, zwischen denen Energietransfer stattfinden kann. Die Relaxation innerhalb der Dimere findet daher sehr schnell statt und liegt laut Lite-



**Abbildung 8.2:** (a) Fluoreszenzspektren von LvWSCP (Probe II) in Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8) und Glycerin im Verhältnis 1:2 (v/v). (b) Fluoreszenzlebensdauer der in (a) gezeigten Spektren. Zerfälle sind mit einem bi-exponentiellen Zerfall unter Berücksichtigung der IRF angepasst worden. Daraus ergeben sich die Zerfallszeiten  $\tau_{f,1}^{293K} = 1.3$  ns (21 %) und  $\tau_{f,2}^{293K} = 4.6$  ns (79 %) für 293 K und  $\tau_{f,1}^{4.5K} = 2.0$  ns (16 %) und  $\tau_{f,2}^{4.5K} = 6.1$  ns (84 %) für 4.5 K. ( $\lambda_{exc} = 635$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz)

ratur zwischen 50-80 fs für LvWSCP mit Chl *a* Homodimeren [134, 210]. Die Zeit des Energietransfers zwischen den zwei Dimeren wird von Alster et al. mit  $\approx 250$  fs angegeben [210]. Die Energietransfer- und Relaxationszeiten sind demnach deutlich kürzer als die ermittelten Fluoreszenzlebensdauern und sind nicht der kürzeren Zeitkomponente des bi - exponentiellen Zerfalls zuzuordnen.

Daten für die Fluoreszenzlebensdauer von rekombinanten LvWSCP mit 4 Chl *a* - Molekülen, existieren in der Literatur nach aktuellem Kenntnisstand nicht. Allerdings veröffentlichten Schmitt et al. [211] Untersuchungen, durchgeführt an einer sehr ähnlichen WSCP - Variante (rekombinantes WSCP IIa aus Blumenkohl - *Brassica oleracea* var. *botrytis*, im Folgenden BobWSCP genannt), die ebenfalls vier Chl *a* beinhaltet. Für diese Variante fand sich bei 295 K ein mono-exponentieller Zerfall mit einer Zerfallszeit von  $\tau_{f,RT}^{ref} = 5.2$  ns (in Pufferlösung mit 50 % Glycerin). Nach dem Abkühlen auf 10 K konnten dagegen (mindestens) drei Zerfallskomponenten beobachtet werden ( $\tau_{f,1}^{ref} = 80$ -120 ps,  $\tau_{f,2}^{ref} = 2$ -4 ns,  $\tau_{f,3}^{ref} = 6$ -7 ns). Die Varianten LvWSCP und BobWSCP unterscheiden sich allerdings ein wenig in ihrer (quartären) Struktur, was eine leicht unterschiedliche Anordnung der Chromophore zueinander zur Folge hat [135, 137]. Dies gilt sowohl innerhalb eines Dimers (intradimer) als auch zwischen den zwei Dimeren (interdimer). Dadurch könnten sich neben der bekannten spektralen Verschiebung ( $\approx 150$  cm $^{-1}$  der Emissionshauptbande) signifikante Unterschiede bezüglich der Kopp-

**Tabelle 8.1:** Photophysikalische Größen zu LvWSCP (4 Chl *a* / Tetramer) gemessen am Ensemble. Die Werte  $\lambda_{\max}$  bezeichnen die spektrale Lage des Absorptions- bzw. Emissionsmaximums mit den dazugehörigen Halbwertsbreiten der Hauptübergänge  $\Delta\nu_{\max}$ .  $\epsilon(\lambda_{\max}^{\text{abs}})$  kennzeichnet den molaren dekadischen Extinktionskoeffizient am Punkt maximaler Absorption.

Probe	Temp. / K	Absorption			Fluoreszenz			
		$\lambda_{\max}^{\text{abs}} /$ nm	$\Delta\nu_{\max}^{\text{abs}} /$ cm <sup>-1</sup>	$\epsilon(\lambda_{\max}^{\text{abs}}) /$ m <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>	$\lambda_{\max}^{\text{em}} /$ nm	$\Delta\nu_{\max}^{\text{em}} /$ cm <sup>-1</sup>	$\tau_{f,1} /$ ns	$\tau_{f,2} /$ ns
Probe I <sup>b</sup>	296	665	407		673	517	-	-
Probe II <sup>c</sup>	293	-	-	6580 <sup>a</sup>	672	672	1.3 <sup>†</sup>	4.6 <sup>†</sup>
Probe II <sup>c</sup>	4.5	-	-		674	291	2.0 <sup>†</sup>	6.1 <sup>†</sup>

<sup>a</sup> Absorptionsmaximum eines Chl *a* - Moleküls in LvWSCP. Der Wert ist zur Bestimmung der Tetramerkonzentration verwendet worden und stammt aus mündlicher Überlieferung von D. Palm (AK Prof. Paulsen - Inst. f. Molekulare Physiologie - JGU Mainz). <sup>b</sup> Gelöst in Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8). <sup>c</sup> Gelöst in Natriumphosphatpuffer (20 mM, pH = 7.8) und Glycerin (1:2 v/v). <sup>†</sup> Fluoreszenzanteile zu den Zerfallskomponenten:  $\tau_{f,1} = 1.3$  ns: 21 %,  $\tau_{f,2} = 4.6$  ns: 79 % (RT) und  $\tau_{f,1} = 2.0$  ns: 16 %,  $\tau_{f,2} = 6.1$  ns: 84 % (4.5 K).

lung und Energietransferzeiten zwischen den Chromophoren ergeben, wenngleich diese, wie bereits erwähnt, auf deutlich kürzeren Zeitskalen als die Fluoreszenzlebenszeit stattfinden sollten.

Die Tendenz einer Verkürzung der dominierenden Zerfallszeit von  $\tau_{f,2}^{4.5\text{K}} = 6.1$  ns (84 % d. Fluoreszenz) bei tiefen Temperaturen auf  $\tau_{f,2}^{293\text{K}} = 4.6$  ns (79 % d. Fluoreszenz) bei Raumtemperatur, konnte allerdings ebenfalls von Schmitt et al. [211] für BobWSCP beobachtet werden (nahezu linearer Zusammenhang von 26 Datenpunkten zwischen 10 K und 293 K). Die Verkürzung der Lebenszeit bei höheren Temperaturen wird auf eine thermische Aktivierung des energetisch höheren und kurzlebigeren Exzitonenniveaus des emittierenden Dimers zurückgeführt [211]. Um einschätzen zu können, inwieweit diese Ergebnisse zu BobWSCP übertragbar sind auf LvWSCP, folgt nun ein kurzer Einschub mit einer (qualitativen) Diskussion bezüglich der geometrischen und energetischen Unterschiede von den gekoppelten Dimeren in den beiden WSCP - Varianten.

In WSCP liegen die Orientierungen der Übergangsdipolmomente der Chlorophylle ( $Q_y$ ) eines Dimers derartig zueinander, dass das (berechnete) Übergangsdipolmoment zum höheren Exzitonenniveau um etwa eine Größenordnung größer als zum energetisch tiefer gelegenen (H-Aggregat). Dieses Verhalten ist untypisch für stark gekoppelte Exzitonen in Lichtsammelkomplexen und Reaktionszentren in denen typischerweise bei stark gekoppelten Dimeren ein J-artiger Charakter vorliegt [134]. Das genannte Verhältnis der Übergangsdipolmomente ist für BobWSCP berechnet worden, ausgehend von einem Öffnungswinkel von 30° zwischen den zwei Chl *a* - Molekülen (eines Dimers) in der *open sandwich* - Konfiguration. Für LvWSCP wurde experimentell ein geringerer Winkel von 25-27° ermittelt [135]. Zudem sollen die zwei

---

Übergangsdipolmomente der  $Q_y$  - Übergänge der dimerisierten Chlorophylle, deren lineare Komponenten in den Makrozyklenebenen von Chl  $a$  liegen, im Falle von BobWSCP um  $6-8^\circ$  zueinander verdreht sein [134], wogegen sie für LvWSCP parallel zueinander angeordnet sind [188] (in der Projektion auf die Makrozyklusebene). Aufgrund dieser geometrischen Unterschiede ist davon auszugehen, dass der Unterschied zwischen den Übergangsdipolmomenten der Exzitonenniveaus sowie deren energetische Aufspaltung im Falle von LvWSCP stärker ausfällt, da eine stärkere Ausprägung des H - artigen Charakters vorliegen müsste.

Die Lebensdauer des jeweiligen Zustands ist invers mit dem dazugehörigen Übergangsdipolmoment verknüpft [211]. Dem folgend besäße das energetisch niedrigere und somit günstigere Niveau des Exzitons, das die Fluoreszenz insbesondere bei tiefen Temperaturen dominieren sollte, in LvWSCP ein schwächeres Übergangsdipolmoment als in BobWSCP. Es sollte nach diesem Modell demnach für LvWSCP eine längere Fluoreszenzlebensdauer zu beobachten sein. Dies konnte in den gezeigten Untersuchungen allerdings nicht bestätigt werden. Daher scheint diese simple, geometrische Betrachtung für sich nicht ausreichend für die Erklärung der beobachteten Unterschiede von  $\tau_f$  zu sein. Der beschriebene H - artige Charakter der Chl  $a$  - Dimere ist dennoch von Bedeutung für spätere Diskussionen.

## 8.2 Einzelmolekülspektroskopie an WSCP

Nach den Ensemblemessungen werden nun spektroskopische Untersuchungen vorgestellt, die an einzelnen LvWSCP - Molekülen erfolgten.

Zunächst werden Ergebnisse gezeigt, die bei Raumtemperatur auf Glas gewonnen wurden. Dabei wird eingangs die Photostabilität unter Luft und unter Argonstrom verglichen. Des Weiteren folgt eine Charakterisierung der spektralen Emissionslagen und zudem eine Analyse der gemessenen Fluoreszenzintensitäts - Autokorrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$ . Aufgrund einer unzureichenden Photostabilität konnte bei Raumtemperatur allerdings keine anregungsleistungsabhängige Untersuchung der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion erfolgen, wie es in vorherigen Kapiteln dieser Arbeit geschah. Es wurde stattdessen über eine alternative Analyse eine Bestimmung und Abschätzung der Tripletrate  $k_T$  beziehungsweise der *intersystem crossing* - Rate  $k_{ISC}$  vorgenommen (siehe folgender Text).

Dem anschließend folgen Untersuchungen im Kryostaten bei 4.5 K. Die erhöhte Photostabilität ermöglichte es nun für sechs LvWSCP - Moleküle auf Glas eine Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  in Abhängigkeit der Anregungsintensität durchführen zu können, um Zugang zu den Übergangsraten der photophysikalischen Prozesse zu erhalten (siehe Kapitel 2.1.2 und 3.3.5).

Es folgen abschließend Ergebnisse einer temperaturabhängigen Messreihe zwischen 4.5 K und 180 K von einzelnen LvWSCP - Molekülen in einer Glycerinlösung.

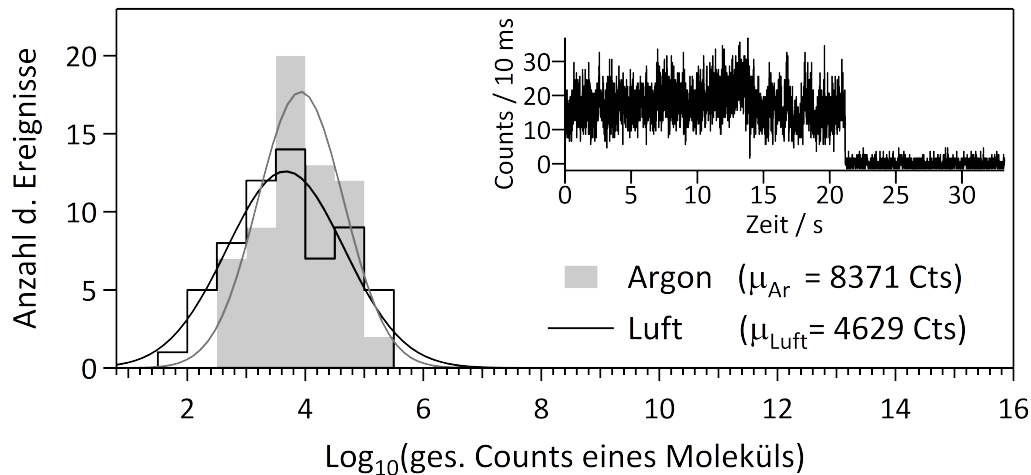
Allen folgenden Analysen der Korrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$  liegt grundsätzlich ein Modell bestehend aus drei Energieniveaus ( $S_0$ ,  $S_1$ ,  $T_1$ ) zugrunde. Dies ist für LvWSCP - Moleküle zunächst nicht zutreffend, da hier vier gekoppelte Farbstoffe vorliegen. Wie bereits in Abschnitt 8.1 erläutert, ist allerdings davon auszugehen, dass die inter- sowie intradimeren Relaxationszeiten (50-80 fs bzw.  $\approx 250$  fs [134, 210]) in den Zustand  $S_1$  (von einen der vier Farbstoffen) auf deutlich kürzeren Zeitskalen stattfinden als die nachfolgenden Übergangsprozesse aus  $S_1$  (siehe auch Abschnitt 2.1.2). Letztere sollen hier von Interesse sein, weshalb die vorangegangenen Relaxationsprozesse an dieser Stelle vernachlässigt werden. Des Weiteren ist bekannt, dass die Zustände der Triplettniveaus ( $T_1$ ), auf einem einzelnen Chl *a* - Molekül lokalisiert sind [138]. Aus den genannten Gründen wird davon ausgegangen, dass dieses System von vier Farbstoffen effektiv für die folgenden Analysen der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion durch ein Drei - Niveau - System beschrieben werden kann.

### 8.2.1 Untersuchungen bei Raumtemperatur

In diesem Abschnitt werden Ergebnisse von LvWSCP - Molekülen auf Glas gezeigt. Alle Untersuchungen sind an einem konfokalen Raumtemperatursetup durchgeführt worden (siehe Kapitel 3).

#### Photostabilität

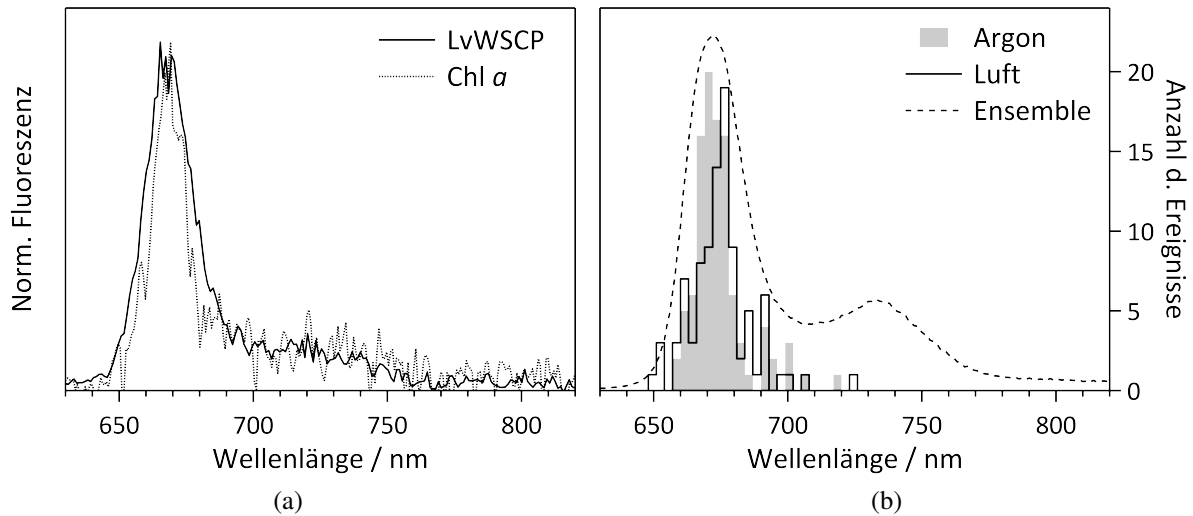
Um einen Einfluss der Umgebungsatmosphäre auf die Photostabilität von einzelnen LvWSCP - Molekülen zu untersuchen, ist sowohl eine Messreihe an Luft als auch eine unter einem Argonstrom durchgeführt worden. Die mit der APD (*avalanche photodiode*) detektierten Fluoreszenzzeitspuren sind bezüglich des Untergrundes korrigiert und die gesamten Counts der Zeitspur summiert worden. Der Untergrund ist dafür an einem Punkt auf der Probe abseits von Farbstoffen bei identischer Anregungsintensität aufgenommen worden. Da die Moleküle stets während der individuell gewählten Messdauer geblichen sind und in beiden Messreihen vergleichbare Anregungsintensitäten verwandt wurden, können über diese Methode die absoluten Zahlen der summierten Counts zu einem Vergleich herangezogen werden. Als Grund des Photobleichens wird von dem Einfluss von Sauerstoff in der Luft als *quencher* von Singulett- und Tripletzuständen ausgegangen. Dadurch kann reaktiver Singulett - Sauerstoff ( $^3\text{O}_2$  ( $^3\Sigma_g^-$ )  $\rightarrow$



**Abbildung 8.3:** Histogramme zu den summierten Counts der gesamten Zeitspur von einzelnen LvWSCP - Molekülen (4 Chl *a* / Tetramer) auf Glas bei 296 K. Die Chl *a* - Moleküle des Tetramers sind innerhalb der jeweiligen Messdauer geblichen und der Untergrund ist vor der Summierung abgezogen worden (Anzahl der Datenpunkte: #63 Argon, #61 Luft). Die Histogramme sind über Normalverteilungen angepasst worden. Die jeweiligen Erwartungswerte  $\mu_i$  sind ebenfalls angegeben. Zudem eingefügt ist die Fluoreszenzzeitspur eines repräsentativen LvWSCP - Tetramers unter Argonstrom, das nach  $\approx 22$  s bleicht. ( $I_{\text{exc}} = 1\text{-}2 \text{ kW/cm}^2$ ,  $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$ )

$^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ ) entstehen, der im Weiteren den Farbstoff oxidieren und schließlich zum Photobleichen führen kann [29,31,147]. Auf die daraus resultierende Verkürzung der Lebensdauern von  $S_1/T_1$  und deren Auswirkung auf die Emissionsrate  $R$  wird an dieser Stelle nicht eingegangen.

Die Ergebnisse der gesamten detektierten Photonen sind bei logarithmischer Auftragung in Histogrammen in Abbildung 8.3 dargestellt. Außerdem ist beispielhaft eine Zeitspur eines LvWSCP - Tetramers, gemessen unter Argonstrom, mit eingefügt. Die Histogramme weisen jeweils eine erkennbare Häufung auf. Über die Anpassung von Gaußverteilungen ist über dessen Erwartungswert ein Mittelwert bestimmt worden. Daraus ergeben sich mittlere detektierte Photonen von  $\mu_{\text{Ar}} = 8371$  Counts unter Argonstrom und  $\mu_{\text{Luft}} = 4629$  Counts für die Messungen an Luft pro Molekül. Demnach ist ein Unterschied von etwa einem Faktor 2 zwischen den verwendeten Atmosphären festzustellen, wenngleich WSCP photoprotektive Eigenschaften zugeschrieben werden [72,138]. Laut Agostini et al. [138] ist das Photobleichen der Chromophore durch die Anordnung der Chlorophylle innerhalb der Proteinkavität reduziert. Explizit sollen die Phytylreste der Chl *a* - Moleküle so angeordnet sein, dass eine Reaktion zwischen  $^1\text{O}_2$  und entscheidenden Bereichen des Tetrapyrrol - Makrozyklus der Chlorophylle sterisch gehindert ist. Allerdings scheinen die Sauerstoffmoleküle trotzdem über ausreichend Zugang verfügen, sodass diese über *quenching* - Mechanismen von Chlorophyll angeregt werden können [138]. Letztere Aussage steht im Widerspruch zu zuvor veröffentlichten Thesen von Schmidt et al., nach denen die Photoprotektion von WSCP auf eine deutlich reduzierte Produktion von  $^1\text{O}_2$



**Abbildung 8.4:** (a) Fluoreszenzspektrum eines LvWSCP - Tetramers (4 Chl *a* / Tetramer) auf Glas ( $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$  (cw),  $I_{\text{exc}} \approx 1 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 1 \text{ s}$ , 296 K, Argonatmosphäre). Ebenfalls ist das Spektrum eines einzelnen Chl *a* - Moleküls in Zeonex eingefügt (aus Abbildung 7.4a). Für einen besseren Vergleich ist dieses mit einem Versatz auf der Abszisse versehen worden. (b) Histogramme zur spektralen Lage der einzelnen LvWSCP - Moleküle auf Glas (#103 Argon, #94 Luft). Anpassungen über Normalverteilungen ergeben Erwartungswerte von  $\lambda_{\text{Ar}} = 672 \text{ nm}$  und  $\lambda_{\text{Luft}} = 674 \text{ nm}$  (s. Tabelle 8.2). Außerdem ist das Ensemblespektrum aus Abbildung 8.1 abgebildet.

zurück zu führen sein sollte [72].

### Spektrale Charakterisierung

In Abbildung 8.4a ist ein repräsentatives Fluoreszenzspektrum eines LvWSCP - Moleküls auf Glas dargestellt, bei dem davon ausgegangen wird, dass es vier Chl *a* - Moleküle enthält. Zum Vergleich ist ebenfalls das Emissionsspektrum eines einzelnen Chl *a* - Moleküls abgebildet (in Zeonex, siehe auch Abbildung 7.4a). Die gezeigten Spektren sind hier nahezu identisch, wo-

**Tabelle 8.2:** Spektrale Lagen der Emissionsmaxima  $\lambda_{\text{max}}^{\text{em}}$  von LvWSCP (4 Chl *a* / Tetramer) mit der Halbwertsbreite  $\Delta\nu_{\text{max}}^{\text{em}}$  der Hauptemissionsbande (Ensemble) bzw. der angepassten Histogramme (einzelne Moleküle).

Probe / Umgebung	Temp. / K	$\lambda_{\text{max}}^{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\nu_{\text{max}}^{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$
Ensemble <sup>a</sup>	296	673	517
<u>LvWSCP - Moleküle auf Glas</u>			
Argon	296	$672 \pm 3$	280
Luft	296	$674 \pm 3$	413
Helium <sup>b</sup>	4.5	$672 \pm 10$	595

<sup>a</sup> Wert von Probe I aus Tabelle 8.1 übertragen. <sup>b</sup> Wert zu der Verteilung aus Abbildung 8.7.



gegen in den Ensemblespektren Unterschiede bezüglich der Bandenverhältnisse zu erkennen waren (siehe Abbildung 8.1). In Abbildung 8.4b sind für LvWSCP die Histogramme zu den ermittelten spektralen Lagen der Emissionsmaxima für die Messungen unter Luft sowie unter Argonstrom dargestellt. Ebenfalls eingefügt ist ein Ensemblespektrum (Probe I gestrichelt, siehe auch Abbildung 8.1). Die über Gaußverteilungen bestimmten Mittelwerte der Histogramme sind in Tabelle 8.2 angegeben. Der zugehörige Fehler entspricht einer Klassenbreite des Histogramms. Zudem sind die Halbwertsbreiten der Verteilungen in inversen Zentimetern eingetragen.

### Bestimmung von $k_T$ und $k_{ISC}$

Bei den bisher gezeigten Untersuchungen zur Photostabilität und spektralen Charakterisierung sind ebenfalls die Korrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$  aus den gemessenen Photonenankunftszeiten berechnet worden. Wie bereits in der Einleitung dieses Kapitels erwähnt, war keine ausreichende Photostabilität der LvWSCP - Moleküle bei Raumtemperatur gegeben, um eine Analyse von  $g^{(2)}(\tau)$  in Abhängigkeit der Anregungsintensität durchführen zu können. Daher ist für die Bestimmung der Tripletrate  $k_T$  und *intersystem crossing* - Rate  $k_{ISC}$  eine alternative Analyse nach [33,212] erfolgt. Dabei stellt insbesondere die Bestimmung von  $k_{ISC}$  nur eine Abschätzung dar, da für diesen Wert Annahmen über die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  und den Absorptionsquerschnitt  $\sigma$  getroffen werden müssen.

Die Beschreibung der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  im *bunching* - Bereich ( $\mu\text{s}$  - s) erfolgt mit einem exponentiellen Zerfall nach Gleichung 3.7:

$$g^{(2)}(\tau) \approx 1 + C e^{-\lambda_b \tau} \quad (8.1)$$

Die Variable  $C$  steht dabei für den Kontrast und  $\lambda_b$  für die Zerfallsrate der Funktion. Näherungsweise kann durch diese Parameter die Tripletrate  $k_T$  über

$$k_T \approx \frac{\lambda_b}{1 + C} \quad (8.2)$$

bestimmt werden [33,212]. Ebenfalls ist  $k_{ISC}$  über

$$k_{ISC} \approx \frac{\lambda_b}{1 + \frac{1}{C}} \frac{1}{k_{12} \tau_f} \quad (8.3)$$

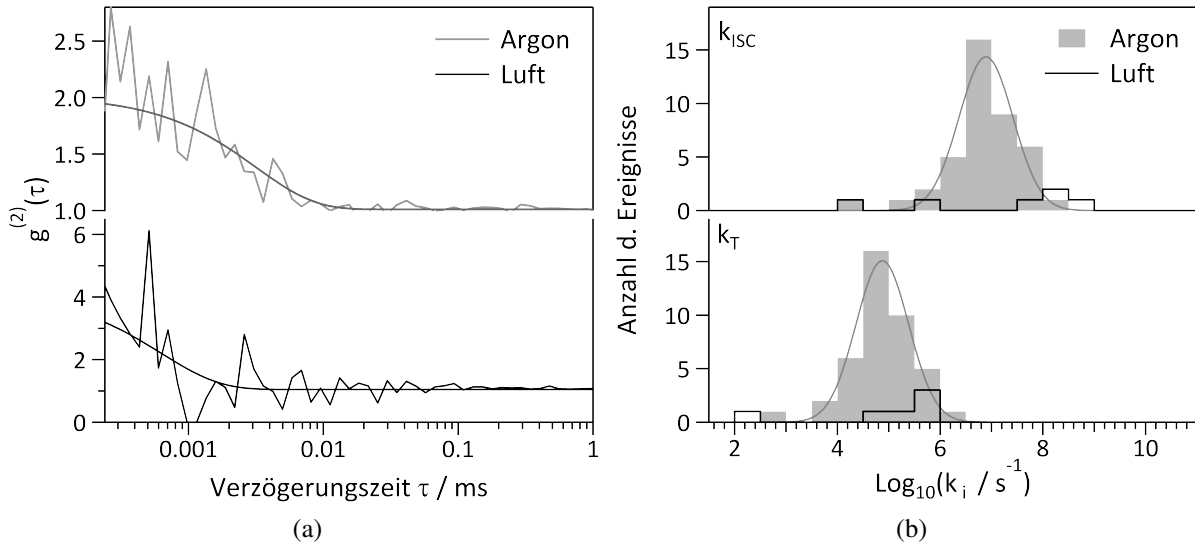
zu berechnen [33,212].  $k_{12}$  steht dabei für die Anregungsrate. Für diese Berechnung von  $k_T$  und  $k_{ISC}$  muss (für den Parameter  $C$ ) allerdings gelten, dass die Emissionsrate  $R$  für den Zeitraum, in dem sich das Molekül im Singulettzustand / im emittierenden Zustand befindet ( $I_{on}$ ), viel

größer ist als die Intensität im dunklen Zustand ( $I_{\text{off}}$ ), also, wenn sich das Molekül im Triplettzustand befindet (d.h.  $I_{\text{on}} \gg I_{\text{off}}$ ). Das würde für LvWSCP bedeuten, dass keines der übrigen drei Chl *a*- Moleküle fluoresziert, sobald eines sich im Triplettzustand befindet. Aufgrund der Information, dass der Triplettzustand eines Chl *a*- Moleküls auch nur auf diesem lokalisiert ist [138], wird vorerst vermutet, dass die übrigen drei Chl *a*- Moleküle weiterhin fluoreszieren (bzw. absorbieren) können. In der experimentellen Konsequenz bedeutet dies, dass der zu messende Kontrast  $C_{\text{exp}}$  reduziert ist. Mit Hilfe einiger Annahmen und Überlegungen soll daher ein Korrekturfaktor eingeführt werden, dem Folgendes zugrunde liegt:

1. Es ist davon auszugehen, dass (bei 296 K) aufgrund der breiten Absorptionsbanden alle vier Chromophore, isoliert voneinander betrachtet, mit gleichen Anregungsraten angeregt werden könnten (gleiche Absorptionsquerschnitte vorliegen). Unterschiede in der Anregung, aufgrund leicht unterschiedlicher Orientierungen der Übergangsdipolmomente (Öffnungswinkel der zwei Dimere  $\approx 27^\circ$  [135]), werden vernachlässigt.
2. Wenn ein Chl *a*- Molekül sich im Triplettzustand befindet ( $^3\text{Chl } a$ ), ist dieser auf dem einzelnen Chromophor lokalisiert [138]. Dabei ändern sich die Werte der Übergangsdipolmomente  $|\mu_i|^2$  der vier Chlorophylle deutlich. Für den Fall, dass sich kein Chromophor im Triplettzustand befindet, beträgt die Summe der quadrierten Übergangsdipolmomente  $\sum_{i=1}^4 |\mu_i^1|^2 = 87 \text{ D}^2$ ; für den Fall, dass eines im Triplettzustand ist,  $\sum_{i=1}^3 |\mu_i^3|^2 = 65 \text{ D}^2$ . Daraus ergibt sich ein Verhältnis der Summen von 0.75 [139, SI]. Dieser Wert wird gleichgesetzt mit dem Verhältnis der Anregungsraten / der Absorption des gesamten Systems, für die zwei genannten Zustände ( $4x \text{ } ^1\text{Chl } a$  vs.  $3x \text{ } ^1\text{Chl } a + 1x \text{ } ^3\text{Chl } a$ ).
3. Es befindet sich zu jedem Zeitpunkt immer nur ein Chl *a*- Molekül zur Zeit im Triplettzustand.
4. Die Anregungsrate ist mit  $k_{12} \approx 10^7 \text{ s}^{-1}$  viel größer als die Tripletttrate ( $k_{12} \gg k_T$ )

Ausgehend von diesen Annahmen wird in grober Näherung davon ausgegangen, dass die Emissionsrate  $R$  des LvWSCP- Moleküls bei der Konstellation von drei Chl *a* im Singulett- ( $3x \text{ } ^1\text{Chl } a$ ) und einem im Triplettzustand ( $1x \text{ } ^3\text{Chl } a$ ) ( $I_{\text{off}}$ ) 75 % der Emissionsrate von  $I_{\text{on}}$  ( $4x \text{ } ^1\text{Chl } a$ ) beträgt, d.h.  $I_{\text{off}} = 0.75 \cdot I_{\text{on}}$ . Mit dieser Annahme wird  $I_{\text{off}}$  nun als unkorrelierter Untergrund betrachtet und der Kontrast  $C$  mittels [13]

$$C = C_{\text{exp}} \left( 1 + \frac{B + 0.75 \cdot I_{\text{on}}}{I_{\text{on}}} \right)^2 \quad (8.4)$$



**Abbildung 8.5:** (a) Beispielhafte Korrelationsfunktionen von zwei LvWSCP- Molekülen. ( $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}}^{\text{Ar}} \approx 2 \text{ kW/cm}^2$ ,  $I_{\text{exc}}^{\text{Luft}} \approx 0.5 \text{ kW/cm}^2$ ; Messung unter Argon ist aus Zeitspur aus Abbildung 8.3 ermittelt). (b) Histogramme der ermittelten *intersystem crossing* - ( $k_{\text{ISC}}$ ) und Tripletraten ( $k_{\text{T}}$ ) (Argon: #41, Luft: #6). Mittelwerte sind in Tabelle 8.3 angegeben.

korrigiert.  $B$  steht für einen (schwachen) Untergrundbeitrag, der auf der Probe in einem Bereich ohne Farbstoff ermittelt wurde.  $I_{\text{on}}$  ist jeweils aus der Fluoreszenzzeitspur ermittelt worden, nach einer erfolgten Subtraktion des Untergrunds  $B$ .

Hinsichtlich der Bestimmung von  $k_{\text{ISC}}$  (Gleichung 8.3) ist für die Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{\text{f}}$  der bei Raumtemperatur dominierende und aus den Ensemblemessungen ermittelte Wert von  $\tau_{\text{f},2} = 4.1 \text{ ns}$  angenommen worden (von Probe II; siehe Abschnitt 8.1 bzw. Tabelle 8.1). Die Anregungsrate  $k_{12}$  wurde über die Beziehung  $k_{12} = \sigma \frac{I_{\text{exc}}}{E_{\text{Ph}}}$  abgeschätzt. Dabei steht  $E_{\text{Ph}}$  für die

**Tabelle 8.3:** Werte der *intersystem crossing* - Rate ( $k_{\text{ISC}}$ ) und Tripletrate ( $k_{\text{T}}$ ) von einzelnen LvWSCP- Molekülen auf Glas bei 296 K. Die Werte unter Argonstrom sind über eine Normalverteilung ermittelt worden, die Werte an Luft geben den arithmetischen Mittelwert von sechs stark streuenden Datenpunkten wieder (siehe Abbildung 8.5).

Umgebung	Temp. / K	$k_{\text{ISC}}^{\dagger} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{ISC}}^{-1}$ )	$k_{\text{T}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{T}}^{-1}$ )
Argon	296	$0.8 \cdot 10^7$ ( $0.1 \mu\text{s}$ )	$0.7 \cdot 10^5$ ( $13 \mu\text{s}$ )
Luft *	296	$16.1 \cdot 10^7$ ( $6.2 \text{ ns}$ )	$3.2 \cdot 10^5$ ( $3.1 \mu\text{s}$ )

<sup>†</sup> Wert nur eine Abschätzung; stark abhängig von angenommenen Parametern ( $\sigma = 2.5 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$ ,  $\tau_{\text{f}} = 4.1 \text{ ns}$ ; s. Text). \* Mittelwert besteht aus sechs stark streuenden Datenpunkten.

Energie eines anregenden Photons und  $\sigma$  für den Absorptionsquerschnitt mit einem Wert von  $\sigma = 2.52 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$ . Dieser Wert ergibt sich auf Grundlage des molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten im Absorptionsmaximum der Ensemblelösung (siehe Tabelle 8.1). Bei einer Anregung mit  $\lambda_{\text{exc}} = 633 \text{ nm}$  beträgt die Absorption  $\approx 1/4$  des Absorptionsmaximums, was effektiv ausgeglichen wird durch das Vorhandensein von vier absorbierenden Chromophoren. Die Werte für  $\tau_f$  und  $\sigma$  können individuell für einzelne Moleküle stark variieren, weshalb die kalkulierten Werte für  $k_{\text{ISC}}$  hier nur als grobe Abschätzung zu verstehen sind.

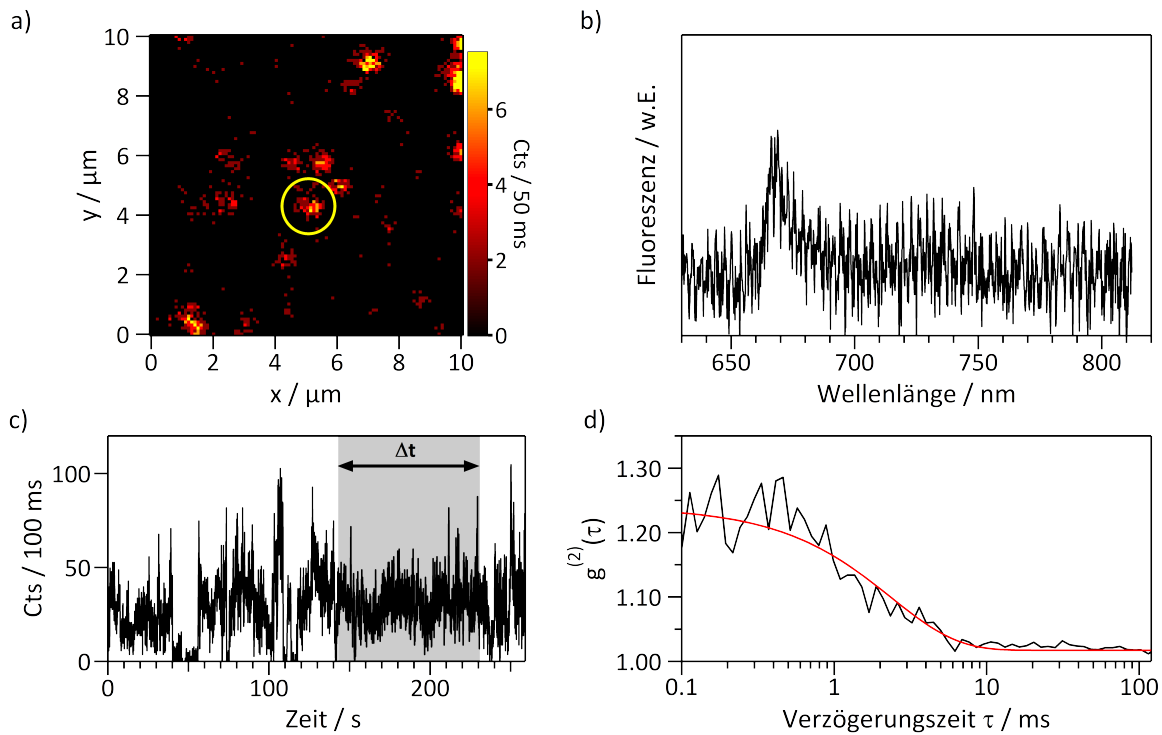
In Abbildung 8.5a sind zwei beispielhafte Korrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$  gezeigt, eine gemessen unter Argon und die andere an Luft. Es ist zu sehen, dass eine Beschreibung der  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion an Luft nicht gut möglich gewesen ist, da der Zerfall maßgeblich auf vergleichsweise kurzen Zeitskalen (für  $< \mu\text{s}$ ) stattfand. Bedingt durch die geringe Anzahl an detektierten Photonen sind die Datenpunkte für kurze Verzögerungszeiten  $\tau$  großen Schwankungen unterworfen. Diese Tatsache limitierte die Bestimmung einer kurzen Zerfallszeit  $\lambda_b$ , die bei niedrigen Anregungsintensitäten etwa dem Inversen der Triplettrate  $k_T$  entspricht.

In der Abbildung 8.5b sind in Histogrammen die Ergebnisse für  $k_T$  und  $k_{\text{ISC}}$  dargestellt, die über die Gleichungen 8.2 und 8.3 ermittelt wurden. Dort spiegelt sich die Schwierigkeit für die Bestimmung der Raten an Luft wider. Dies war nur in seltenen Fällen (6/94; 6 %) möglich, im Vergleich zu den Messungen unter Argonstrom, bei denen die Ermittlung der Raten häufiger (41/103; 40 %) realisierbar war. Die Werte unter Argon zeigen zudem eine eindeutige Häufung. Die Histogramme wurden auf der logarithmierten Skala mit einer Gaußverteilung angepasst und deren Erwartungswerte in Tabelle 8.3 eingetragen. Da die Werte unter Luft keine Häufung aufweisen, ist für diese der arithmetische Mittelwert angegeben. Vor dem Hintergrund, dass die meisten Moleküle, vermutlich aufgrund kurzer Zerfallszeiten (z.B. gegeben bei hohen Triplettraten  $k_T$ ), an Luft nicht analysiert werden konnten und zudem die sechs Datenpunkte eine große Streuung aufweisen, ist diesen ermittelten Mittelwerten eine geringere Verlässlichkeit zuzusprechen.

Es kann festgehalten werden, dass sich an Luft  $k_T$  signifikant erhöhte (gleiches gilt vermutlich auch für  $k_{\text{ISC}}$ ), was auf eine Löschung des angeregten Tripletzustands ( $T_1$ ) (und Singulettzustands ( $S_1$ )) durch Sauerstoff schließen lässt.

## 8.2.2 Untersuchungen bei tiefen Temperaturen

Weitere Untersuchungen sind unterhalb von Raumtemperatur (bis 4.5 K) durchgeführt worden. Aufgrund der deutlich erhöhten Photostabilität gegenüber den Raumtemperaturmessun-



**Abbildung 8.6:** (a) Zweidimensionale Fluoreszenzkarte von LvWSCP - Molekülen (4 Chl *a* / Tetramer) auf Glas ( $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ ,  $100 \times 100$  Pixel,  $t_{\text{int}} = 50 \text{ ms}$ ,  $I_{\text{exc}} \approx 0.5 \text{ kW/cm}^2$ ), mit Markierung eines Tetramers, dessen Spektrum (b), Fluoreszenzzeitspur (c) sowie Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  (d) gezeigt sind. Der Bereich von  $\Delta t$  in (b) kennzeichnet den Zeitabschnitt, aus dem die Korrelationsfunktion berechnet wurde. ( $T = 4.5 \text{ K}$ ,  $\lambda_{\text{exc}} = 620 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} \approx 5.4 \text{ kW/cm}^2$ , Spektrum:  $t_{\text{int}} = 10 \text{ s}$  gemittelt über 7 Spektren)

gen, bedingt durch die niedrigen Temperaturen und die sauerstoffärmere Heliumatmosphäre ( $p_{\text{He}} \approx 53 \text{ mbar}$  bei  $T = 296 \text{ K}$ ;  $p/T = 0.18 \text{ mbar/K}$ ), war es möglich, eine Analyse einzelner LvWSCP - Moleküle in Abhängigkeit der Anregungsintensität durchzuführen. Im Weiteren ermöglichte dieses, über die Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$ , eine Charakterisierung photophysikalischer Prozesse (siehe Kapitel 2.1.2 und 3.3.5 oder auch am Beispiel von Chl *a* in Kapitel 7), wie der Tripletrate  $k_T$  oder der *intersystem crossing* - Rate  $k_{\text{ISC}}$ . Wie bereits zu Beginn des Abschnitt 8.2 erläutert, basiert dabei die Analyse auf einem 3-Niveau-System ( $S_0$ ,  $S_1$ ,  $T_1$ ).

Wie bei den Messungen bei Raumtemperatur zuvor, werden zunächst Ergebnisse von einer Probe mit einzelnen LvWSCP - Molekülen auf Quarzglas gezeigt, die bei  $4.5 \text{ K}$  durchgeführt worden sind. Weitere Ergebnisse von einzelnen LvWSCP - Molekülen folgen, die in einem Glycerinfilm eingebettet sind. An dieser Probe sind nicht nur Messungen bei  $4.5 \text{ K}$ , sondern bei insgesamt 9 verschiedenen Temperaturen zwischen  $4.5 \text{ K}$  und  $180 \text{ K}$  durchgeführt worden.

### LvWSCP auf Glas - ohne Matrix

Die Abbildung 8.6a zeigt eine Fluoreszenzkarte, auf der einzelne LvWSCP-Moleküle getrennt voneinander auf der Glasoberfläche zu identifizieren sind. Ein gelber Kreis markiert ein Molekül, von welchem das Fluoreszenzspektrum (Abbildung 8.6b), die Fluoreszenzzeitkurve (Abbildung 8.6c) und die Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  (Abbildung 8.6d) gezeigt sind. An dem repräsentativen Spektrum ist zu erkennen, dass es verhältnismäßig breit ist und keine schmale Nullphononenlinie aufweist, wie es teilweise bei Tieftemperaturuntersuchungen an einzelnen Chl *a*-Molekülen zu sehen war (siehe Abbildung 7.4a). Ein möglicher Grund dafür ist eine starke Kopplung mit Phononen oder Schwingungsmoden der (Protein-)Umgebung. Ebenfalls denkbar ist, dass mehr als ein Chromophor des Tetramers emittiert. Dies müsste allerdings mit einer kollabierten Proteinstruktur einhergehen, da bei intakter Anordnung und Geometrie der Moleküle von einem schnellen ( $< \text{ps}$  [210]) Energietransfer in den niederenergetischsten der vier Chromophore auszugehen ist (siehe auch Abschnitt 8.1).

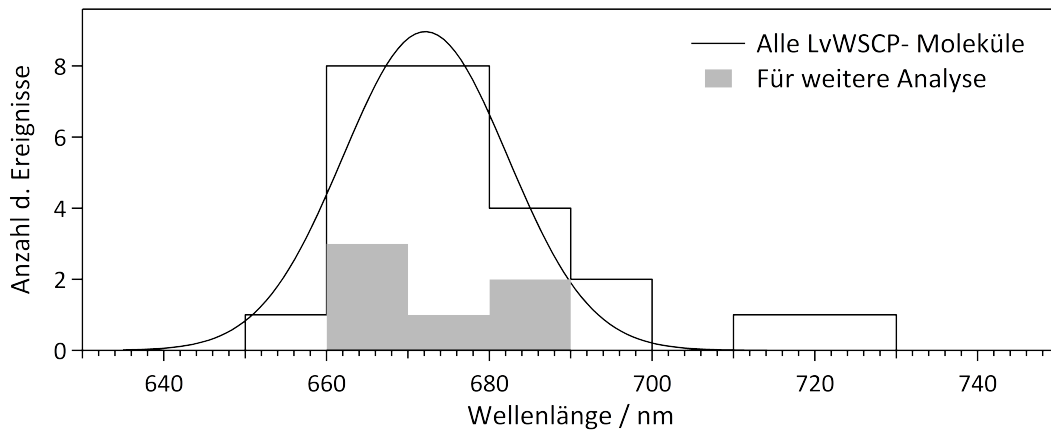
Die Fluoreszenzzeitkurve und die Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  zeigen eine erkennbare Dynamik der Emissionsrate  $R$  bzw. einen Kontrast auf längeren Zeitskalen (ms) als es zuvor bei 296 K zu beobachten war (vergleiche Abschnitt 8.2.1).

Es konnte von 25 LvWSCP-Molekülen die spektrale Lage des Emissionsmaximums ermittelt werden. Das entspricht  $\approx 40\%$  der Moleküle, die über die Fluoreszenzkarte lokalisiert und gemessen wurden. Die Verteilung dieser Werte ist in Abbildung 8.7 zu sehen. Zudem sind diejenigen sechs Moleküle (aus den 25) gezeigt, von denen im Weiteren eine Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  in Abhängigkeit der Anregungsintensität erfolgte. Abbildung 8.8 zeigt die Ergebnisse der darüber ermittelten photophysikalischen Parameter. Außerdem ist die berechnete Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  mit angegeben. Zu jedem Parameter kennzeichnet der graue Balken den jeweiligen arithmetischen Mittelwert. Tabelle 8.4 beinhaltet alle ermittelten Werte. Die berechnete Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f = k_f^{-1}$  sowie die Triplettquantenausbeute  $Y_{ISC}$  sind ebenfalls angegeben.

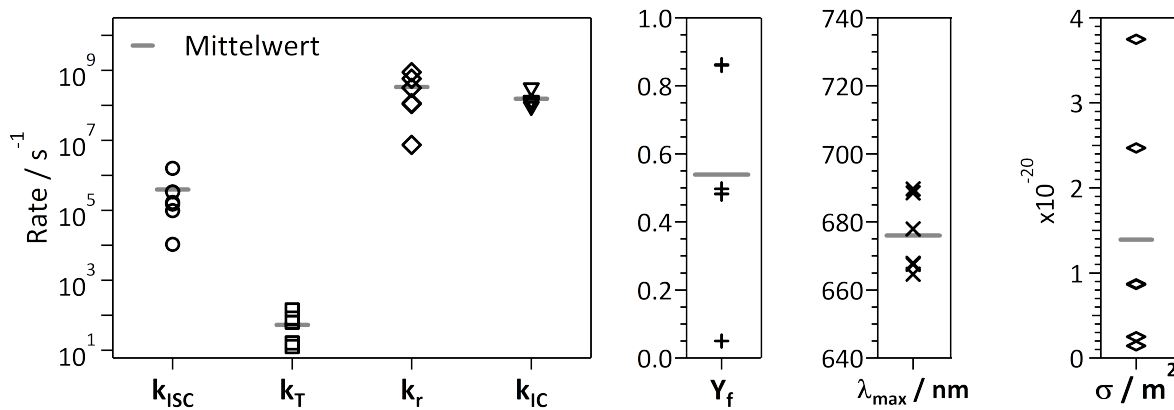
### LvWSCP in Glycerin

In weiteren Messungen ist LvWSCP in einem Glycerinfilmm auf Quarzglas präpariert und bei 9 Temperaturen zwischen 4.5 K und 180 K untersucht worden. Die Anregung geschah in dieser Messreihe gepulst mit  $\lambda_{\text{exc}} = 635 \text{ nm}$  bei einer Repetitionsrate von 20 MHz, sodass ebenfalls die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  über den Fluoreszenzzerfall bestimmt werden konnte. Für alle Temperaturen lag der Stichprobenumfang zwischen 100 und 160 gemessenen einzelnen Molekülen (ausgenommen T = 180 K: 69).

## 8.2.2 Untersuchungen bei tiefen Temperaturen



**Abbildung 8.7:** Histogramm zu spektralen Lagenausprägungen von einzelnen LvWSCP-Molekülen (4 Chl *a*) auf Glas bei 4.5 K. Das Maximum der angepassten Normalverteilung liegt bei  $\lambda_c = 672$  nm mit einer Halbwertsbreite von  $\Delta\nu = 595$   $\text{cm}^{-1}$  (25 Moleküle). Der arithmetische Mittelwert der sechs Moleküle, die weiter analysiert wurden, liegt bei  $\bar{\lambda} = 676$  nm. ( $\lambda_{\text{exc}} = 620$  nm)

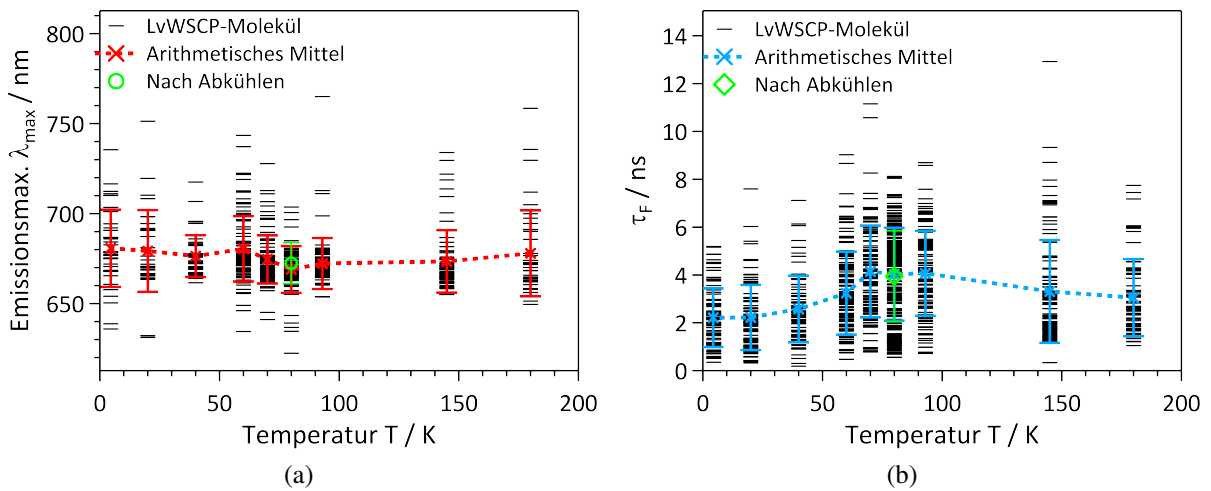


**Abbildung 8.8:** Parameter für sechs LvWSCP-Moleküle, ermittelt über die globale Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$ -Parameter ( $C$ ,  $\lambda_b$ ) und Emissionsrate ( $R$ ) in Abhängigkeit der Anregungsintensität  $I_{\text{exc}}$ . Die dargestellten Mittelwerte sind Tabelle 8.4 zu entnehmen.

**Tabelle 8.4:** Mittlere photophysikalische Parameter von sechs einzelnen LvWSCP-Moleküle (4 Chl *a*) auf Glas bei  $T = 4.5$  K, resultierend aus den Ergebnissen, die in Abbildung 8.8 gezeigt sind.

$k_{\text{ISC}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{ISC}}^{-1}$ )	$k_{\text{T}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{T}}^{-1}$ )	$k_{\text{r}} / \text{s}^{-1}$ ( $k_{\text{r}}^{-1}$ )	$k_{\text{IC}} / \text{s}^{-1 \#}$ ( $k_{\text{IC}}^{-1}$ )	$\sigma / \dagger, \#$ $10^{-21} \text{ m}^2$	$Y_{\text{f}}^{*, \#}$	$Y_{\text{ISC}}^*$	$k_{\text{f}} / \text{s}^{-1 *}$ ( $k_{\text{f}}^{-1}$ )
$2.2 \cdot 10^5$ ( $4.5 \mu\text{s}$ )	$1.4 \cdot 10^2$ ( $7.0 \text{ ms}$ )	$1.2 \cdot 10^8$ ( $8.5 \text{ ns}$ )	$1.7 \cdot 10^8$ ( $5.8 \text{ ns}$ )	$\leq 5$	37 %	0.1 %	$2.9 \cdot 10^8$ ( $4.5 \text{ ns}$ )

\* Werte sind keine unabhängigen Variablen in globaler Anpassung, sondern aus den übrigen Raten über  $k_{\text{f}} = k_{\text{r}} + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}$  sowie  $Y_{\text{f}} = \frac{k_{\text{r}}}{k_{\text{f}}}$  und  $Y_{\text{ISC}} = \frac{k_{\text{ISC}}}{k_{\text{f}}}$  berechnet.  $\dagger$  Wert unterschätzt durch Verteilung der Übergangsdipolmomentorientierungen gegenüber dem (zirkular polarisierten) Anregungslaser; nur eine grobe Abschätzung für das gesamte Tetramer (4xChl *a*).  $\#$  Wert stark gebunden an die vorgegebene Detektionseffizienz von  $\eta_{\text{Det}} = 1$  % (siehe Tabelle A.2).



**Abbildung 8.9:** (a) Spektrale Lagen der Emissionsmaxima einzelner LvWSCP-Moleküle in Glycerin. (b) Simultan gemessene Fluoreszenzlebensdauer der LvWSCP-Moleküle. ( $\lambda_{\text{exc}} = 635 \text{ nm}$ , Repetitionsrate = 20 MHz)

Für jedes Spektrum ist die Hauptemissionsbande mit einer Normalverteilung angepasst worden. Jeder darüber ermittelte Erwartungswert  $\lambda_{\text{max}}$  ist in Abbildung 8.9a eingetragen (-). Außerdem ist für jede Temperatur der arithmetische Mittelwert inkl. dessen Standardabweichung als Fehlerbalken dargestellt. Wie auch bei den Messungen zuvor auf Glas, zeigten die Spektren keine scharfen Nullphononenlinien in der Emission bei  $T = 4.5 \text{ K}$  (siehe auch Abbildung 8.6). Die gesamte Messreihe ist bei  $T = 180 \text{ K}$  begonnen und im Weiteren die Temperatur sukzessive über mehrere Tage abgesenkt worden. Die Temperaturstabilität lag bei etwa  $\pm 2 \text{ K}$  (deutlich geringere Abweichungen bei  $T = 4.5 \text{ K}$ ). Nach der Messung bei  $4.5 \text{ K}$  fand eine zweite Messung bei  $80 \text{ K}$  ('Nach Abkühlen') statt, um die Daten auf etwaig reversibles Verhalten prüfen zu können. Von dieser Stichprobe ist in Abbildung 8.9 nur der Mittelwert inkl. Standardabweichung dargestellt, nicht aber die einzelnen dem zugrunde liegenden Datenpunkte.

In Abbildung 8.9b ist bezüglich der Darstellung auf gleiche Weise verfahren worden. Hier ist die simultan ermittelte Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  mit den dazugehörigen Mittelwerten abgebildet. Alle Zeiten für  $\tau_f$  sind unter Berücksichtigung der IRF mittels (mono-) exponentieller Anpassung des jeweiligen Fluoreszenzzerfalls der einzelnen Moleküle angepasst worden (siehe Kapitel 3.3.3). Im Vergleich zu den Messwerten von  $\lambda_{\text{exc}}$  ist hier zu erkennen, dass die Daten teilweise eine breite Streuung anstatt einer eindeutigen Häufung aufweisen. Sehr deutlich zu sehen ist dies beispielsweise bei  $T = 80 \text{ K}$ .

Im Falle von  $\tau_f$  ist für die Mittelwerte im Bereich von  $70 \text{ K} - 90 \text{ K}$  ein Maximum zu erkennen. Sowohl oberhalb als auch unterhalb dieser Temperaturen ist ein abnehmender Trend zu verzeichnen. Beim Vergleich mit den Daten von  $\lambda_{\text{exc}}$  scheint erkennbar, dass sich diese komplementär zu diesen Trends zeigen könnten, wenn auch deutlich schwächer ausgeprägt. Alle



**Tabelle 8.5:** Arithmetische Mittelwerte und deren Standardabweichung zu den spektralen Lagen der Emissionsmaxima  $\lambda_{\max}$  und Fluoreszenzlebensdauern  $\tau_f$  von einzelnen LvWSCP - Molekülen in Glycerin für verschiedene Temperaturen. Zugrundeliegende Daten in Abbildung 8.9 gezeigt.

Temp. / K	180	150	93	80 <sup>a</sup>	70	60	40	20	4.5
$\lambda_{\max} / \text{nm}$ (Stdabw.)	678 (±24)	673 (±17)	672 (±14)	669 (±13)	675 (±13)	680 (±18)	676 (±12)	679 (±23)	681 (±21)
$\tau_f / \text{ns}$ (Stdabw.)	3.1 (±1.6)	3.3 (±2.2)	4.1 (±1.8)	4.0 (±1.9)	4.1 (±1.9)	3.2 (±1.7)	2.6 (±1.4)	2.2 (±1.4)	2.2 (±1.2)

<sup>a</sup> Weiterer Wert bei 80 K (Nach Abkühlen):  $\lambda_{\max} = (672 \pm 11) \text{ nm}$ ;  $\tau_f = (3.9 \pm 1.9) \text{ ns}$

Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen sind in Tabelle 8.5 aufgelistet.

Analog zu den Untersuchungen auf Glas ist versucht worden eine Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  in Abhängigkeit der Anregungsintensität durchzuführen, um photophysikalische Größen individueller Moleküle extrahieren zu können. Von den ca. 1200 gemessenen Molekülen (Summe über alle Temperaturen) war es allerdings nur sehr vereinzelt (in 6 Fällen bei verschiedenen Temperaturen) möglich, einen Kontrast der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  für mehrere Anregungsintensitäten zu messen. In den meisten Fällen lag kein messbarer Korrelationskontrast vor. Es wird daher davon ausgegangen, dass es sich bei den 6 Molekülen um Ausnahmefälle handelt, die nicht repräsentativ sind. Dennoch soll an dieser Stelle das Ergebnis eines Moleküls bei  $T = 4.5 \text{ K}$  festgehalten werden (Fluoreszenzspektrum, -zeitspur, -zerfall, Korrelationsfunktion im Anhang Abbildung A.11). Der Fluoreszenzzerfall, der gut mit einem mono - exponentiellen Zerfall beschreibbar ist, ergab für dieses Molekül eine Fluoreszenzlebensdauer von  $\tau_f = 4.5 \text{ ns}$ . Dieser Wert geht in die globale Anpassung der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  und Emissionsrate der Fluoreszenz als Bedingung ein (analog zu dem Verfahren in Abschnitt 7.2.3 für Chl *a*). Daraus ergeben sich die weiteren folgenden Werte:  $k_{\text{ISC}} = 1.8 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$  und  $k_{\text{T}} = 136 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_{\text{r}} = 3.3 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_{\text{IC}} = 1.9 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  und  $\sigma = 2.3 \cdot 10^{-21} \text{ m}^2$ . Den Werten liegt dabei eine abgeschätzte Detektionseffizienz des Setups von  $\eta_{\text{Det}} = 1 \%$  zugrunde (siehe Tabelle A.2). Nach  $Y_f = \frac{k_{\text{r}}}{k_{\text{r}} + k_{\text{ISC}} + k_{\text{IC}}}$  ergibt sich aus den genannten Übergangsraten eine Fluoreszenzquantenausbeute von  $Y_f = 15 \%$ .

### 8.3 Diskussion der Ergebnisse

Die folgende Diskussion soll unter der Prämisse geschehen, alle Ergebnisse, obgleich unter ungleichen Umgebungsbedingungen erhoben, zusammen zu betrachten. Dabei wird der Fokus

auf die spektralen Lagen und die ermittelten Triplettraten  $k_T$  gelegt. Begonnen wird mit den Emissionsspektren. Deren Form und spektrale Lage sind grundsätzlich ein gutes Kriterium für den (intakten) Zustand eines spezifischen Chromophors. Das ist insbesondere in diesem Fall von Relevanz, da ein System aus Protein und Farbstoffmolekülen vorlag, dessen Proteinstruktur kollabieren kann. Es wird vermutet, dass für das Eintreten dieses Falls spektrale Veränderungen zu beobachten wären.

Die mittlere **spektrale Lage** der Emissionshauptbande liegt für fast alle gezeigten Experimente bei  $\lambda_{\max}^{\text{em}} \approx 672\text{-}674\text{ nm}$ . Das gilt sowohl für die verschiedenen Ensemblelösungen (siehe Tabelle 8.1) als auch für die Untersuchung einzelner Moleküle (an Luft, unter Argon, in Helium) und das ebenfalls unabhängig davon, ob diese bei Raumtemperatur oder tiefen Temperaturen (4.5 K) durchgeführt wurden. Zwischen 293 K und 4.5 K konnte bei Ensemblemessungen allerdings ein geringe Rotverschiebung beobachtet werden ( $\Delta\lambda = 2\text{ nm}$ ), auf die im nächsten Abschnitt weiter eingegangen wird. Einzig die temperaturabhängige Messreihe der einzelnen Moleküle in Glycerin stellt eine Ausnahme bezüglich der spektralen Lagen dar; in dieser streuen die (arithmetischen) Mittelwerte vergleichsweise stark. Davon abgesehen ist diese spektrale Stabilität dennoch bemerkenswert, da Chlorophylle grundsätzlich vergleichsweise sensitiv auf die Umgebungsbedingungen bzgl. ihrer photophysikalischen Eigenschaften reagieren (siehe Kapitel 7). Es spricht daher für eine stets ähnliche Umgebung der Farbstoffmoleküle, gegeben durch eine abschirmende und intakte Proteinhülle des WSCPs. Dafür spricht ebenfalls die Lage und Halbwertsbreite der Hauptbande des Absorptionsspektrums von LvWSCP, gemessen am Ensemble in Natriumphosphatpufferlösung, mit  $\lambda_{\max}^{\text{abs}} = 665\text{ nm}$  bzw.  $\Delta\nu_{\max}^{\text{abs}} = 407\text{ cm}^{-1}$ . Verglichen mit den Messungen an freiem Chl *a* (Chl *a* in Lösung:  $\Delta\nu_{\max}^{\text{abs}} = 418\text{ - }523\text{ cm}^{-1}$ , siehe Tabelle 7.1) ist  $\Delta\nu_{\max}^{\text{abs}}$  kleiner, was ebenfalls für vergleichsweise homogene Umgebungsbedingungen der Chlorophylle spricht. In der Literatur existieren einige Vergleichsspektren und -werte zu (Lv)WSCP. Es ist allerdings darauf zu achten, ob es sich um rekombinantes oder natives LvWSCP handelt, da in letzterem ebenfalls anteilig Chl *b* gebunden ist. Für rekombinantes LvWSCP mit 4 Chl *a* geben Agostini et al. [138] für das Emissionsmaximum  $\lambda_{\max}^{\text{lit,em}} = 674\text{ nm}$  bei Raumtemperatur an, was übereinstimmend mit den hier gezeigten Daten ist. Der Wert ist ebenfalls in einer Lösung mit Glycerin ermittelt worden.

Bemerkenswert ist die Entwicklung der Ensembleemissionsspektren von Probe II zwischen 293 K und 4.5 K (LvWSCP in Natriumphosphatpuffer und Glycerin, Abbildung 8.2a). Die Hauptemissionsbande zeigt sich bei 4.5 K deutlich schmaler als bei 293 K, allerdings einhergehend mit einer bereits erwähnten leichten Rotverschiebung ( $\Delta\lambda = 2\text{ nm}$ ). Die Fluoreszenz liegt dennoch innerhalb der breiten Emissionsbande des Spektrums bei 293 K. Es scheint, als würde

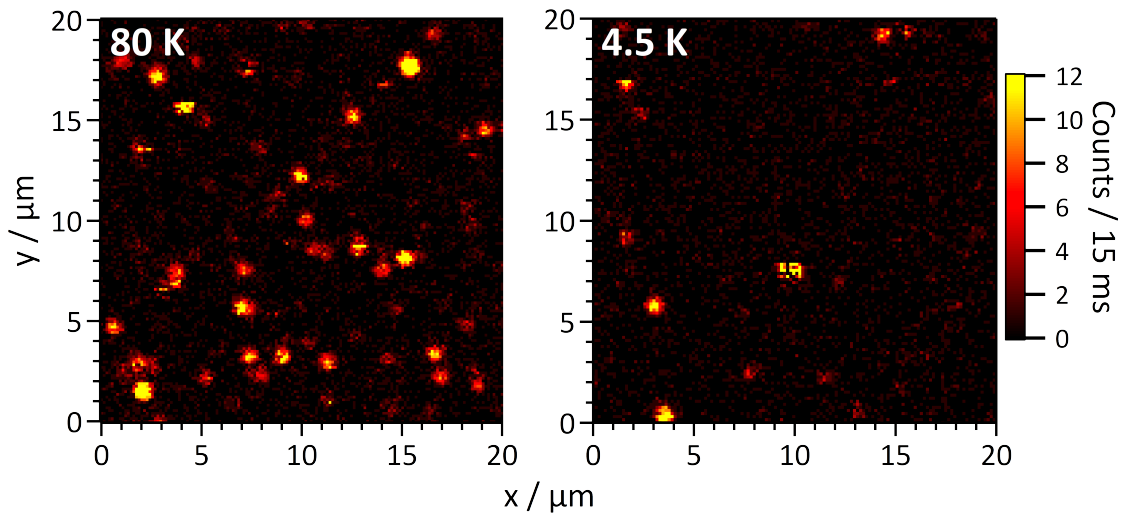
---

der hochenergetische Teil der Bande zwischen 293 K und 4.5 K ausfrieren. Bei der Betrachtung der absoluten, integrierten und bzgl. des Untergrunds korrigierten Fluoreszenzspektren, ergibt das Intensitätsverhältnis eine Reduzierung der Emission auf  $Fl.(4.5\text{ K}) / Fl.(293\text{ K}) = 38\%$ , bei gleicher Anregungsintensität. Allerdings sei erneut erwähnt, dass die Messbedingungen sich zwischen 293 K und 4.5 K unterscheiden: Die untersuchte Natriumphosphatpuffer - Glycerin - Lösung liegt bei 296 K in einem flüssigen und bei 4.5 K in einem festen Aggregatzustand vor. Es ist nicht gänzlich klar, ob ein Einfluss auf die Fluoreszenz daraus resultierte. Zudem ist nicht sicher, ob die untersuchte Position nach dem Abkühlen identisch mit der bei 296 K gewesen ist, wenngleich die Probe über einen vergleichsweise großen Bereich ( $\approx \text{mm}^2$ ) als homogen eingeschätzt wird. Dennoch ist aus diesen beiden Gründen nicht gänzlich sicher, ob die absoluten Intensitäten der Fluoreszenz vergleichbar sind.

Neben der vermutlichen Verringerung der Fluoreszenzintensität und der Rotverschiebung verlängert sich zudem auch die dominierende **Fluoreszenzlebensdauer** zu tiefen Temperaturen von 4.1 ns (293 K) auf 6.1 ns (4.5 K) (vgl. Tabelle 8.1). Diese drei Verhalten geben konsistent den H - artigen Charakter der stark gekoppelten Dimere in WSCP wieder (siehe auch Abschnitt 2.2.2). Aufgrund der nahezu parallelen Anordnung der einzelnen Übergangsdipolmomente der dimerisierten Chlorophylle [188], ist durch die köherente Kopplung der zwei Moleküle das Übergangsdipolmoment des niederenergetischen Exzitonenniveaus um einen Faktor 8-10 geringer als das des höherenergetischen [134,213]. Wie bereits in Abschnitt 8.1 dargelegt wurde, gilt dieser Wert allerdings für BobWSCP. In LvWSCP ist sowohl der Öffnungswinkel des Dimers um wenige Grad geringer als auch die Verdrehung der Ebenen des Tetrapyrrolrings kleiner [134,135,188]. Daher ist tendenziell für das Dimer in LvWSCP eine noch größere Diskrepanz bzgl. der Übergangsdipolmomente der zwei Exzitonenniveaus zu erwarten.

Bei Raumtemperatur ist das höhere Exzitonenniveau eines H - artigen Dimers zu einem größeren Anteil thermisch Besetzt und als bei 4.5 K. Es kann demnach bei tiefen Temperaturen im Vergleich weniger Emission aus dem höheren Niveau stattfinden, woraus in der Beobachtung eine Rotverschiebung resultiert. Durch das deutlich kleinere Übergangsdipolmoment des niedrigeren Niveaus ist zudem die Fluoreszenzlebensdauer geringer und die Fluoreszenzintensität kleiner.

Im Falle des Experiments mit einzelnen LvWSCP - Molekülen in Glycerin zeigen die ermittelten Fluoreszenzlebensdauern allerdings ein abweichendes Verhalten (siehe Abbildung 8.9b), das zunächst nicht mit einem H - artigen Charakter zu erklären ist. Hier wird der Mittelwert von  $\tau_f$  zwar während des Abkühlens zunächst größer, bis zu einem maximalen Wert zwischen 70 - 90 K (4.1 ns), er wird beim weiteren Abkühlen allerdings erneut deutlich kleiner (2.2 ns bei 4.5 K). Dieses Verhalten unterhalb von 70 - 90 K ist allerdings vermutlich auf einen anderen Effekt zurückzuführen, der zu einer selektiven Untersuchung von Molekülen führt. Um diesen



**Abbildung 8.10:** Fluoreszenzkarten von einzelnen LvWSCP - Molekülen (4 Chl *a*) in Glycerin bei 80 K (links) und 4.5 K (rechts) von unterschiedlichen Probenpositionen. Es ist deutlich eine Abnahme von Fluoreszenzpunkten bei 4.5 K zu sehen. ( $\lambda_{\text{exc}} = 625 \text{ nm}$ , Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{\text{exc}} \approx 2.4 \text{ kW/cm}^2$ ,  $t_{\text{int}} = 15 \text{ ms}$ ,  $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$  mit  $150 \times 150$  Pixel)

zu Erläutern, ist zunächst in Abbildung 8.10 eine Fluoreszenzkarte bei 80 K einer bei 4.5 K gegenübergestellt. Vergleicht man beide Abbildungen, ist eine deutliche Abnahme der Belegungsdichte von Fluoreszenzpunkten für 4.5 K zu erkennen. Diese Belegungsdichte ist reversibel, sofern man die Probe wieder erwärmt (Bild nicht dargestellt). Der Grund für die Abnahme der zu beobachteten Fluoreszenzpunkte ist, dass die meisten Moleküle eine zu niedrige Fluoreszenzemission zeigen, dass sie noch zu detektieren wären. Bei 4.5 K scheint die thermische Energie nicht mehr auszureichen, um das höherenergetischere Exzitonenniveau des H-artigen Dimers (mit stärkerem Übergang / kürzere Fluoreszenzlebensdauer) zu bevölkern. Mutmaßlich findet daher ausschließlich Emission aus dem niederenergetischen Exzitonenniveau (schwächerer Übergang / längere Fluoreszenzlebensdauer) statt und die Emissionsrate nimmt stark ab. Ausgehend von einer Aufspaltung der Exzitonenniveaus von  $\Delta E_G \approx 131 \text{ cm}^{-1}$  [214] (16.2 meV; BobWSCP) ergäbe sich nach Boltzmann bei 4.5 K ein thermisches Besetzungsverhältnis des oberen und unterem Zustands von  $\approx 10^{-18}$ , bei 80 K beträgt es dagegen  $\approx 10\%$ . Es wird daher vermutet, dass bei 4.5 K die meisten Moleküle aufgrund zu geringer Fluoreszenzintensität nicht detektiert werden konnten. Diejenigen, die noch zu beobachten waren, müssten demnach einer gewissen Gruppe von Molekülen zugehörig sein, die Emission aus einem Zustand mit vergleichsweise geringer Fluoreszenzlebensdauer aufwies und aufgrund dessen zu detektieren waren. Eventuell könnte es sich dabei um Moleküle gehandelt haben, bei denen die Proteinhülle (teilweise) kollabiert war, wodurch die Geometrie der eingeschlossenen Dimere verändert war. Der H-artige Charakter der Dimere könnte dadurch schwächer ausgeprägt gewesen sein. Eine andere mögliche Erklärung wäre, dass die LvWSCP - Moleküle, von denen

---

Emission bei 4.5 K detektiert werden konnte, dem Randbereich einer Verteilung zuzuordnen sind (vergleichsweise geringe Exzitonenaufspaltung oder kurzes  $\tau_f$  des unterem Exzitonenniveaus).

Im folgenden Abschnitt soll eine Einordnung der **Triplettlebensdauern**  $\tau_T$  anhand von Zahlen aus der Literatur erfolgen. Für einzelne LvWSCP - Moleküle auf Glas ist hier bei Raumtemperatur unter Argon ein mittlerer Wert von  $\tau_{T,Ar}^{RT} = 13 \mu s$  ( $k_{T,Ar}^{RT} = 0.7 \cdot 10^5 s^{-1}$ ) bestimmt worden. Auch wenn der Wert für  $\tau_T$  von freiem Chl *a* je nach Umgebung stark variieren kann (30 - 5000  $\mu s$  [128, 175–179]; eigener ermittelter Wert von  $\tau_T$  für Chl *a* in Zeonex bei  $T = 4.5 K$ :  $\tau_T = 1.8 ms$ ; siehe auch Abschnitt 7.2.3 und 7.3), stellt  $\tau_{T,Ar}^{RT}$  eine vergleichsweise niedrige Triplettlebensdauer dar. Agostini et al. [138] haben für rekonstruiertes LvWSCP (4 Chl *a*) im Ensemble (entgaste Lösung bei Raumtemperatur) eine Triplettlebensdauer von  $\tau_T^{Lit.,1} = 1.35 ms$  ermittelt. Zwar existierte in den Daten eine weitere kurzlebige Komponente bei 10 - 20  $\mu s$ , die allerdings messtechnischen Problemen zugeordnet wurde. Unter Anwesenheit von Sauerstoff wird in der identischen Veröffentlichung ein grober Wert von  $\tau_T^{Lit.,2} < 10 \mu s$  für die Triplettlebensdauer angegeben (entspricht der Auflösungsgrenze). Dieser Wert würde deutlich näher an dem in dieser Arbeit ermittelten liegen. Allerdings fanden hier die Messungen unter einem Argonstrom statt und es war ein deutlicher Einfluss für den Atmosphärenwechsel von Argon zu Luft zu beobachten. In Anwesenheit von Sauerstoff, verkürzte sich die Triplettlebensdauer so sehr, dass selten eine Analyse der Korrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  möglich war. Daher wird es als unwahrscheinlich eingeschätzt, dass bei den Messungen unter Argon eine Atmosphäre mit einem hohen Sauerstoffgehalt vorlag.

Eine mögliche systematische Fehlerquelle könnte in der Analysemethode der Triplettraten liegen. Diese fand unter Annahmen und Näherungen statt, die i.d.R. für einen einzelnen Chromophor gelten (3-Niveau-System). Dadurch lassen sich allerdings nicht Abweichungen von etwa drei bis vier Größenordnungen ( $\mu s$  vs.  $ms$ ) erklären. Dass Fluoreszenzfluktuationen im  $\approx \mu s$  Bereich stattfanden, ist unbestreitbar, da diese direkt den Korrelationsfunktionen  $g^{(2)}(\tau)$  zu entnehmen sind. Es wäre daher in weiteren Untersuchungen zu klären, ob es hier einen Mechanismus gab, der ein effizientes löschen der Tripletzustände verursachte oder aber andere Gründe vorlagen, aus denen die Chlorophylle eine solch niedrige Triplettlebensdauer aufwiesen.

Im Zuge dessen stellt sich bei LvWSCP - Molekülen, die auf einer Glasoberfläche liegen, zusätzlich die Frage nach einer möglicherweise veränderten/ kollabierten Proteinstruktur. Es ist beispielsweise unklar, ob die Hydrathülle des Proteins bei dieser Probenpräparation noch intakt ist. Spektral sind allerdings keinerlei Indizien bezüglich einer kollabierten oder veränderten Struktur zu beobachten gewesen.

Grundsätzlich wäre es auch denkbar, dass die gemessenen Fluoreszenzfluktuationen einem anderem Prozess zuzuordnen sind; beispielsweise einer thermisch aktivierten Konformationsänderung des Apoproteins.

Die **strahlende Rate**  $k_r$  sowie die Rate der **inneren Konversion**  $k_{IC}$ , die ebenfalls bei den Untersuchungen auf Glas bei 4.5 K ermittelt wurden sind mit  $k_r = 1.2 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  und  $k_{IC} = 1.7 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  vergleichbar mit den ermittelten Werten an Chl *a* - Molekülen in Kapitel 7 ( $k_r^{\text{Chl}} = 1.0 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$  und  $k_{IC}^{\text{Chl}} = 1.6 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ ). Dagegen sind die Übergangsraten in und aus dem Triplettzustand mit  $k_{ISC} = 2.2 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$  ( $k_{ISC}^{\text{Chl}} = 1.6 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ ) und  $k_T = 1.4 \cdot 10^2 \text{ s}^{-1}$  ( $k_T^{\text{Chl}} = 5.2 \cdot 10^2 \text{ s}^{-1}$ ) verringert. Eine Verringerung beider Raten könnte beispielsweise erklärt werden durch eine geringere molekulare Verzerrung der Chl *a* - Moleküle in LvWSCP [157, 208], mutmaßlich gegeben durch die schützende Proteinhülle.

---

## 9 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde insbesondere die Fluoreszenz von drei Farbstoffen mit unterschiedlicher chemischer Struktur untersucht. Es wurden Ergebnisse zu dem konjugierten Polymer LP-PentP, dem polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoff DBOV - DMEP, der einen kleinen Graphenausschnitt darstellt, und dem natürlichen Farbstoff Chl *a*, einem Chelat - Komplex, gezeigt. Des Weiteren wurden Experimente an WSCP (rekombinantes LvWSCP mit vier Chl *a* - Molekülen pro Protein) vorgestellt. Zu jedem organischen Emitter fand in den behandelnden Kapiteln jeweils eine Diskussion der gezeigten Ergebnisse statt. Daraus sind im Folgenden Erkenntnisse der einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen abschnittsweise zusammengetragen.

Bei den Experimenten an einzelnen **LPPentP** - Ketten lag der inhaltliche Fokus auf der Analyse der "green emission", also den *bathochromen* Sprüngen der Fluoreszenzspektren, die auf einer Zeitskala von Sekunden auftraten und typisch sind für diese Klasse von Farbstoffen (Polypheylene). Dabei galt als zentrale Fragestellung, die Ursache der spektralen Sprünge und deren zeitliche Dynamik zu erörtern. Als prominente Erklärungsmodelle stehen sich aktuell in der Literatur der Einfluss von Sauerstoff (Photooxidation) und das Entstehen von Aggregaten innerhalb des Polymers (Excimeremission), einhergehenden mit Konformationsänderungen, gegenüber.

Untersuchungen bei Raumtemperatur (RT), unter Variation der Messumgebung (Luft, Argon, PMMA - Matrix, auf Glas), zeigten durchweg eine vergleichsweise hohe Fluoreszenzintensität und unter Beleuchtung signifikante spektrale Veränderungen der Fluoreszenz. Verschiedene charakteristische Spektren wurden bei RT in fünf Klassen ('Typ 1 - 5') eingeteilt, das anteilige Vorkommen dieser ermittelt und die dazugehörigen mittleren spektrale Lagen bestimmt. Ebenfalls wurden die energetischen Sprungweiten zu den jeweiligen Spektrentypen dargestellt. Bei RT wurde für alle untersuchten Moleküle ein spektrales Springen über die jeweilige Messdauer festgestellt, welches sich teilweise auch reversibel zeigte (z.B.: 'Typ 1' → 'Typ x' → 'Typ 1'). Maximal wurden während einer Messung 13 aufeinanderfolgende Sprünge an einem Molekül beobachtet, bevor ein Photobleichen des Moleküls eintrat.

Aufgrund der gezeigten Ergebnisse wird davon ausgegangen, dass grundsätzlich die spektralen Sprünge erst während einer Messung bzw. nach optischer Anregung auftreten. Demnach sollte jedes Molekül in der Fluoreszenz zunächst die Emission des gleichen Spektrentypus aufweisen ('Typ 1'), welche dem Fluoreszenzspektrum des Ensembles in Lösung gleicht. Bei den Molekülen, die nicht 'Typ 1' zu Beginn einer Untersuchung zeigten, wird davon ausgegangen, dass bereits vorab die spektrale Veränderung stattgefunden hat, beispielsweise während der vorangegangenen Aufnahme einer Fluoreszenzkarte.

Die Charakterisierung der Fluoreszenz der Spektrentypen fand zunächst mit einer cw - Anregung ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ) statt. Im Weiteren wurden Experimente mit gepulster Anregung ( $\lambda_{\text{exc}} = 437 \text{ nm}$ ) durchgeführt, um die Fluoreszenzlebensdauer der Spektrentypen zu bestimmen. Daraus ergab sich, dass sich die Verteilung der Fluoreszenzlebensdauern des 'Typ 1' (Ausgangstyps) stark von den übrigen Spektrentypen ('Typ 2 - 5') unterschied. Für 'Typ 1' zeigten die Werte im Vergleich eine deutlich geringere Streuung und einen um etwa eine Größenordnung kleineren Mittelwert.

Des Weiteren wurde unter cw - Anregung festgestellt, dass eine Variation der Atmosphäre einen Einfluss auf die absolute Anzahl der Fluoreszenzphotonen bewirkte, bevor ein Photo bleichen der LPPentP - Ketten eintrat. Im Mittel konnten mehr Photonen unter argonreicher Atmosphäre als unter Luft detektiert werden. Dieser Effekt ist mutmaßlich auf den Einfluss des Sauerstoffs in der Luft zurück zu führen, der durch die Löschung von Triplett - ( $T_1$ ) oder Singulettzuständen ( $S_1$ ) zu reaktivem Singulett - Sauerstoff angeregt und im Weiteren zu einer Photooxidation des Moleküls führen kann. Bezüglich der spektralen Veränderungen wurde außerdem gezeigt, dass, während durchgehender Beleuchtung eines Moleküls, unter Luft im Mittel deutlich schneller spektrale Sprünge stattfanden als unter Argon, was ebenfalls einem Einfluss des Sauerstoffs in der Luft zugeschrieben wird. Dieser fungierte scheinbar als Initiator der spektralen Sprünge oder beschleunigte diese zumindest. Dass unter argonreicher Atmosphäre dennoch spektrale Sprünge stattfanden, wird auf eine zwar niedrigere, aber dennoch verbleibende Sauerstoffkonzentration in der Atmosphäre zurückgeführt.

Weitere Untersuchungen wurden in einem Kryostaten bei tieferen Temperaturen (200 K, 100 K, 4.5 K) in Heliumatmosphäre durchgeführt. Spektrale Sprünge traten nun deutlich seltener als bei RT auf. Nur noch 13 - 18 % der Moleküle zeigten während der jeweiligen Messdauer eine spektrale Verschiebung der Fluoreszenz (100 % bei RT), bei gleichzeitig deutlich erhöhter Photostabilität. Analog zu den RT - Messungen wurde bei den tieferen Temperaturen jeweils die mittlere Dauer bestimmt, bis unter Beleuchtung ein spektraler Sprung stattfand. Die ermittelten Werte für 200 K und 100 K unterschieden sich untereinander kaum, sind allerdings um einen Faktor 3 - 4 größer als bei RT unter Argon. Die Dauer erhöhte sich bei 4.5 K um einen weiteren Faktor 3 - 4. Diese Beobachtungen sind mutmaßlich ebenfalls auf eine geringere Sauerstoff-



---

konzentration innerhalb des Kryostaten zurückzuführen. Dieser wurde vor jeder Messung mit einer Kombination aus Drehschieber- und Turbomolekularpumpe evakuiert ( $\approx 10^{-7}$  mbar) und anschließend mit Helium als Austauschgas gefüllt. Der Kryostat ist zwar näherungsweise als abgeschlossenes System zu betrachten, dennoch könnte sich die Sauerstoffkonzentration bei 4.5 K gegenüber 100 K und 200 K weiter verringert haben, davon ausgehend, dass die Wände des Kryostaten bei solch tiefen Temperaturen wie eine Kryopumpe fungieren und verbleibender Sauerstoff aus der Atmosphäre an diesen kondensiert.

Abschließend sind Untersuchungen mit einem AFM durchgeführt worden. Es wurden die geometrischen Ausdehnungen einzelner LPPentP - Ketten vermessen, welche eine vornehmlich längliche Struktur aufwiesen. Diese Beobachtung deckt sich mit der prognostizierten Steifigkeit dieses Polymers und wurde als Indiz gewertet, dass die untersuchten LPPentP - Ketten weder zu einer inter - noch zu einer intramolekularen Aggregation neigten. Diese Ergebnisse unterstützen die abschließende These, dass nicht Aggregation sondern Sauerstoff als Ursache der "green emission" / bathochromen spektralen Sprünge angenommen werden kann.

Im nächsten Teil der Arbeit erfolgte eine umfassende Charakterisierung der photophysikalischen Parameter von **DBOV - DMEP**. Zunächst wurden Ergebnisse bei RT vorgestellt. Einzelne Moleküle zeigten sich dabei als gute Einzelphotonenemitter mit hoher Photostabilität und einer intensiven, schmalbandigen Fluoreszenz. Die Fluoreszenzintensitäts - Autokorrelationsfunktion  $g^{(2)}(\tau)$  wurde genutzt, um die Intensitätsfluktuationen der Fluoreszenz auf kurzen Zeitskalen (ns - s) darzustellen. Der Verlauf von  $g^{(2)}(\tau)$  ist charakteristisch für die Übergangsraten der photophysikalischen Prozesse eines Moleküls. Es wurde gezeigt, dass die Fluoreszenz der Moleküle die Eigenschaften eines Einzelphotonenemitters widerspiegeln und bei kurzen Verzögerungszeiten  $\tau$  *anti - bunching* zu beobachten war ( $g^{(2)}(0) \approx 0$ ). Ebenfalls war bei längeren Zeiten ein ausgeprägter Kontrast in der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion zu sehen, welcher das *bunching* der Fluoreszenzphotonen aufzeigte, resultierend aus wechselhaft hellen und dunklen Phasen, sofern sich das Molekül im  $S_1$  - beziehungsweise  $T_1$  - Zustand befand. Durch eine anregungsleistungsabhängige Analyse von  $g^{(2)}(\tau)$  und der Emissionsrate der Fluoreszenz war es möglich bei RT von vier Molekülen photophysikalische Größen zu bestimmen. Zunächst wurde aus dem Anstieg des *anti - bunching* - Bereichs von  $g^{(2)}(\tau)$  die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  (bzw. die dazugehörige Rate  $k_f$ ) ermittelt. Diese ist im Weiteren als Randbedingung für die Analyse des jeweiligen *bunching* - Bereichs der Moleküle eingeflossen. Die globale Anpassung von  $g^{(2)}(\tau)$  und der Emissionsrate ermöglichte sowohl die Bestimmung der *intersystem crossing* - Rate  $k_{ISC}$  und der Tripletrate  $k_T$  als auch die der strahlenden Rate  $k_r$  und der inneren Konversionsrate  $k_{IC}$ . Zudem wurden Werte zum Absorptionsquerschnitt  $\sigma$  und zu der Detektionseffizienz des Aufbaus  $\eta_{Det}$  ermittelt.

In Untersuchungen bei 4.5 K konnte gezeigt werden, dass das Fluoreszenzemissionsspektrum von einzelnen DBOV - DMEP - Molekülen von der rein elektronischen ZPL dominiert wird. Aufgrund einer hohen spektralen Stabilität war es möglich ein hochaufgelöstes Emissionsspektrum aufzunehmen, in welchem einzelne Schwingungsmoden aufgelöst zu erkennen sind. Analog zu dem beschriebenen Vorgehen bei RT wurde eine Bestimmung photophysikalischer Größen bei 4.5 K durchgeführt. Hier erfolgte allerdings ausschließlich eine anregungsleistungsabhängige Analyse des *bunching* - Bereichs der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion, gemeinsam mit der Emissionsrate der Fluoreszenz. Die Detektionseffizienz  $\eta_{\text{Det}}$  wurde bei 4.5 K im Voraus abgeschätzt und ging als Randbedingung mit in die Analyse ein. Hierdurch konnten von 13 Molekülen Werte zur Tripletrate  $k_T$ , *intersystem crossing* - Rate  $k_{\text{ISC}}$ , strahlenden Rate  $k_r$ , inneren Konversionsrate  $k_{\text{IC}}$  und zum Absorptionsquerschnitt  $\sigma$  ermittelt werden. Bei tiefen Temperaturen war es zudem möglich, zwei unterschiedliche Triplett-niveaus aufzulösen, wovon eines den Niveaus  $t_x$  und  $t_y$  und eines dem  $t_z$  - Niveau zugeordnet wurde. Im Vergleich der Ergebnisse zwischen RT und 4.5 K zeigte sich eine deutliche Abnahme der Werte von  $k_{\text{ISC}}$  bei tiefen Temperaturen, wogegen die von  $k_T$ ,  $k_r$  und  $k_{\text{IC}}$  keine signifikanten Änderungen aufwiesen. Weitere temperaturabhängige Untersuchungen könnten hier den zugrundeliegenden Mechanismus der Temperaturabhängigkeit von  $k_{\text{ISC}}$  näher beleuchten.

Erstmals wurden in dieser Arbeit Spektren von einzelnen **Chl a** - Molekülen gezeigt. Nach aktuellem Kenntnisstand existieren in der Literatur keine vergleichbaren Daten. Trotz der geringen Fluoreszenzquantenausbeute und Photostabilität von freiem Chl a war Einzelmolekülspektroskopie möglich, sowohl bei 4.5 K als auch bei RT. Je nach gewählter Umgebung (auf Glas, in PMMA, in Zeonex) zeigte sich bei RT eine hohe Diversität der spektralen Lagen und Lebensdauer der Fluoreszenz, mutmaßlich bedingt durch die geringe Stabilität und einem hohen Einfluss der Umgebung auf Chl a. Die spektrale Diversität zeigte sich bei Untersuchungen in Zeonex am geringsten und die mittlere spektrale Lage der Fluoreszenz vereinbar mit dem Ergebnis, das zuvor am Ensemble bestimmt wurde. Weitere Messungen bei tiefen Temperaturen erfolgten daher in einer Zeonexmatrix.

Analog zu den Untersuchungen an DBOV - DMEP sollten über die Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion und Emissionsrate der Fluoreszenz photophysikalische Parameter von Chl a ermittelt werden. Bei RT war dies aufgrund der geringen Photostabilität der Chl a - Moleküle nicht möglich. Zudem war bei RT in der Regel kein Kontrast der  $g^{(2)}(\tau)$  - Funktion zu beobachten. Mögliche Ursachen dessen wurden innerhalb des Kapitels von Chl a diskutiert, eine abschließende Klärung ist allerdings nicht erfolgt. Durch eine erhöhte Photostabilität bei tiefen Temperaturen (4.5 K) war es hingegen möglich von mehreren Chl a - Molekülen photophysikalische Größen zu bestimmen. Dabei handelte es sich um Moleküle, die eine vergleichsweise scharfe Emis-

---

sion ohne erkennbare Phononenseitenbande oder Schwingungsprogression in der Fluoreszenz aufwiesen. Eine solche Fluoreszenzemission zeigten 16 % aller untersuchten Moleküle. Diese wiesen im Mittel eine nicht gänzlich geklärte Rotverschiebung gegenüber den Ergebnissen bei RT auf und sind mutmaßlich einer hexakoordinierten Spezies zuzuordnen. Die Messungen bei 4.5 K wurden mit einer gepulsten Anregung ( $\lambda_{\text{exc}} = 635 \text{ nm}$ ) durchgeführt, wodurch eine unabhängige Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauern möglich war. Die ermittelten Werte wurden jeweils erneut als Randbedingung für die Bestimmung der weiteren photophysikalischen Größen von 26 Molekülen verwandt. Die Ergebnisse bestätigten eine lange Lebensdauer des Triplettzustands  $k_{\text{T}}^{-1}$ . Sie zeigten außerdem über die Bestimmung von  $k_{\text{r}}$ ,  $k_{\text{ISC}}$  und  $k_{\text{IC}}$ , dass die Fluoreszenzquantenausbeute von Chl *a* nicht maßgeblich von *intersystem crossing* ( $Y_{\text{ISC}} \approx 1 \%$ ) sondern von einer hohen Rate der inneren Konversion  $k_{\text{IC}}$  ( $Y_{\text{IC}} \approx 61 \%$ ) bestimmt wurde. Da es bei RT nicht möglich war Werte zu diesen Übergangsraten zu erhalten, blieb ungeklärt, inwiefern sich diese bei RT und 4.5 K unterschieden. Theoretische Überlegungen legten allerdings nahe, dass auch bei RT zu einem signifikanten Anteil innere Konversion  $k_{\text{IC}}$  stattgefunden haben muss, um das Ausbleiben eines beobachtbaren Kontrasts in der  $g^{(2)}(\tau)$  Funktion zu erklären.

Ebenfalls erstmalig wurden auch einzelmolekülspektroskopische Messungen an **WSCP**-Molekülen vorgestellt (LvWSCP mit vier Chl *a*-Molekülen). Auch hier sind nach aktuellem Kenntnisstand keine weiteren Untersuchungen dieser Art aus der Literatur bekannt. Obgleich vier Chl *a*-Moleküle innerhalb des WSCPs eingebettet sind, wurde angenommen, dass die Intensitätsfluktuationen der Fluoreszenz näherungsweise im Rahmen eines (effektiven) 3-Niveau-Systems beschrieben werden können. Unter dieser Annahme erfolgte eine Analyse der  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion. Wie bei freiem Chl *a* zuvor, reichte die Photostabilität der WSCP-Moleküle nicht aus, um die Analyse in Abhängigkeit der Anregungsleistung durchzuführen. Die  $g^{(2)}(\tau)$ -Funktion zeigte jedoch einen beobachtbaren Kontrast, wodurch über eine alternative Methode die Ermittlung einer mittleren Tripletrate  $k_{\text{T}}$  in argonreicher Atmosphäre erfolgte. Dieser Wert zeigte sich im Vergleich zu Raten aus der Literatur erhöht und zudem auch deutlich größer als der zuvor in dieser Arbeit ermittelte Wert von Chl *a*-Molekülen bei 4.5 K. Die Ursache hierfür ist bisher nicht geklärt. Bei tiefen Temperaturen war es aufgrund der erhöhten Photostabilität wiederum möglich, eine umfangreiche Bestimmung der charakteristischen photophysikalischen Größen durchzuführen. Es ergaben sich daraus vergleichbare Werte zu denen von Chl *a* zuvor, ausgenommen der ermittelten Übergangsraten in ( $k_{\text{ISC}}$ ) und aus ( $k_{\text{T}}$ ) dem Triplettzustand, die sich beide verringert zeigten. Dies ist möglicherweise einer geringeren geometrischen Verzerrung der Chlorophylle innerhalb des schützenden Proteingerüsts zuzuschreiben.

Eine weitere temperaturabhängige Messreihe (180 K - 4.5 K) in einem Glycerinfilmm, unter Verwendung einer gepulsten Anregung, lieferte Erkenntnisse über die Entwicklung der Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_f$  und der dazugehörigen spektralen Lage der Fluoreszenz  $\lambda_{\max}$ . Bei tiefen Temperaturen wurde eine Verringerung von  $\tau_f$  und eine Erhöhung von  $\lambda_{\max}$  festgestellt. Gleichzeitig reduzierte sich die beobachtbare Anzahl an Fluoreszenzpunkten auf der Probe in Bereichen mit gleichen Abmessungen (Fluoreszenzpunkte / Fläche). Dieses Verhalten wird dem H-artigen Charakter der Chl - Dimere im WSCP zugeschrieben. Bei tiefen Temperaturen lagen hierdurch mutmaßlich die meisten Moleküle unterhalb der Detektionsgrenze und es waren nur noch diejenigen, einer kleinen (Sub)Gruppe zugehörig, beobachtbar. Die Entwicklung von  $\tau_f$ ,  $\lambda_{\max}$  und der Anzahl der Fluoreszenzpunkte zeigten sich zudem reversibel, wodurch ein irreversibles Kollabieren der Proteinhülle als Ursache ausgeschlossen werden konnte.

---

# Literaturverzeichnis

- [1] G. Binnig, H. Rohrer, Ch. Gerber, and E. Weibel. Surface studies by scanning tunneling microscopy. *Physical review letters*, 49(1):57–61, 1982.
- [2] G. Binnig, C. F. Quate, and Ch. Gerber. Atomic force microscope. *Physical review letters*, 56(9):930–933, 1986.
- [3] W. Neuhauser, M. Hohenstatt, P. E. Toschek, and H. Dehmelt. Localized visible ba+ mono-ion oscillator. *Physical Review A*, 22(3):1137–1140, 1980.
- [4] F. Diedrich and H. Walther. Nonclassical radiation of a single stored ion. *Physical review letters*, 58(3):203–206, 1987.
- [5] G. Rempe, W. Walther, and N. Klein. Observation of quantum collapse and revival in a one-atom maser. *Physical review letters*, 58(4):353–356, 1987.
- [6] W. E. Moerner and L. Kador. Optical detection and spectroscopy of single molecules in a solid. *Physical review letters*, 62(21):2535–2538, 1989.
- [7] W. E. Moerner, L. Kador, and W. P. Ambrose. Ultrasensitive laser spectroscopy in solids: Single-molecule detection. *Molecular Crystals and Liquid Crystals Incorporating Nonlinear Optics*, 183(1):47–57, 1990.
- [8] L. Kador, D. E. Horne, and W. E. Moerner. Optical detection and probing of single dopant molecules of pentacene in a p-terphenyl host crystal by means of absorption spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry*, 94(4):1237–1248, 1990.
- [9] M. Orrit and J. Bernard. Single pentacene molecules detected by fluorescence excitation in a p-terphenyl crystal. *Physical review letters*, 65(21):2716–2719, 1990.
- [10] M. Orrit and J. Bernard. Single molecule spectroscopy. *Modern Physics Letters B*, 05(11):747–751, 1991.
- [11] Th. Basché, W. E. Moerner, M. Orrit, and H. Talon. Photon antibunching in the fluorescence of a single dye molecule trapped in a solid. *Physical review letters*, 69(10):1516–1519, 1992.
- [12] Th. Basché, S. Kummer, and C. Bräuchle. Direct spectroscopic observation of quantum jumps of a single molecule. *Nature*, 373(6510):132–134, 1995.
- [13] J. Bernard, L. Fleury, H. Talon, and M. Orrit. Photon bunching in the fluorescence from single molecules: A probe for intersystem crossing. *The Journal of Chemical Physics*, 98(2):850–859, 1993.

- [14] Brooks S. E., N. K. Seitzinger, L. M. Davis, R. A. Keller, and S. A. Soper. Detection of single fluorescent molecules. *Chemical Physics Letters*, 174(6):553–557, 1990.
- [15] E. Betzig and R. J. Chichester. Single molecules observed by near-field scanning optical microscopy. *Science (New York, N.Y.)*, 262(5138):1422–1425, 1993.
- [16] W. E. Moerner. Examining nanoenvironments in solids on the scale of a single, isolated impurity molecule. *Science (New York, N.Y.)*, 265(5168):46–53, 1994.
- [17] S. Nie, D. T. Chiu, and R. N. Zare. Probing individual molecules with confocal fluorescence microscopy. *Science (New York, N.Y.)*, 266(5187):1018–1021, 1994.
- [18] J. K. Trautman and J. J. Macklin. Time-resolved spectroscopy of single molecules using near-field and far-field optics. *Chemical Physics*, 205(1-2):221–229, 1996.
- [19] J. J. Macklin, J. K. Trautman, T. D. Harris, and L. E. Brus. Imaging and time-resolved spectroscopy of single molecules at an interface. *Science (New York, N.Y.)*, 272(5259):255–258, 1996.
- [20] F. Kulzer, S. Kummer, R. Matzke, C. Bräuchle, and Th. Basché. Single-molecule optical switching of terrylene in p-terphenyl. *Nature*, 387(6634):688–691, 1997.
- [21] Th. Basché, W. E. Moerner, M. Orrit, and U. P. & Wild. *Single-Molecule Optical Detection, Imaging and Spectroscopy*. Wiley-VCH, Hoboken, 1997.
- [22] W. E. Moerner and M. Orrit. Illuminating single molecules in condensed matter. *Science (New York, N.Y.)*, 283(5408):1670–1676, 1999.
- [23] Ph. Tamarat, A. Maali, B. Lounis, and M. Orrit. Ten years of single-molecule spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 104(1):1–16, 2000.
- [24] F. P. Schäfer, J. P. Toennies, W. Zinth, R. Rigler, M. Orrit, and Th. Basché. *Single Molecule Spectroscopy*, volume 67. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2001.
- [25] F. Kulzer and M. Orrit. Single-molecule optics. *Annual review of physical chemistry*, 55:585–611, 2004.
- [26] C. Eggeling, J. Widengren, R. Rigler, and C. A. Seidel. Photobleaching of fluorescent dyes under conditions used for single-molecule detection: Evidence of two-step photolysis. *Analytical chemistry*, 70(13):2651–2659, 1998.
- [27] D. S. English, A. Furube, and P. F. Barbara. Single-molecule spectroscopy in oxygen-depleted polymer films. *Chemical Physics Letters*, 324(1-3):15–19, 2000.
- [28] C. G. Hübner, A. Renn, I. Renge, and U. P. Wild. Direct observation of the triplet lifetime quenching of single dye molecules by molecular oxygen. *The Journal of Chemical Physics*, 115(21):9619–9622, 2001.
- [29] T. Christ, F. Kulzer, P. Bordat, and Th. Basché. Watching the photo-oxidation of a single aromatic hydrocarbon molecule. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(22):4192–4195, 2001.

- [30] Y. Lill and B. Hecht. Single dye molecules in an oxygen-depleted environment as photostable organic triggered single-photon sources. *Applied Physics Letters*, 84(10):1665–1667, 2004.
- [31] A. Renn, J. Seelig, and V. Sandoghdar. Oxygen-dependent photochemistry of fluorescent dyes studied at the single molecule level. *Molecular Physics*, 104(3):409–414, 2006.
- [32] K. Naito, T. Tachikawa, M. Fujitsuka, and T. Majima. Real-time single-molecule imaging of the spatial and temporal distribution of reactive oxygen species with fluorescent probes: Applications to tio 2 photocatalysts. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(4):1048–1059, 2008.
- [33] K. D. Weston, P. J. Carson, J. A. DeAro, and S. K. Buratto. Single-molecule detection fluorescence of surface-bound species in vacuum. *Chemical Physics Letters*, 308(1-2):58–64, 1999.
- [34] L. Fleury, J.-M. Segura, G. Zumofen, B. Hecht, and U. P. Wild. Nonclassical photon statistics in single-molecule fluorescence at room temperature. *Physical review letters*, 84(6):1148–1151, 2000.
- [35] E. Lang, R. Hildner, H. Engelke, P. Osswald, F. Würthner, and J. Köhler. Comparison of the photophysical parameters for three perylene bisimide derivatives by single-molecule spectroscopy. *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry*, 8(10):1487–1496, 2007.
- [36] H. Blom, A. Chmyrov, K. Hassler, L. M. Davis, and J. Widengren. Triplet-state investigations of fluorescent dyes at dielectric interfaces using total internal reflection fluorescence correlation spectroscopy. *The journal of physical chemistry. A*, 113(19):5554–5566, 2009.
- [37] C. Eggeling, J. R. Fries, L. Brand, R. Günther, and C. A. Seidel. Monitoring conformational dynamics of a single molecule by selective fluorescence spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(4):1556–1561, 1998.
- [38] S. Weiss. Measuring conformational dynamics of biomolecules by single molecule fluorescence spectroscopy. *Nature structural biology*, 7(9):724–729, 2000.
- [39] M. Margittai, J. Widengren, E. Schweinberger, G. F. Schröder, S. Felekyan, E. Haustein, M. König, D. Fasshauer, H. Grubmüller, R. Jahn, and C. A. M. Seidel. Single-molecule fluorescence resonance energy transfer reveals a dynamic equilibrium between closed and open conformations of syntaxin 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(26):15516–15521, 2003.
- [40] H. Yang, G. Luo, P. Karnchanaphanurach, T.-M. Louie, I. Rech, S. Cova, L. Xun, and X. S. Xie. Protein conformational dynamics probed by single-molecule electron transfer. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5643):262–266, 2003.

- [41] X. Michalet, S. Weiss, and M. Jäger. Single-molecule fluorescence studies of protein folding and conformational dynamics. *Chemical reviews*, 106(5):1785–1813, 2006.
- [42] P. F. Barbara, A. J. Gesquiere, S.-J. Park, and Y. J. Lee. Single-molecule spectroscopy of conjugated polymers. *Accounts of Chemical Research*, 38(7):602–610, 2005.
- [43] M. Vacha and S. Habuchi. Conformation and physics of polymer chains: A single-molecule perspective. *NPG Asia Materials*, 2(4):134–142, 2010.
- [44] Y. Honmou, S. Hirata, H. Komiyama, J. Hiyoshi, S. Kawauchi, T. Iyoda, and M. Vacha. Single-molecule electroluminescence and photoluminescence of polyfluorene unveils the photophysics behind the green emission band. *Nature communications*, 5:4666, 2014.
- [45] T. Nakamura, Sharma, D. K. Hirata, S., and M. Vacha. Intrachain aggregates as the origin of green emission in polyfluorene studied on ensemble and single-chain level. *The Journal of Physical Chemistry C*, 122(15):8137–8146, 2018.
- [46] T. Eder, T. Stangl, M. Gmelch, K. Remmerssen, D. Laux, S. Höger, J. M. Lupton, and J. Vogelsang. Switching between h- and j-type electronic coupling in single conjugated polymer aggregates. *Nature communications*, 8(1):1641, 2017.
- [47] Z. Hu, B. Shao, G. T. Geberth, and D. A. Vanden Bout. Effects of molecular architecture on morphology and photophysics in conjugated polymers: From single molecules to bulk. *Chemical science*, 9(5):1101–1111, 2018.
- [48] Y.-F. Bo, Y.-Y. Liu, H. Soleimaninejad, M.-N. Yu, L.-H. Xie, T. A. Smith, K. P. Ghiggino, and W. Huang. Photophysical identification of three kinds of low-energy green band defects in wide-bandgap polyfluorenes. *The journal of physical chemistry. A*, 123(13):2789–2795, 2019.
- [49] J. Jacob, S. Sax, T. Piok, E. J. W. List, A. C. Grimsdale, and K. Müllen. Ladder-type pentaphenylenes and their polymers: Efficient blue-light emitters and electron-accepting materials via a common intermediate. *Journal of the American Chemical Society*, 126(22):6987–6995, 2004.
- [50] M. Gaal, E. J. W. List, and U. Scherf. Excimers or emissive on-chain defects? *Macromolecules*, 36(11):4236–4237, 2003.
- [51] F. B. Dias, M. Knaapila, A. P. Monkman, and H. D. Burrows. Fast and slow time regimes of fluorescence quenching in conjugated polyfluorene–fluorenone random copolymers: The role of exciton hopping and dexter transfer along the polymer backbone. *Macromolecules*, 39(4):1598–1606, 2006.
- [52] P. E. Keivanidis, J. Jacob, L. Oldridge, P. Sonar, B. Carbonnier, S. Balushev, A. C. Grimsdale, K. Müllen, and G. Wegner. Photophysical characterization of light-emitting poly(indenofluorene)s. *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry*, 6(8):1650–1660, 2005.



- [53] D. Neher. Polyfluorene homopolymers: Conjugated liquid-crystalline polymers for bright blue emission and polarized electroluminescence. *Macromolecular rapid communications*, 22(17):1365–1385, 2001.
- [54] F. Laquai, A. K. Mishra, M. R. Ribas, A. Petrozza, J. Jacob, L. Akcelrud, K. Müllen, R. H. Friend, and G. Wegner. Photophysical properties of a series of poly(ladder-type phenylene)s. *Advanced Functional Materials*, 17(16):3231–3240, 2007.
- [55] H. Saigusa and E. C. Lim. Excimer formation in van der waals dimers and clusters of aromatic molecules. *Accounts of Chemical Research*, 29(4):171–178, 1996.
- [56] K. Becker, J. M. Lupton, J. Feldmann, B. S. Nehls, F. Galbrecht, D. Q. Gao, and U. Scherf. On-chain fluorenone defect emission from single polyfluorene molecules in the absence of intermolecular interactions. *Advanced Functional Materials*, 16(3):364–370, 2006.
- [57] E. J. W. List, R. Guentner, P. Scanducci de Freitas, and U. Scherf. The effect of keto defect sites on the emission properties of polyfluorene-type materials. *Advanced Materials*, 14(5):374, 2002.
- [58] Q. Pei and Yang. Efficient photoluminescence and electroluminescence from a soluble polyfluorene. *Journal of the American Chemical Society*, 118(31):7416–7417, 1996.
- [59] S. A. Jenekhe and J. A. Osaheni. Excimers and exciplexes of conjugated polymers. *Science (New York, N.Y.)*, 265(5173):765–768, 1994.
- [60] G. M. Paternò, Q. Chen, X.-Y. Wang, J. Liu, S. G. Motti, A. Petrozza, X. Feng, G. Lanzani, K. Müllen, A. Narita, and F. Scotognella. Synthesis of dibenzohi,stoalene and its amplified spontaneous emission in a polystyrene matrix. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 56(24):6753–6757, 2017.
- [61] Q. Chen, Di Wang, M. Baumgarten, D. Schollmeyer, K. Müllen, and A. Narita. Regioselective bromination and functionalization of dibenzohi,stoalene as highly luminescent nanographene with zigzag edges. *Chemistry, an Asian journal*, 2019.
- [62] G. M. Paternò, L. Nicoli, Q. Chen, K. Müllen, A. Narita, G. Lanzani, and F. Scotognella. Modulation of the nonlinear optical properties of dibenzo[hi, st]ovalene by peripheral substituents. *The Journal of Physical Chemistry C*, 122(43):25007–25013, 2018.
- [63] Q. Chen, S. Thoms, S. Stöttinger, D. Schollmeyer, K. Müllen, A. Narita, and Th. Basché. Dibenzohi,stoalene as highly luminescent nanographene: Efficient synthesis via photochemical cyclodehydroiodination, optoelectronic properties, and single-molecule spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 2019.
- [64] M. A. Bopp, Y. Jia, L. Li, R. J. Cogdell, and R. M. Hochstrasser. Fluorescence and photobleaching dynamics of single light-harvesting complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(20):10630–10635, 1997.
- [65] A. M. van Oijen, M. Ketelaars, J. Köhler, T. J. Aartsma, and J. Schmidt. Spectroscopy of single light-harvesting complexes from purple photosynthetic bacteria at 1.2 k. *The journal of physical chemistry. B*, 102(47):9363–9366, 1998.

- [66] C. Tietz, F. Jelezko, U. Gerken, S. Schuler, A. Schubert, H. Rogl, and J. Wrachtrup. Single molecule spectroscopy on the light-harvesting complex ii of higher plants. *Bio-physical Journal*, 81(1):556–562, 2001.
- [67] S. Wörnke, S. Mackowski, T. H. P. Brotosudarmo, C. Jung, A. Zumbusch, M. Ehrl, H. Scheer, E. Hofmann, R. G. Hiller, and C. Bräuchle. Monitoring fluorescence of individual chromophores in peridinin-chlorophyll-protein complex using single molecule spectroscopy. *Biochimica et biophysica acta*, 1767(7):956–964, 2007.
- [68] A. F. Elli, F. Jelezko, C. Tietz, H. Studier, M. Brecht, R. Bittl, and J. Wrachtrup. Red pool chlorophylls of photosystem i of the cyanobacterium *thermosynechococcus elongatus*: A single-molecule study. *Biochemistry*, 45(5):1454–1458, 2006.
- [69] D. M. Palm, A. Agostini, S. Tenzer, B. M. Gloeckle, M. Werwie, D. Carbonera, and H. Paulsen. Water-soluble chlorophyll protein (wscp) stably binds two or four chlorophylls. *Biochemistry*, 56(12):1726–1736, 2017.
- [70] I. Bektas, C. Fellenberg, and H. Paulsen. Water-soluble chlorophyll protein (wscp) of arabidopsis is expressed in the gynoecium and developing silique. *Planta*, 236(1):251–259, 2012.
- [71] Y. Kamimura, T. Mori, T. Yamasaki, and S. Katoh. Isolation, properties and a possible function of a water-soluble chlorophyll a/b-protein from brussels sprouts. *Plant & cell physiology*, 38(2):133–138, 1997.
- [72] K. Schmidt, C. Fufezan, A. Krieger-Liszkay, H. Satoh, and H. Paulsen. Recombinant water-soluble chlorophyll protein from brassica oleracea var. botrys binds various chlorophyll derivatives. *Biochemistry*, 42(24):7427–7433, 2003.
- [73] J. R. Lakowicz. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, New York, NY, third edition, corrected at 4. printing edition, 2010.
- [74] P. W. Atkins and R. Friedman. *Molecular quantum mechanics*. Oxford Univ. Press, Oxford, 4. ed., reprint. (with corr.) edition, 2008.
- [75] W. Demtröder. *Experimentalphysik 3*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010.
- [76] D. Wöhrle, M. W. Tausch, and W.-D. Stohrer. *Photochemie: Konzepte, Methoden, Experimente*. Wiley-VCH, Weinheim, [im kolophon: milton keynes: lightning source, 2010] edition, 2010.
- [77] C. Czeslik, H. Seemann, and R. Winter. *Basiswissen Physikalische Chemie*. Vieweg+Teubner Verlag / GWV Fachverlage GmbH Wiesbaden, Wiesbaden, 4., aktualisierte auflage edition, 2010.
- [78] M. Maier. Persistent spectral holes in external fields. *Applied Physics B Photophysics and Laser Chemistry*, 41(2):73–90, 1986.
- [79] E. Fermi. High energy nuclear events. *Progress of Theoretical Physics*, 5(4):570–583, 1950.

- [80] L. Novotny and B. Hecht. *Principles of nano-optics*. Cambridge University Press, Cambridge, 2006.
- [81] N. Blachnik, H. Söngen, and J. Voss. Skript zum fortgeschrittenenpraktikum zum thema 'absorptions- und fluoreszenzspektroskopie im uv/vis-bereich'. *Johannes Gutenberg - Universität Mainz*, 2015.
- [82] A. Köhler and H. Bässler. *Electronic processes in organic semiconductors: An introduction*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, 2015.
- [83] T. Förster. Zwischenmolekulare energiewanderung und fluoreszenz. *Annalen der Physik*, 437(1-2):55–75, 2006.
- [84] D. L. Dexter. A theory of sensitized luminescence in solids. *The Journal of Chemical Physics*, 21(5):836–850, 1953.
- [85] A. Bondi. van der waals volumes and radii. *The Journal of Physical Chemistry*, 68(3):441–451, 1964.
- [86] M. Kasha. Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for molecular aggregates. *Radiation Research*, 20(1):55, 1963.
- [87] G. B. Behera, P. K. Behera, and Bijaya K. Mishra. Cyanine dyes: Self aggregation and behaviour in surfactants. *J. Surface Sci. Technol.*, 23(1-2):1–31, 2007.
- [88] M. Pope and C. E. Swenberg. *Electronic processes in organic crystals*, volume 39 of *Monographs on the physics and chemistry of materials*. Clarendon Press, Oxford, 1982.
- [89] E. E. Jelley. Molecular, nematic and crystal states of i: I-diethyl–cyanine chloride. *Nature*, 139(3519):631, 1937.
- [90] G. Scheibe. Über die veränderlichkeit der absorptionsspektren in lösungen und die nebenvalezenzen als ihre ursache. *Angewandte Chemie*, 50(11):212–219, 1937.
- [91] Kasha, M., Rawls, H. R., El-Bayoumi M. A. The exciton model in molecular spectroscopy. *Pure and Applied Chemistry* 11, ((3-4)):371–392, 1965.
- [92] F. C. Spano and C. Silva. H- and j-aggregate behavior in polymeric semiconductors. *Annual review of physical chemistry*, 65:477–500, 2014.
- [93] W. E. Moerner and Th. Basché. Optical spectroscopy of single impurity molecules in solids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 32(4):457–476, 1993.
- [94] F. Koberling. *Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an einzelnen Halbleiter - Nanokristallen*. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2001.
- [95] T. R. Corle and G. S. Kino. *Confocal scanning optical microscopy and related imaging systems*. Acad. Press, San Diego, 1996.
- [96] E. Hecht. *Optics*. Pearson, 5 ed, global edition edition, 2017.
- [97] J. B. Pawley, editor. *Handbook of biological confocal microscopy*. Springer, New York, NY, 3. ed. edition, 2006.

- [98] J. Engelhardt and W. Knebel. Konfokale Laserscanning-Mikroskopie. 24(2):70–78, 1993.
- [99] F. A. Feist. *Untersuchungen zur Photophysik einzelner konjugierter Polymerketten bei tiefen Temperaturen*. Dissertation, Johannes Gutenberg–Universität, Mainz, 2010.
- [100] A.-K. C. Boos. *Emissions- und Anregungsspektroskopie einzelner Halbleiternanokristalle bei kryogenen Temperaturen*. Dissertation, Universitätsbibliothek Mainz, Mainz, 2015.
- [101] R. Hanbury Brown and R. Q. Twiss. A test of a new type of stellar interferometer on sirius. *Nature*, 178(4541):1046–1048, 1956.
- [102] N. R. Verhart, P. Navarro, S. Faez, and M. Orrit. Intersystem crossing rates of single perylene molecules in ortho-dichlorobenzene. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 18(26):17655–17659, 2016.
- [103] F. Kulzer. *Untersuchungen zum nichtphotochemischen Lochbrennen auf Einzelmolekülebene am Modellsystem Terrylen in p-terphenyl*. Dissertation, Johannes Gutenberg–Universität, Mainz, 2000.
- [104] W. Demtröder. *Laserspektroskopie 2: Experimentelle Techniken*. Springer, Berlin and Heidelberg, 6. neu bearb. und aktualisierte aufl. edition, 2013.
- [105] Transmissionsdaten des Plan-Apochromat von Zeiss (NA = 1.4) lagen aus den Unterlagen des Arbeitskreises vor.
- [106] *Ebook Package Physics, Chemistry, Materials Sc, Geosc 2018 : Ebook Package Complete 2018*. De Gruyter Studium. De Gruyter, Berlin and Boston.
- [107] G. A. Crosby and J. N. Demas. Measurement of photoluminescence quantum yields. review. *The Journal of Physical Chemistry*, 75(8):991–1024, 1971.
- [108] M. Wahl. Time-correlated single photon counting: Technical note, 2014.
- [109] W. Becker, editor. *Advanced time-correlated single photon counting applications*, volume volume 111 of *Springer series in chemical physics*. Springer, Cham, 2015.
- [110] C. P. Toseland and N. Fili. *Fluorescent Methods for Molecular Motors*, volume 105. Springer Basel, Basel, 2014.
- [111] N. Bobroff. Position measurement with a resolution and noise–limited instrument. *Review of Scientific Instruments*, 57(6):1152–1157, 1986.
- [112] G. Hinze and Th. Basché. Statistical analysis of time resolved single molecule fluorescence data without time binning. *The Journal of Chemical Physics*, 132(4):044509, 2010.
- [113] B. Spokoyny. Matlab-routine: Photon arrival time correlation: calculates log-spaced cross and auto correlation functions for photon arrival times: version 1.0.0.0, 2017.
- [114] T. A. Laurence, S. Fore, and T. Huser. Fast, flexible algorithm for calculating photon correlations. *Optics Letters*, 31(6):829, 2006.

- [115] S. Kummer, Th. Basché, and C. Bräuchle. Terrylene in p-terphenyl: A novel single crystalline system for single molecule spectroscopy at low temperatures. *Chemical Physics Letters*, 229(3):309–316, 1994.
- [116] M. Banasiewicz, O. Morawski, D. Wiącek, and B. Kozankiewicz. Triplet population and depopulation rates of single terrylene molecules in p-terphenyl crystal. *Chemical Physics Letters*, 414(4-6):374–377, 2005.
- [117] S. Zhao, J. Lavie, L. Rondin, L. Orcin-Chaix, C. Diederichs, P. Roussignol, Y. Chassagneux, C. Voisin, K. Müllen, A. Narita, S. Campidelli, and J.-S. Lauret. Single photon emission from graphene quantum dots at room temperature. *Nature communications*, 9(1):3470, 2018.
- [118] A.-M. Boiron, B. Lounis, and M. Orrit. Single molecules of dibenzanthanthrene in n-hexadecane. *The Journal of Chemical Physics*, 105(10):3969–3974, 1996.
- [119] P. R. Bunker. *Molecular symmetry and spectroscopy*. Academic Press, New York, [nachdruck] edition, 1991.
- [120] B. R. Henry and W. Siebrand. Spin-orbit coupling in aromatic hydrocarbons. analysis of nonradiative transitions between singlet and triplet states in benzene and naphthalene. *The Journal of Chemical Physics*, 54(3):1072–1085, 1971.
- [121] V. Lawetz, G. Orlandi, and W. Siebrand. Theory of intersystem crossing in aromatic hydrocarbons. *The Journal of Chemical Physics*, 56(8):4058–4072, 1972.
- [122] C. Bräuchle. Symmetry distortions and pseudo-jahn-teller effect of peri- and cata-hexabenzocoronene in their triplet states as observed by odmr techniques. *Chemical Physics*, 67(1):97–109, 1982.
- [123] M. F. Zickler, F. A. Feist, J. Jacob, K. Müllen, and Th. Basché. Single molecule studies of a ladder type conjugated polymer: Vibronic spectra, line widths, and energy transfer. *Macromolecular rapid communications*, 36(11):1096–1102, 2015.
- [124] M. Haase. *Einzelmolekülspektroskopie an einer homologen Reihe von Rylendiimiden und an einem bichromophoren Modellsystem für elektronischen Energietransfer*. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2010.
- [125] P. J. Booth and H. Paulsen. Assembly of light-harvesting chlorophyll a/b complex in vitro. time-resolved fluorescence measurements. *Biochemistry*, 35(16):5103–5108, 1996.
- [126] J. W. Kadereit, C. Körner, B. Kost, and U. Sonnewald. *Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2014.
- [127] M. Fujiwara and M. Tasumi. Resonance raman and infrared studies on axial coordination to chlorophylls a and b in vitro. *The Journal of Physical Chemistry*, 90(2):250–255, 1986.
- [128] D. M. Niedzwiedzki and R. E. Blankenship. Singlet and triplet excited state properties of natural chlorophylls and bacteriochlorophylls. *Photosynthesis research*, 106(3):227–238, 2010.

- [129] M. Fragata, B. Nordén, and T. Kurucsev. Linear dichroism(250–700 nm) of chlorophyll a and pheophytin a oriented in a lamellar phase of glycerylmonooctanoate/h 2 o. characterization of electronic transitions. *Photochemistry and Photobiology*, 47(1):133–143, 1988.
- [130] D. Bauman and D. Wrobel. Dichroism and polarized fluorescence of chlorophyll a, chlorophyll c and bacteriochlorophyll a dissolved in liquid crystals. *Biophysical Chemistry*, 12(1):83–91, 1980.
- [131] H. Satoh, A. Uchida, K. Nakayama, and M. Okada. Water-soluble chlorophyll protein in brassicaceae plants is a stress-induced chlorophyll-binding protein. *Plant & cell physiology*, 42(9):906–911, 2001.
- [132] S. Takahashi, H. Yanai, Y. Oka-Takayama, A. Zanma-Sohtome, K. Fujiyama, A. Uchida, K. Nakayama, and H. Satoh. Molecular cloning, characterization and analysis of the intracellular localization of a water-soluble chlorophyll-binding protein (wscp) from virginia pepperweed (*lepidium virginicum*), a unique wscp that preferentially binds chlorophyll b in vitro. *Planta*, 238(6):1065–1080, 2013.
- [133] S. Damaraju, S. Schlede, U. Eckhardt, H. Lokstein, and B. Grimm. Functions of the water soluble chlorophyll-binding protein in plants. *Journal of plant physiology*, 168(12):1444–1451, 2011.
- [134] G. Renger, J. Pieper, C. Theiss, I. Trostmann, H. Paulsen, T. Renger, H. J. Eichler, and F-J Schmitt. Water soluble chlorophyll binding protein of higher plants: A most suitable model system for basic analyses of pigment-pigment and pigment-protein interactions in chlorophyll protein complexes. *Journal of plant physiology*, 168(12):1462–1472, 2011.
- [135] D. Horigome, H. Satoh, N. Itoh, K. Mitsunaga, I. Oonishi, A. Nakagawa, and A. Uchida. Structural mechanism and photoprotective function of water-soluble chlorophyll-binding protein. *The Journal of biological chemistry*, 282(9):6525–6531, 2007.
- [136] J. L. Hughes, R. Razeghifard, M. Logue, A. Oakley, T. Wydrzynski, and E. Krausz. Magneto-optic spectroscopy of a protein tetramer binding two exciton-coupled chlorophylls. *Journal of the American Chemical Society*, 128(11):3649–3658, 2006.
- [137] D. Bednarczyk, S. Takahashi, H. Satoh, and D. Noy. Assembly of water-soluble chlorophyll-binding proteins with native hydrophobic chlorophylls in water-in-oil emulsions. *Biochimica et biophysica acta*, 1847(3):307–313, 2015.
- [138] A. Agostini, D. M. Palm, F.-J. Schmitt, M. Albertini, M. Di Valentin, H. Paulsen, and D. Carbonera. An unusual role for the phytyl chains in the photoprotection of the chlorophylls bound to water-soluble chlorophyll-binding proteins. *Scientific reports*, 7(1):7504, 2017.
- [139] A. Agostini, D. M. Palm, H. Paulsen, and D. Carbonera. Optically detected magnetic resonance of chlorophyll triplet states in water-soluble chlorophyll proteins from *lepidium virginicum*: Evidence for excitonic interaction among the four pigments. *The journal of physical chemistry. B*, 122(23):6156–6163, 2018.

- [140] G. Zeng, W.-L. Yu, S.-J. Chua, and W. Huang. Spectral and thermal spectral stability study for fluorene-based conjugated polymers. *Macromolecules*, 35(18):6907–6914, 2002.
- [141] M. F. Zickler. *Einzelmolekülspektroskopische Untersuchungen von konjugierten Polymerketten und von einer multichromophoren Modellverbindung bei tiefen Temperaturen*. Dissertation, Johannes Gutenberg–Universität, Mainz, 2015.
- [142] J. Gierschner, J. Cornil, and H.-J. Egelhaaf. Optical bandgaps of  $\pi$ -conjugated organic materials at the polymer limit: Experiment and theory. *Advanced Materials*, 19(2):173–191, 2007.
- [143] A. Monkman, C. Rothe, S. King, and F. Dias. Polyfluorene photophysics. In U. Scherf and D. Neher, editors, *Polyfluorenes*, pages 187–225. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008.
- [144] A. C. Grimsdale and K. Müllen. Polyfluorene photophysics. In U. Scherf and D. Neher, editors, *Polyfluorenes*, pages 1–48. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008.
- [145] U. Scherf. Ladder-type materials. *Journal of Materials Chemistry*, 9(9):1853–1864, 1999.
- [146] F. A. Feist, G. Tommaseo, and Th. Basché. Observation of very narrow linewidths in the fluorescence excitation spectra of single conjugated polymer chains at 1.2 k. *Physical review letters*, 98(20):208301, 2007.
- [147] M. Haase, C. G. Hübner, F. Nolde, K. Müllen, and Th. Basché. Photoblinking and photobleaching of rylene diimide dyes. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 13(5):1776–1785, 2011.
- [148] M. Grell, D.D.C. Bradley, X. Long, T. Chamberlain, M. Inbasekaran, E. P. Woo, and M. Soliman. Chain geometry, solution aggregation and enhanced dichroism in the liquidcrystalline conjugated polymer poly(9,9-dioctylfluorene). *Acta Polymerica*, 49(8):439–444, 1998.
- [149] Z. Chen, Y.-M. Lin, M. J. Rooks, and P. Avouris. Graphene nano-ribbon electronics. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 40(2):228–232, 2007.
- [150] K. A. Ritter and J. W. Lyding. The influence of edge structure on the electronic properties of graphene quantum dots and nanoribbons. *Nature materials*, 8(3):235–242, 2009.
- [151] A. Narita, X.-Y. Wang, X. Feng, and K. Müllen. New advances in nanographene chemistry. *Chemical Society reviews*, 44(18):6616–6643, 2015.
- [152] Y.-Z. Tan, B. Yang, K. Parvez, A. Narita, S. Osella, D. Beljonne, X. Feng, and K. Müllen. Atomically precise edge chlorination of nanographenes and its application in graphene nanoribbons. *Nature communications*, 4:2646, 2013.

- [153] D. M. Coles, Q. Chen, L. C. Flatten, J. M. Smith, K. Müllen, A. Narita, and D. G. Lidzey. Strong exciton-photon coupling in a nanographene filled microcavity. *Nano letters*, 17(9):5521–5525, 2017.
- [154] D'yachenko, G. G., V. A., Arabei, S. M., & Pavich, T. A. Analysis of the electronic vibrational spectra of bisanthene by calculating normal modes. *Journal of Applied Spectroscopy*, 70(2):208–215, 2003.
- [155] F. Metz, S. Friedrich, and G. Hohlneicher. What is the leading mechanism for the non-radiative decay of the lowest triplet state of aromatic hydrocarbons? *Chemical Physics Letters*, 16(2):353–358, 1972.
- [156] L. Pauling and E. B. Wilson. *Introduction to Quantum Mechanics with Applications to Chemistry*. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York and London, 1. edition, 1935.
- [157] Y. Wu, Y. Zhen, Y. Ma, R. Zheng, Z. Wang, and H. Fu. Exceptional intersystem crossing in di(perylene bisimide)s: A structural platform toward photosensitizers for singlet oxygen generation. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(17):2499–2502, 2010.
- [158] J. Dong-Mei, H. Zheng-Xi, and X. An-Dong. Detection of fluorescence from single chlorophylla molecules absorbed on glass surface. *Chinese Physics Letters*, 22(2):317–320, 2005.
- [159] L. Fiedor, M. Stasiak, B. Myśliwa-Kurdziel, and K. Strzałka. Phytol as one of the determinants of chlorophyll interactions in solution. *Photosynthesis research*, 78(1):47–57, 2003.
- [160] J. S. Connolly, A. F. Janzen, and E. B. Samuel. Fluorescence lifetimes of chlorophyll a: Solvent, concentration and oxygen dependence. *Photochemistry and Photobiology*, 36(5):559–563, 1982.
- [161] S. Krawczyk. The effects of hydrogen bonding and coordination interaction in visible absorption and vibrational spectra of chlorophyll a. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 976(2-3):140–149, 1989.
- [162] R. Livingston, W. F. Watson, and J. McArdle. Activation of the fluorescence of chlorophyll solutions. *Journal of the American Chemical Society*, 71(5):1542–1550, 1949.
- [163] J. Fernandez and R. S. Becker. Unique luminescences of dry chlorophylls. *The Journal of Chemical Physics*, 31(2):467–472, 1959.
- [164] S. B. Broyde and S. S. Brody. Emission spectra of chlorophyll– a in polar and nonpolar solvents. *The Journal of Chemical Physics*, 46(9):3334–3340, 1967.
- [165] G. R. Seely and R. G. Jensen. Effect of solvent on the spectrum of chlorophyll. *Spectrochimica Acta*, 21(10):1835–1845, 1965.
- [166] S. S. Brody and E. Rabinowitch. Excitation lifetime of photosynthetic pigments in vitro and in vivo. *Science (New York, N.Y.)*, 125(3247):555, 1957.



- [167] H. L. Kee, C. Kirmaier, Q. Tang, J. R. Diers, C. Muthiah, M. Taniguchi, J. K. Laha, M. Ptaszek, J. S. Lindsey, D. F. Bocian, and D. Holten. Effects of substituents on synthetic analogs of chlorophylls. part 1: Synthesis, vibrational properties and excited-state decay characteristics. *Photochemistry and Photobiology*, 83(5):1110–1124, 2007.
- [168] S. Kedenburg, M. Vieweg, T. Gissibl, and H. Giessen. Linear refractive index and absorption measurements of nonlinear optical liquids in the visible and near-infrared spectral region. *Optical Materials Express*, 2(11):1588, 2012.
- [169] H. El-Kashef. The necessary requirements imposed on polar dielectric laser dye solvents. *Physica B: Condensed Matter*, 279(4):295–301, 2000.
- [170] P. Latimer, T. T. Bannister, and E. Rabinowitch. Quantum yields of fluorescence of plant pigments. *Science (New York, N.Y.)*, 124(3222):585–586, 1956.
- [171] P. G. Bowers and G. Porter. Quantum yields of triplet formation in solutions of chlorophyll. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 296(1447):435–441, 1967.
- [172] L. S. Forster and R. Livingston. The absolute quantum yields of the fluorescence of chlorophyll solutions. *The Journal of Chemical Physics*, 20(8):1315–1320, 1952.
- [173] G. Weber and F. W. J. Teale. Determination of the absolute quantum yield of fluorescent solutions. *Transactions of the Faraday Society*, 53:646, 1957.
- [174] K. Kawaoka, A. U. Khan, and D. R. Kearns. Role of singlet excited states of molecular oxygen in the quenching of organic triplet states. *The Journal of Chemical Physics*, 46(5):1842–1853, 1967.
- [175] S. Kaligotla, S. Doyle, D. M. Niedzwiedzki, S. Hasegawa, T. Kajikawa, S. Katsumura, and H. A. Frank. Triplet state spectra and dynamics of peridinin analogs having different extents of pi-electron conjugation. *Photosynthesis research*, 103(3):167–174, 2010.
- [176] C. A. Parker and Thelma A. Joyce. Delayed fluorescence and some properties of the chlorophyll triplets. *Photochemistry and Photobiology*, 6(6):395–406, 1967.
- [177] A. Drzewiecka-Matuszek, A. Skalna, A. Karocki, G. Stochel, and L. Fiedor. Effects of heavy central metal on the ground and excited states of chlorophyll. *Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*, 10(5):453–462, 2005.
- [178] M. K. Bowman. Intersystem crossing in photosynthetic pigments. *Chemical Physics Letters*, 48(1):17–21, 1977.
- [179] A. A. Krasnovsky and Y. V. Kovalev. Spectral and kinetic parameters of phosphorescence of triplet chlorophyll a in the photosynthetic apparatus of plants. *Biochemistry. Biokhimiia*, 79(4):349–361, 2014.
- [180] S. S. Dvornikov, V. N. Knyukshto, K. N. Solovyov, and M. P. Tsvirko. Phosphorescence of a and b chlorophylls and their pheophytines. *Optika I Spektroskopiya*, 1979(46):689–695.

- [181] H. Kautsky, W. Appel, and H. Amann. Chlorophyll fluorescence and carbon assimilation. part xiii. the fluorescence and the photochemistry of plants. *Biochemische Zeitschrift*, 332:277–292, 1960.
- [182] K. Maxwell and G. N. Johnson. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345):659–668, 2000.
- [183] L. Hendrickson, R. T. Furbank, and W. S. Chow. A simple alternative approach to assessing the fate of absorbed light energy using chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis research*, 82(1):73–81, 2004.
- [184] U. Schreiber, U. Schliwa, and W. Bilger. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis research*, 10(1-2):51–62, 1986.
- [185] P. Muller. Non-photochemical quenching. a response to excess light energy. *Plant Physiology*, 125(4):1558–1566, 2001.
- [186] E. Weis and J. A. Berry. Quantum efficiency of photosystem ii in relation to ‘energy’-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 894(2):198–208, 1987.
- [187] O. van Kooten and J. F. Snel. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis research*, 25(3):147–150, 1990.
- [188] T. Renger, M. E. Madjet, F. Müh, I. Trostmann, F-J Schmitt, C. Theiss, H. Paulsen, H. J. Eichler, A. Knorr, and G. Renger. Thermally activated superradiance and intersystem crossing in the water-soluble chlorophyll binding protein. *The journal of physical chemistry. B*, 113(29):9948–9957, 2009.
- [189] A. K. Chibisov, T. D. Slavnova, and H. Görner. Effect of macromolecules and triton x-100 on the triplet of aggregated chlorophyll in aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 72(1-3):11–16, 2003.
- [190] J. S. Connolly, E. B. Samuel, and A. F. Janzen. Effects of solvent on the fluorescence properties of bacteriochlorophyll a. *Photochemistry and Photobiology*, 36(5):565–574, 1982.
- [191] K. Mairing, I. Renge, P. Sarv, and R. Avarmaa. Fluorescence-detected triplet kinetics study of the specifically solvated chlorophyll a and protochlorophyll in frozen solutions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 43(4):507–514, 1987.
- [192] R. Englman and J. Jortner. The energy gap law for radiationless transitions in large molecules. *Molecular Physics*, 18(2):145–164, 1970.
- [193] T. S. Balaban, P. Fromme, A. R. Holzwarth, N. Krauß, and V. I. Prokhorenko. Relevance of the diastereotopic ligation of magnesium atoms of chlorophylls in photosystem i. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1556(2-3):197–207, 2002.

- [194] T. S. Balaban. Relevance of the diastereotopic ligation of magnesium atoms of chlorophylls in the major light-harvesting complex ii (lhc ii) of green plants. *Photosynthesis research*, 86(1-2):251–262, 2005.
- [195] R. H. Clarke, S. Hotchandani, S. P. Jagannathan, and R. M. Leblanc. Ligand effects on the triplet state of chlorophyll. *Chemical Physics Letters*, 89(1):37–40, 1982.
- [196] M. Rätsep, J. Linnanto, and A. Freiberg. Mirror symmetry and vibrational structure in optical spectra of chlorophyll a. *The Journal of Chemical Physics*, 130(19):194501, 2009.
- [197] A. W. H. Mau and M. Puza. Phosphorescence of chlorophylls. *Photochemistry and Photobiology*, 25(6):601–603, 1977.
- [198] K. Ballschmiter, K. Truesdell, and J. J. Katz. Aggregation of chlorophyll in nonpolar solvents from molecular weight measurements. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 184(3):604–613, 1969.
- [199] S. G. Johnson, G. J. Small, D. G. Johnson, W. A. Svec, and M. R. Wasielewski. Temperature and solvent-polarity dependence of the absorption and fluorescence spectra of a fixed-distance symmetric chlorophyll dimer. *The Journal of Physical Chemistry*, 93(14):5437–5444, 1989.
- [200] T. Oba, T. Watanabe, M. Mimuro, M. Kobayashi, and S. Yoshida. Aggregation of chlorophyll a' in aqueous methanol. *Photochemistry and Photobiology*, 63(5):639–648, 1996.
- [201] F. K. Fong, M. S. Showell, and A. J. Alfano. Exciton delocalization of the excited singlet state of chlorophyll a monohydrate dimer and fluorescence lifetimes of translationally equivalent aggregates. *Journal of the American Chemical Society*, 107(24):7231–7233, 1985.
- [202] C. S. French, J. H. C. Smith, H. I. Virgin, and R. L. Airth. Fluorescence-spectrum curves of chlorophylls, pheophytins, phycoerythrins, phycocyanins and hypericin. *Plant Physiology*, 31(5):369–374, 1956.
- [203] L. Fiedor, A. Kania, B. Myśliwa-Kurdziel, Ł. Orzeł, and G. Stochel. Understanding chlorophylls: Central magnesium ion and phytol as structural determinants. *Biochimica et biophysica acta*, 1777(12):1491–1500, 2008.
- [204] I. Renge and R. Avarmaa. Specific solvation of chlorophyll a: Solvent nucleophilicity, hydrogen bonding and steric effects on absorption spectra. *Photochemistry and Photobiology*, 42(3):253–260, 1985.
- [205] D. Dolphin. *The Porphyrins V5: Physical Chemistry, Part C*. Elsevier Science, Oxford, 1978.
- [206] T. A. Evans and J. J. Katz. Evidence for 5- and 6-coordinated magnesium in bacteriochlorophyll a from visible absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 396(3):414–426, 1975.

- [207] G. M. Maggiora and L. L. Ingraham. Chlorophyll triplet states. In C. K. Jørgensen, J. B. Neilands, Ronald S. Nyholm, D. Reinen, and R. J. P. Williams, editors, *Structure and Bonding*, volume 2 of *Structure and Bonding*, pages 126–159. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1967.
- [208] M. O. Senge, S. A. MacGowan, and J. M. O’Brien. Conformational control of cofactors in nature - the influence of protein-induced macrocycle distortion on the biological function of tetrapyrroles. *Chemical communications (Cambridge, England)*, 51(96):17031–17063, 2015.
- [209] M. Kreiter, M. Prummer, B. Hecht, and U. P. Wild. Orientation dependence of fluorescence lifetimes near an interface. *The Journal of Chemical Physics*, 117(20):9430–9433, 2002.
- [210] J. Alster, H. Lokstein, J. Dostál, A. Uchida, and D. Zigmantas. 2d spectroscopy study of water-soluble chlorophyll-binding protein from lepidium virginicum. *The journal of physical chemistry. B*, 118(13):3524–3531, 2014.
- [211] F.-J. Schmitt, I. Trostmann, C. Theiss, J. Pieper, T. Renger, J. Fuesers, E. H. Hubrich, H. Paulsen, H. J. Eichler, and G. Renger. Excited state dynamics in recombinant water-soluble chlorophyll proteins (wscp) from cauliflower investigated by transient fluorescence spectroscopy. *The journal of physical chemistry. B*, 112(44):13951–13961, 2008.
- [212] W.-T. Yip, D.. Hu, J. Yu, D. A. Vanden Bout, and P. F. Barbara. Classifying the photo-physical dynamics of single- and multiple-chromophoric molecules by single molecule spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 102(39):7564–7575, 1998.
- [213] T. Renger, I. Trostmann, C. Theiss, M. E. Madjet, M. Richter, H. Paulsen, H. J. Eichler, A. Knorr, and G. Renger. Refinement of a structural model of a pigment-protein complex by accurate optical line shape theory and experiments. *The journal of physical chemistry. B*, 111(35):10487–10501, 2007.
- [214] C. Theiss, I. Trostmann, S. Andree, F. J. Schmitt, T. Renger, H. J. Eichler, H. Paulsen, and G. Renger. Pigment-pigment and pigment-protein interactions in recombinant water-soluble chlorophyll proteins (wscp) from cauliflower. *The journal of physical chemistry. B*, 111(46):13325–13335, 2007.

# A Anhang

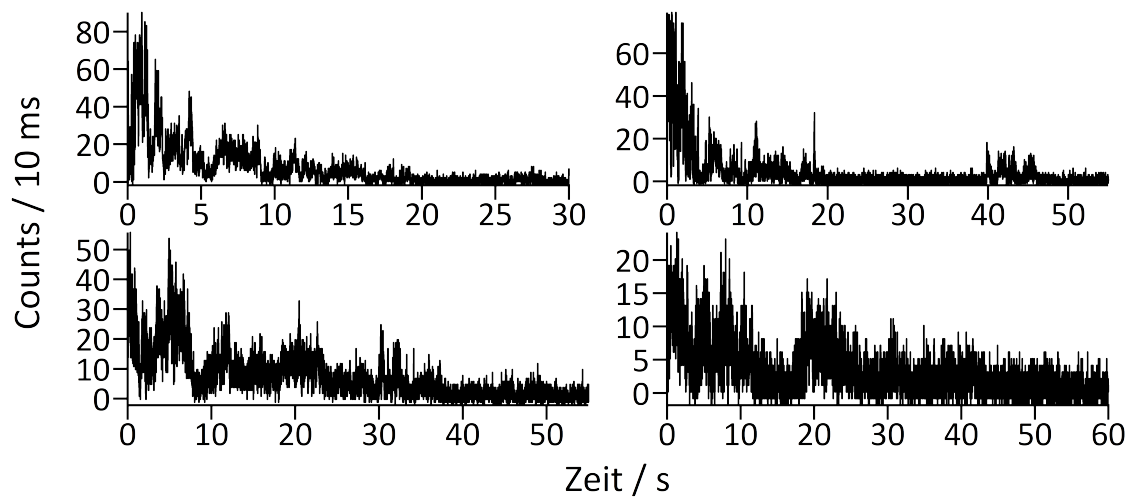
**Tabelle A.1:** Variablen und deren Bedeutung von den in dieser Arbeit verwendeten Übergangsraten von photo-physikalischen Prozessen. Siehe auch Abbildung 2.2

Variable	Bedeutung
$k_{12}$	Anregungsrate: Übergang von $S_0$ nach $S_1$
$k_r$	Strahlende Rate: Strahlender Übergang von $S_1$ nach $S_0$
$k_{SR}$	Rate der Schwingungsrelaxation: Strahlungslose Relaxation innerhalb eines elektronischen Niveaus
$k_{IC}$	Rate zur inneren Konversion: Strahlungsloser Übergang von $S_1$ nach $S_0$ (beinhaltet hier isoenergetischen Übergang von $S_{1,0} \rightarrow S_{0,v}$ mit anschließender Schwingungsrelaxation $k_{SR}$ nach $S_{0,0}$ )
$k_{ISC}$	<i>Intersystem crossing</i> - Rate: Übergang von $S_1$ nach $T_1$
$k_T$	Triplettrate: Übergang von $T_1$ nach $S_0$
$k_{21}$	Summe der Übergangsraten von $S_1$ nach $S_0$ ( $k_r + k_{IC}$ )
$k_f$	Rate zur Fluoreszenzlebensdauer ( $\tau_f = k_f^{-1}$ ): Summe der depopulierenden Raten von $S_1$ ( $k_r + k_{IC} + k_{ISC}$ )
$k_{nr}$	Summe der nicht - strahlenden Übergangsraten aus $S_1$ ( $k_{IC} + k_{ISC}$ )

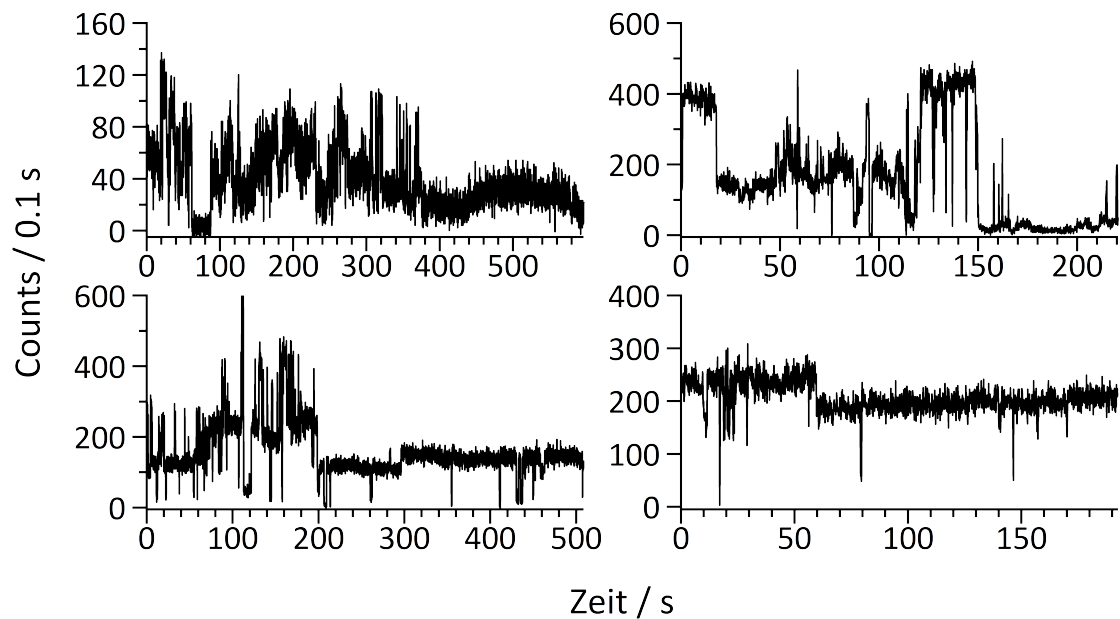
**Tabelle A.2:** Abschätzung der Transmissionen einzelner Bauteile des Tieftemperatursetups bei für eine Detektionswellenlänge von  $\lambda \approx 610 - 670$  nm. <sup>†</sup> Nach  $\eta_{Geo} = 0.5(1 - \cos(\arcsin(\frac{NA}{n})))$  und  $n = 1$ .

Bauteil	Transmissionseffizienz / %
Geo. Einsammeleff. (NA = 0.82) <sup>†</sup>	0.21
Transmission Objektiv	0.85
Kryostatenfenster	0.95
Strahlteiler (80:20)	0.80
Langpassfilter	0.98
Obj. vor Detektionsfaser	0.95
Transmission Detektionsfaser	0.30
Obj. nach Detektionsfaser	0.95
Strahlteiler (50:50)	0.50
Fokussierlinse vor APD	0.98
APD-Detektionseff.	0.70
Produkt	0.01

## LPPentP



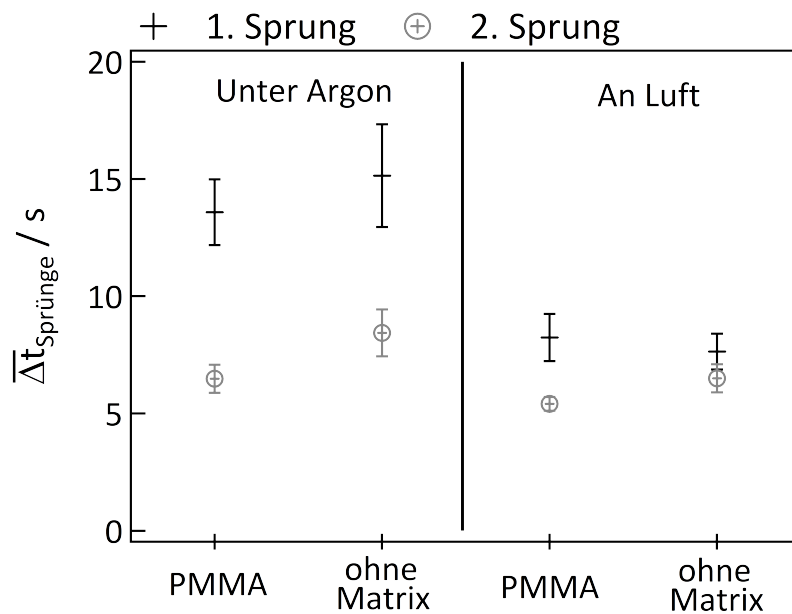
**Abbildung A.1:** Gezeigt sind vier Fluoreszenzzeitspuren einzelner LPPentP - Moleküle in PMMA, gemessen unter Argonstrom. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} = 0.3 \text{ kW/cm}^2$ )



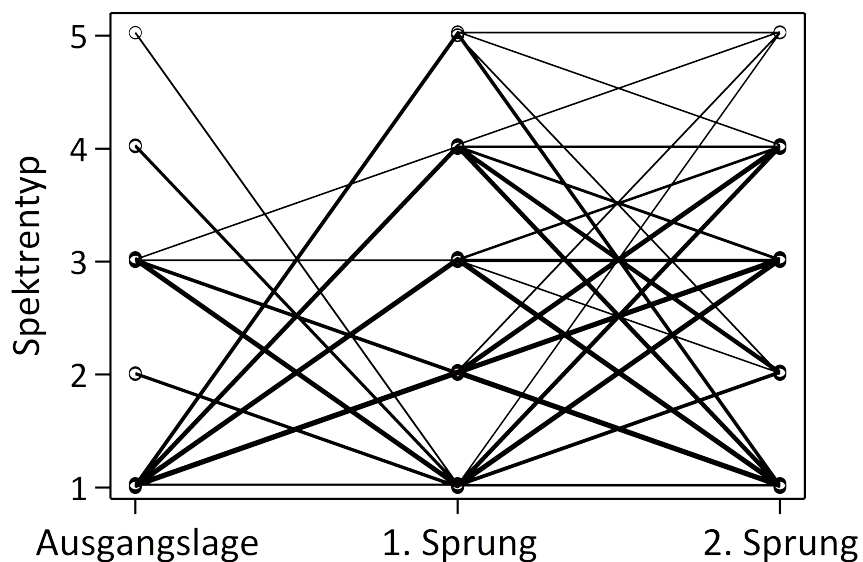
**Abbildung A.2:** Vier beispielhafte Zeitspuren von LPPentP - Einzelmolekülen in PMMA bei 4.5 K. ( $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$ ,  $I_{\text{exc}} \approx 0.4 \text{ kW/cm}^2$ )

**Tabelle A.3:** Die Verteilungen der verschiedenen Spektrentypen von LPPentP, wie sie in der Ausgangslage und nach den ersten zwei Sprüngen auftauchen, was graphisch mit Balken in Abbildung 5.7 für die Messungen mit  $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$  (erste Tabellenhälfte) dargestellt ist.

$\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm (cw)}$			Vorkommen 'Typ x'				
			1	2	3	4	5
in PMMA	Argon	Ausgangslage	88 %	3 %	9 %		
		1. Sprung	10 %	27 %	20 %	40 %	4 %
		2. Sprung	58 %	12 %	13 %	18 %	
	Luft	Ausgangslage	86 %	1 %	11 %	2 %	
		1. Sprung	9 %	42 %	14 %	34 %	
		2. Sprung	54 %	16 %	9 %	21 %	
ohne Matrix	Argon	Ausgangslage	89 %		5 %	5 %	2 %
		1. Sprung	11 %	19 %	8 %	58 %	4 %
		2. Sprung	70 %	10 %	4 %	8 %	8 %
	Luft	Ausgangslage	91 %		5 %	2 %	2 %
		1. Sprung	10 %	45 %	8 %	33 %	4 %
		2. Sprung	55 %	9 %	13 %	21 %	2 %
$\lambda_{\text{exc}} = 437 \text{ nm (20 MHz)}$							
in PMMA	Argon	Ausgangslage	52 %	9 %	5 %	21 %	12 %
		1. Sprung	22 %	22 %	9 %	31 %	16 %
		2. Sprung	40 %	30 %		25 %	5 %
	Luft	Ausgangslage	53 %	15 %	4 %	21 %	6 %
		1. Sprung	28 %	28 %	11 %	28 %	6 %
		2. Sprung	50 %	25 %		13 %	13 %
ohne Matrix	Argon	Ausgangslage	62 %	9 %		24 %	4 %
		1. Sprung	40 %	7 %	7 %	47 %	
		2. Sprung	56 %	33 %		11 %	
	Luft	Ausgangslage	56 %	16 %		12 %	16 %
		1. Sprung	25 %	31 %	13 %	6 %	25 %
		2. Sprung	13 %	25 %	13 %	38 %	13 %



**Abbildung A.3:** Mittlere Dauer zwischen der Ausgangslage und dem 1. Sprung der LPPentP-Moleküle sowie 1. Sprung und 2. Sprung für die unterschiedlichen Messbedingungen bei Raumtemperatur. Zeiten sind über eine exponentielle Anpassung der Zeithistogramme ermittelt worden (nicht dargestellt).



**Abbildung A.4:** Graphische Darstellung der Pfade, zwischen denen die spektralen Sprünge der unterschiedlichen LPPentP-Moleküle mit den jeweiligen Spetrumtypen stattfanden (siehe Abbildung 5.2). Stärker gezeichnete Linien entsprechen einen höher frequentierten Übergang. In dieser Abbildung sind alle unterschiedlichen Messbedingungen (#318) zusammengefasst. Auffällig ist, dass kein Übergang zwischen 'Typ 3' und 'Typ 5' zu beobachten war.



**Tabelle A.4:** Die Relative verteilungen der verschiedenen Spektrentypen von LPPentP, wie sie innerhalb der ersten drei Progressionen für die Messungen bei  $T \leq 200$  K auftauchen, was graphisch mit Balken in Abbildung 5.15 dargestellt ist.

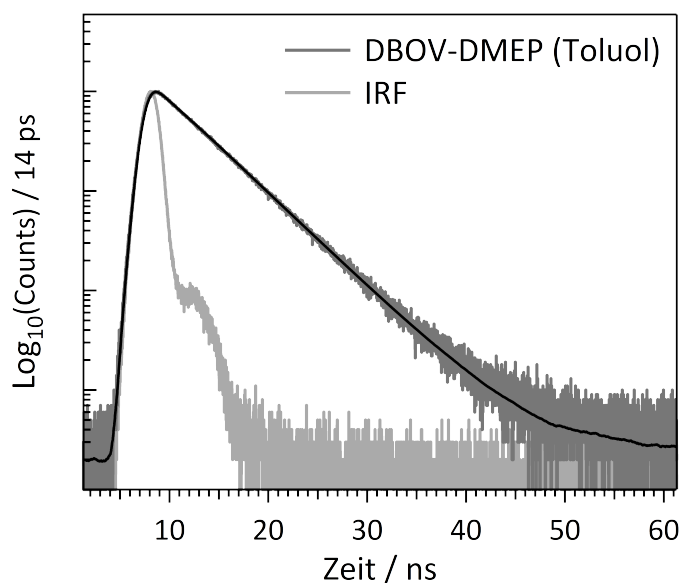
$\lambda_{\text{exc}} = 405$ nm (cw)		Vorkommen 'Typ x'						kein Sprung	
	Progression	1	2	3	4	5	6		
in PMMA	200 K	Ausgangslage	99 %		1 %				-
		1. Sprung			8 %		5 %		87 %
		2. Sprung	13 %						87 %
	100 K	Ausgangslage	91 %		4 %		4 %		-
		1. Sprung	3 %	1 %	8 %		7 %		82 %
		2. Sprung	13 %	2 %			3 %		82 %
	4.5 K	Ausgangslage	92 % <sup>†</sup>	1 %	2 %		1 %	4 %	-
		1. Sprung	4 %				4 %	10 %	82 %
		2. Sprung	5 %	3 %			5 %	3 %	84 %

<sup>†</sup> Angegebene 92 % beinhalten ebenfalls Emissionen, bei der mehrere Emissionslinien (des Typus 1) zu sehen waren. Setzt sich zusammen aus 18 % mit mehreren Emissionslinien und 74 % mit einzelner Emissionslinie (des Typus 1).

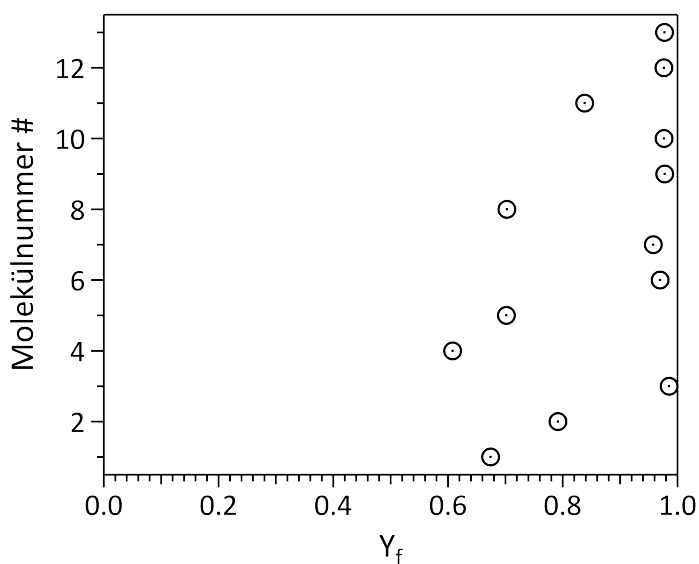
**Tabelle A.5:** Mittelwerte mit dazugehöriger Standardabweichung der energetischen Sprungweiten zu den in Abbildung 5.16 abgebildeten spektralen Übergängen, ausgehend von einem vorherigem 'Typ 1'. Werte, bei denen innerhalb der Standardabweichung im Mittel kein Sprung stattfindet, sind grau eingetragen. Wenn keine Standardabweichung angegeben ist, liegt dem Wert nur ein Datenpunkt zugrunde. Bei Raumtemperatur sind die Werte aus Tabelle 5.3 übernommen worden. Die dazugehörigen Zahlenwerte sind in Tabelle 5.4 zu finden.

x	Spektrale Sprünge zu 'Typ x' $\overline{\Delta E}_{1 \rightarrow x} / \text{cm}^{-1}$				
	2	$\begin{matrix} 3_{1.B} \\ 3_{2.B} \end{matrix}$	4	5	$\begin{matrix} 6_{1.B} \\ 6_{2.B} \end{matrix}$
RT	5568±626	$\begin{matrix} -83 \pm 138 \\ 4984 \pm 12551 \end{matrix}$	3572±824	2927±700	-
200 K	-	$\begin{matrix} -68 \pm 112 \\ 2799 \pm 974 \end{matrix}$	-	3311±1599	-
100 K	3646	$\begin{matrix} -124 \pm 194 \\ 3384 \pm 1688 \end{matrix}$	-	3202±1046	-
4.5 K	-	-	-	4113±1457	$\begin{matrix} -14 \pm 219 \\ 2651 \pm 661 \end{matrix}$

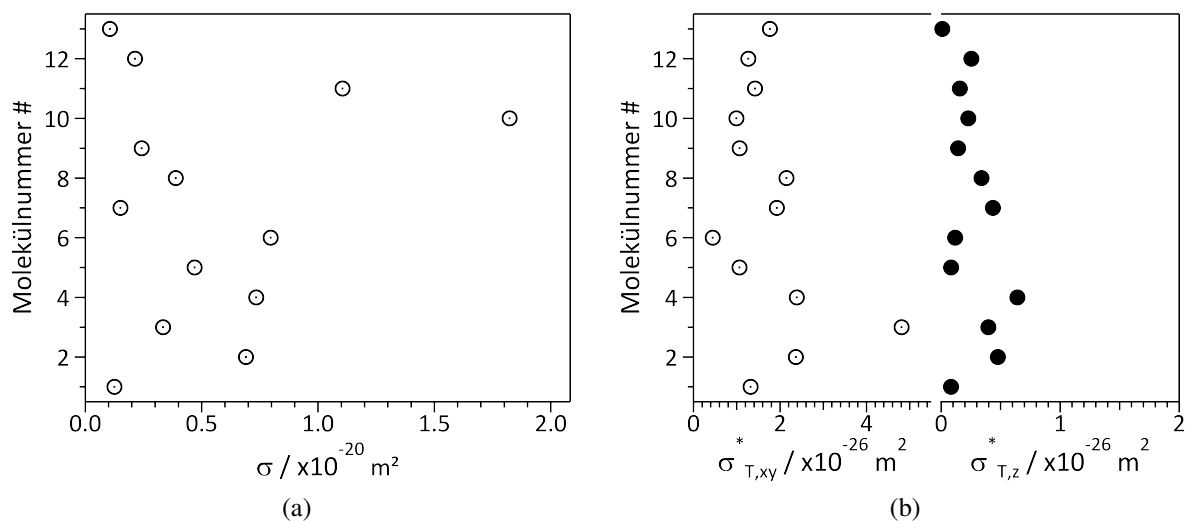
## DBOV - DMEP



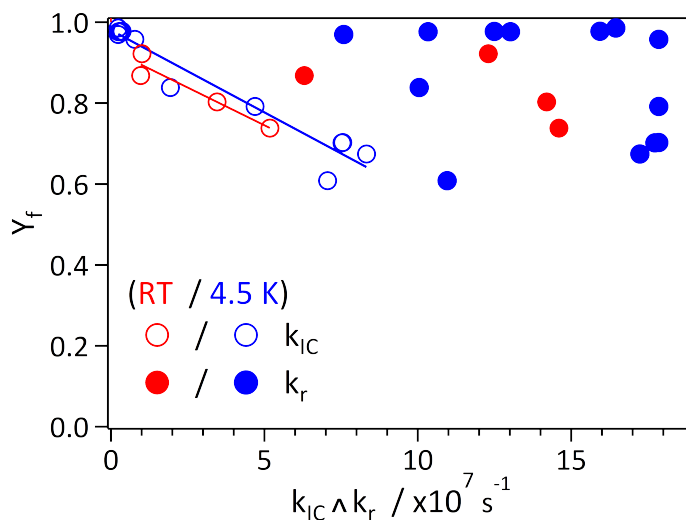
**Abbildung A.5:** Fluoreszenzzerfall von DBOV - DMEP in Toluol ( $c \approx 10^{-6}$  mol/L). Die exponentielle Anpassung, bei der die IRF berücksichtigt wurde, ergibt eine Zerfallszeit von  $\tau_f = 4.6$  ns. ( $\lambda_{\text{exc}} = 605$  nm, Repetitionsrate = 1 MHz,  $\lambda_{\text{det}} = 633$  nm, Detektionsspaltbreite = 12 nm)



**Abbildung A.6:** Ermittelte Fluoreszenzquantenausbeuten von 13 DBOV - DMEP - Molekülen bei  $T = 4.5$  K. Die zugrundeliegenden Werte entstammen der globalen Analyse aus Abschnitt 6.2.3.  $Y_f$  ist dabei keine Variable in der globalen Anpassung, sondern ist über  $Y_f = \frac{k_f}{k_r + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}}}$  berechnet worden.

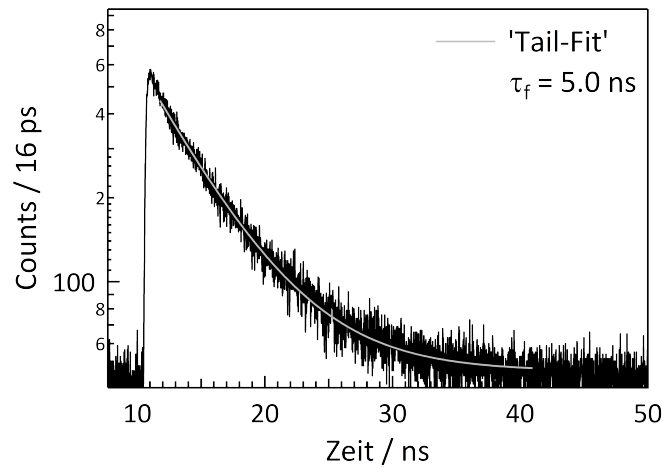


**Abbildung A.7:** Ermittelte Absorptionsquerschnitte für die Absorption aus dem  $S_0$ -Niveau (a) mit  $\sigma$  und für den aus den Triplett-niveaus  $t_x$  &  $t_y$  ( $t_{xy}$ ) und  $t_z$  (b) mit  $\sigma_{xy}^*$  bzw.  $\sigma_z^*$ . Die Werte sind über die globalen Anpassungen aus Abschnitt 6.2.3 für 13 DBOV - DMEP bei  $T = 4.5$  K ermittelt worden.

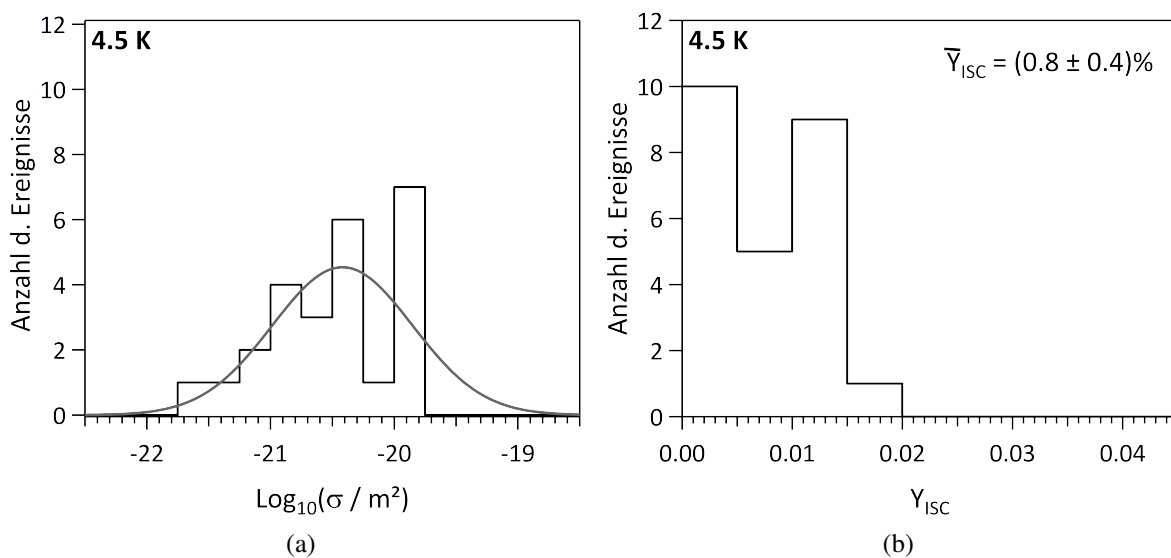


**Abbildung A.8:** Fluoreszenzquantenausbeute  $Y_f$  dargestellt gegenüber der inneren Konversion  $k_{IC}$  und strahlenden Rate  $k_r$ . Alle Werte stammen von einzelnen DBOV-DMEP Molekülen, deren photophysikalische Parameter individuell über anregungsleistungsabhängige Analysen ermittelt wurden. Die Abbildung komplettiert die Abbildung 6.10b mit Daten von vier Molekülen, untersucht bei Raumtemperatur. Die Pearson Korrelationskoeffizienten und Signifikanzwerte für die Korrelation von  $Y_f$  und  $k_{IC}$  sind  $r_{RT} = -0.96$  &  $p_{RT} = 0.04$  und  $r_{4.5K} = -0.97$  &  $p_{4.5K} = 4 \cdot 10^{-8}$ .

## Chlorophyll *a*

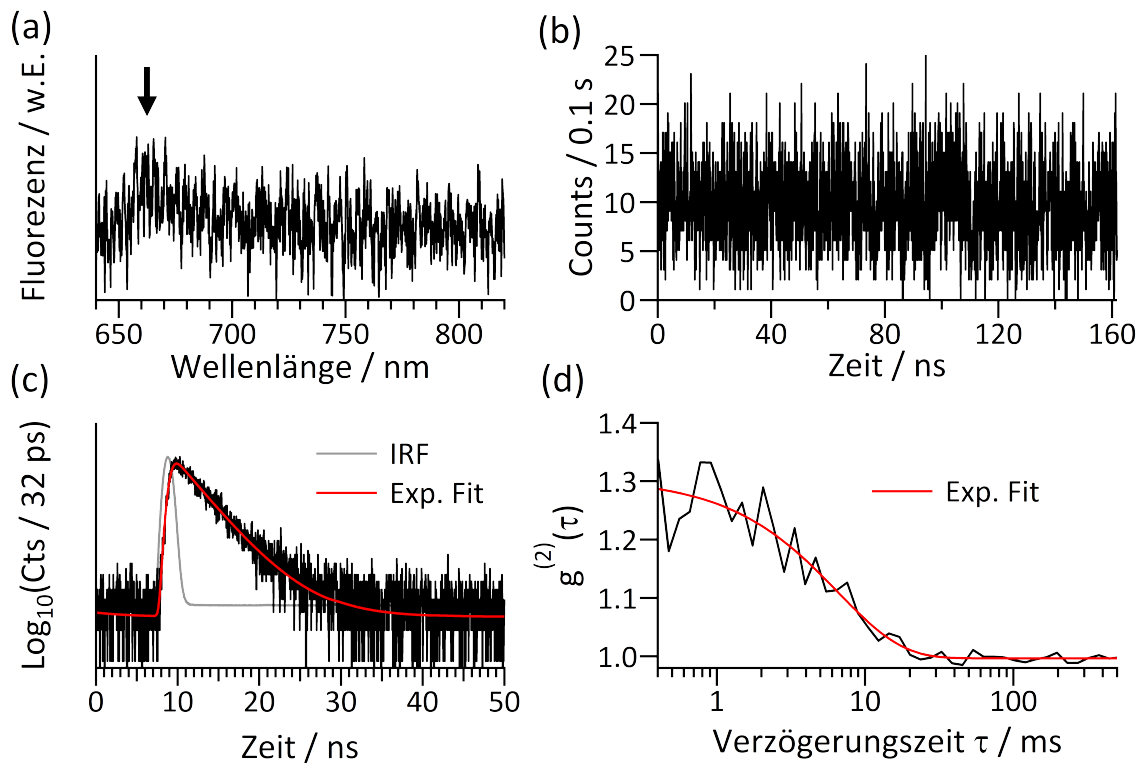


**Abbildung A.9:** Fluoreszenzzerfall von Chl *a* im Ensemble ( $c \approx 10^{-5}$  M) auf Borosilikat (siehe Abschnitt 4.3). Die Anregung erfolgte mit  $\lambda_{\text{exc}} = 635$  nm mit einer Wiederholrate von  $r = 20$  MHz. Detektiert wurde bei  $\lambda_{\text{det}} = 670$  nm senkrecht zur Anregungspolarisation. Die Anpassung erfolgte mittels eines exponentiellen 'Tail-Fits'.



**Abbildung A.10:** (a) Ermittelte Werte für den Absorptionsquerschnitt  $\sigma$  und (b) Intersystem crossing - Ausbeute von Chl *a* Einzelmolekülen bei 4.5 K in Zeonex. Der Wert für  $\sigma$  geht als unabhängiger Parameter in die globale Analyse ein,  $Y_{\text{ISC}}$  ist dagegen über die ermittelten Parameter über  $Y_{\text{ISC}} = \frac{k_{\text{ISC}}}{k_f}$  ermittelt worden (siehe auch Abbildung 7.9).  $\sigma$  ist logarithmiert dargestellt und über eine Normalverteilung angepasst worden. Dessen Erwartungswert liegt bei  $\sigma_{4.5} = 3.8 \cdot 10^{-21} \text{ m}^2$ . Der arithmetische Mittelwert von  $Y_{\text{ISC}}$  liegt bei 0.8 % mit einer Standardabweichung von 0.4 %.

## WSCP



**Abbildung A.11:** Simultan gemessene Daten eines LvWSCP-Tetramers (4 Chl *a*) in Glycerin bei 4.5 K. Gezeigt ist das Fluoreszenzspektrum (a) ( $t_{\text{int}} = 10$ , 16 Mittelungen (16x10 s), der Pfeil kennzeichnet das schwache Emissionsspektrum), die Fluoreszenzzeitspur (b), der Fluoreszenzzerfall (c) ( $\tau_f = 4.5$  ns und die Korrelationsfunktion (d), berechnet über die gesamte Zeitspur aus (b) und exponentiell angepasst. ( $\lambda_{\text{exc}} = 635$  nm, Repetitionsrate = 20 MHz,  $I_{\text{exc}} = 1.3$  kW/cm<sup>2</sup>)



---

## Veröffentlichungen

- Q. Chen, S. Thoms, S. Stöttinger, D. Schollmeyer, K. Müllen, A. Narita, Th. Basché. Di-benzo[*hi, st*]ovalene as Highly Luminescent Nanographene: Efficient Synthesis via Photochemical Cyclodehydroiodination, Optoelectronic Properties, and Single-Molecule Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*. 2019
- A. Neumann, J. Lindlau, S. Thoms, Th. Basché, A. Högele Accidental contamination of substrates and polymer films by organic quantum emitters. *Nano letters*. 2019

## Tagungsbeiträge

- S. Thoms, H. Paulsen, Th. Basché. Single Molecule Spectroscopy of Chlorophyll *a* Poster auf der Konferenz: *Light - Harvesting Processes*. 2017





---

# Curriculum Vitae

## Persönliche Daten

Name: Stefan Thoms  
Geburtsdatum: 31. Januar 1988  
Geburtsort: Hamburg  
Anschrift: Kaiserstraße 12,  
55116 Mainz  
Familienstand: ledig  
E-Mail: stefanthoms@gmx.net

## Schulbildung

08/1994 - 07/1998 Grundschule am Heidenberger Teich in Kiel  
08/1998 - 06/2007 Gymnasium Herderschule in Rendsburg  
Abschluss der allgemeinen Hochschulreife

## Wehrersatzdienst

08/2007 - 04/2008 Leisten d. Zivildienstes in der Hartwig Hesse Stiftung in Hamburg St. Georg

## Beschäftigungen

08/2010 - 09/2010 Praktikum bei CIS Solartechnik GmbH & Co. KG in Hamburg  
10/2012 - 05/2013 Studentische Hilfskraft an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg -  
Betreuung des Nebenfachpraktikums in der Physik

## Akademischer Werdegang

10/2008 - 10/2011 Abschluss des Bachelors (B.Sc.) im Studienfach Nanostrukturtechnik an der  
Julius-Maximilians-Universität in Würzburg  
10/2011 - 11/2013 Abschluss des Masters (M.Sc.) im Studienfach Nanostrukturtechnik an der  
Julius-Maximilians-Universität in Würzburg  
seit 07/2014 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl von Prof. Dr. Basché im Institut  
der Physikalischen Chemie der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz  
Voraussichtlicher Abschluss: Erlangen des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)