

Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Zuzana Vokáčová

TEORETICKÝ POPIS FOTOSYNTETICKÉHO REAKČNÍHO CENTRA

Katedra chemické fyziky a optiky

Vedoucí diplomové práce:

Doc. RNDr. Ing. Jaroslav Burda, CSc.

Studijní program: Biofyzika a chemická fyzika

Praha 2008

Chtěla bych poděkovat své rodině za podporu během studia. Mé díky také patří vedoucímu Doc. Jaroslavu Burdovi za konzultace a pomoc při řešení této práce a Milanu Šimánkovi za vybudování a údržbu výpočetního klastru katedry KCHFO. Dále bych chtěla poděkovat svému profesorovi fyziky J. Stojaníkovi a profesorovi chemie J. Roubalovi ze střední školy, kteří mi ukázali krásu těchto vědních oborů. V neposlední řadě děkuji svému příteli J. Sochorovi za grafickou úpravu obrázků a všestrannou oporu, nejen ve chvílích psaní této práce.

Za výpočetní čas děkuji těmto organizacím :

Superpočítačové centrum UK v Praze

Superpočítačové centrum UK v Brně

Laboratoř náročných výpočtů (LHPC) v Nových Hradech

Výpočetní klastr KCHFO

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce.

V Praze dne 30. ledna 2008

Zuzana Vokáčová

Název práce: *Teoretický popis fotosyntetického reakčního centra*

Autorka: *Zuzana Vokáčová*

Katedra (ústav): ***Katedra chemické fyziky a optiky, Ke Karlovu 3, 12116 Praha 2***

Vedoucí diplomové práce: ***Doc. RNDr. Ing. Jaroslav Burda, CSc.***

e-mail vedoucího: burda@karlov.mff.cuni.cz

Abstrakt: Pomocí metod kvantové chemie byly studovány spektrální vlastnosti reakčního centra fotosystému II (RC PS II) a vybraných fotosyntetických pigmentů.

Absorpční spektra šesti monomerních jednotek RC PS II byla spočtena semiempirickými metodami a metodou DFT. Spektra monomerů dosažená semiempirickými metodami jsou posunutá do červena, naproti tomu spektra získaná pomocí metody DFT do modra od experimentálních hodnot pro chlorofyl *a*. Posun je způsoben použitou metodou. Dále byly semiempirickými metodami získány elektronové přechody pro vybrané části chlorofylo-feofytinového komplexu RC PS II. Snahou bylo popsat změny plynoucí ze zvětšování komplexu chlorofylových molekul. Byl nalezen rozdíl spekter skupin pigmentů v aktivní a neaktivní části komplexu a červený posun spektra dimeru od spektra monomerního chlorofylu *a*.

Spektra pigmentů (chlorofylů, bakteriochlorofylů, karotenů, fykobilinů) vypočtená na DFT úrovni jsou v kvalitativní shodě s experimentem. Byl nalezen očekávaný vliv struktury na podobu spektra. Sledovanými závislostmi byla přítomnost různých substituentů, délka chromoforu a vybrané modifikace struktury.

Klíčová slova: *reakční centrum, chlorofyl, pigment, DFT, PM3, ZINDO*

Title: *Theoretic description of photosynthetic reaction center*

Author: *Zuzana Vokáčová*

Department: ***Department of Chemical Physics and Optics, Ke Karlovu 3, 12116 Prague 2***

Supervisor: ***Doc. RNDr. Ing. Jaroslav Burda, CSc.***

Supervisor's e-mail address: burda@karlov.mff.cuni.cz

Abstract: Spectral properties of reaction center of photosystem II (RC PS II) and some chosen pigment molecules were studied by methods of quantum chemistry.

Absorption spectra of six monomer unit of RC PS II were computed with semiempirical method and on the DFT level. Spectra of monomers obtained by the semiempirical ZINDO method are red shifted and spectra obtained by TDDFT are blue shifted from measured spectrum of chlorophyll *a*. The shift is a result of applied method. Next, electron transitions of chosen part of chlorophyll-pheophytin complex of RC PS II were obtained by semiempirical method. A goal was to describe differences, which follows from enlarging size of the reaction complex. A difference in the spectra correlates with various groups of pigments, which belong to active and inactive branches. Red shift of spectral lines was found only for the central dimer in comparison with electron transitions of chlorophyll *a*.

Spectra of selected pigment molecules (chlorophylls, bacteriochlorophylls, carotenoids, phycobilins) were calculated on the DFT level and a good agreement with experimental data was achieved. An expected spectral-lines dependence on molecular structures was obtained. The relationship of some substituents, the length of unsaturated chains of chromofor and some modification of structure was searched.

Keywords: *reaction center, chlorophyll, pigment, DFT, PM3, ZINDO*

Obsah

1. Úvod	7
2. Fotosystém II a funkce pigmentů ve fotosyntéze	10
2.1 Primární procesy fotosyntézy	10
2.1.1 P680	13
2.2 Pigmenty ve fotosyntéze.....	14
2.2.1 Chlorofyly (Chl)	15
2.2.2 Bakteriochlorofyly (BChl).....	18
2.2.3 Feofytin a bakteriofeofytin	19
2.2.4 Karotenoidy	20
2.2.5 Fykobilíny.....	22
3. Teoretický úvod	24
3.1 Formalismus kvantové chemie	24
3.1.1 Atomové jednotky	25
3.1.2 Born-Oppenheimerova aproximace.....	25
3.1.3 Vlnová funkce	26
3.1.4 Molekulové orbitály jako lineární kombinace atomových orbitalů (MO-LCAO) ..	27
3.2 Báze atomových orbitalů	27
3.2.1 Slaterovy a Gaussovske funkce	28
3.2.2 Polarizační a difúzní funkce	28
4. Výpočetní metody	30
4.1 Hartree-Fockova metoda (HF).....	30
4.2 Semiempirické metody	33
4.2.1 ZINDO	34
4.2.2 PM3	35
4.3 Ab initio metody	36
4.3.1 Teorie funkcionálu hustoty (DFT).....	36
4.3.2 Hohenbergův-Kohnův teorém	37
4.3.3 Kohnovy – Shamovy rovnice	38
4.3.4 DFT funkcionál	40
5. Studované modely	41
5.1 Reakční centrum – struktura 1DOP.....	41
5.1.2 Model systému chlorofylů a feofytinů.....	42
5.1.2 Současný výzkum RC PS II	42
5.2 Pigmenty	43
6. Výsledky	44
6.1 Reakční centrum fotosystému II.....	44
6.1.1 Monomery – semiempirické výpočty	44
6.1.2 Skupiny pigmentů reakčního centra – semiempirické výpočty.....	47
6.1.2.1 Červený posun P680	49
6.1.3 Monomery – DFT výpočty	51
6.2 Pigmenty	53
6.2.1 Vytváření modelů	53
6.2.2 Konformační analýza.....	54
6.2.2.1 Ukázka vlivu některých substituentů.....	54
6.2.3 Výpočet spekter	56

6.2.4 Analýza spekter	56
6.2.4.1 Chlorofyly.....	57
6.2.4.2 Chlorofyl a a feofytin a.....	60
6.2.4.3 Bakteriochlorofyly.....	61
Vypočtená data Experimentální data.....	64
6.2.4.4 Karotenoidy	64
6.2.4.5 Fykobilíny.....	70
7. Závěr	73
RC PS II.....	73
Pigmenty	74
8. Literatura	75
9. Příloha A.....	77
9.1 Fotosyntetické pigmenty – obrazová příloha	77
A.1 Chlorofyly - Schematicky zakreslené struktury	77
A.2 Chlorofyly – molekulové sktruktury	78
A.3 Bakteriochlorofyly - Schematicky zakreslené struktury.....	79
A.4 Bakteriochlorofyly – molekulové struktury.....	80
A.5 Karotenoidy - Schematicky zakreslené struktury	81
A.6 Karotenoidy – molekulové struktury	82
A.7 Fykobilíny - Schematicky zakreslené struktury	84
A.8 Fykobilíny - molekulové struktury	84

Seznam obrázků

Obr. 1: Schéma chloroplastu	10
Obr. 2: Schematický náčrt thylakoidní membrány	11
Obr. 3: Chlorofylo-feofytinový komplex reakčního centra.....	12
Obr. 4: Molekula chlorofyl <i>a</i>	16
Obr. 5: Standardní označení atomů a cyklů v molekule chlorofylu <i>a</i>	16
Obr. 6: Struktura molekuly feofytinu <i>a</i>	20
Obr. 7: Model 1DOP.....	41
Obr. 8: Číslování molekul chlorofylů a feofytinů v použitém modelu.....	42
Obr. 9: Experimentální absorpční spektrum chlorofylu <i>a</i> a feofytinu <i>a</i> v dietylu éteru.....	46
Obr. 10: Centrální chlorofylový pár.....	50
Obr. 11: Molekula chlorofylu <i>b</i> s vyznačenými substituenty.....	55
Obr. 12: Experimentální absorpční spektrum bakteriochlorofylu <i>a</i> v dietylu éteru.....	62
Obr. 13: A Absorpční spektra fykoerytrinu (PE), fykocyaninu (PC) a allofykocyaninu (APC). B Vliv interakce fykobilínu s proteinem na absorpční spektra.....	72
Obr. A1: Schematické znázornění struktur chlorofylů.....	77
Obr. A2: Použité struktury molekul chlorofylů.....	78
Obr. A3: Schematické znázornění struktur bakteriochlorofylů.....	79
Obr. A4: Použité struktury molekul bakteriochlorofylů.....	80
Obr. A5: Schematické znázornění struktur karotenoidů.....	81
Obr. A6: Použité struktury molekul karotenoidů.....	83
Obr. A7: Schematické znázornění struktur fykobilínů.....	84
Obr. A8: Použité struktury molekul fykobilínů.....	84

Seznam grafů

Graf 1: Spektra monomerů RC spočtené metodou ZINDO	45
Graf 2: Spektra vybraných částí hexameru RC spočtené metodou ZINDO.....	48
Graf 2b: Spektrum centrálního tetrameru RC spočtené metodou ZINDO	49
Graf 3: Spektrum chlorofylu <i>a</i>	50
Graf 4: Spektra monomerů RC spočtené metodou DFT	52
Graf 5: Ukázka rozdílných spekter molekuly chlorofylu <i>b</i> v dvou různých konformacích.....	56
Graf 6: Spektra molekul chlorofylů.....	59
Graf 7: Spektra chlorofylu <i>a</i> a feofytinu <i>a</i>	60
Graf 8: Spektra molekul bakteriochlorofylů.....	63
Graf 9: Vliv délky chromoforu na pozici absorpčních pásů a vliv přítomnosti β -kruhu	67
Graf 10: Vliv přítomnosti hydroxylové skupiny	68
Graf 11: Grafy molekul karotenoidů, které se účastní xantofylového cyklu.....	69
Graf 12: Grafy spekter peridininu a fukoxantinu	70
Graf 13: Absorpční spektra fykobilínů.....	71

Seznam tabulek

Tabulka 1: Experimentální hodnoty pro molekuly chlorofylu <i>a</i> a feofytinu <i>a</i>	46
Tabulka 2: Vypočtené hodnoty pro molekuly chlorofylu <i>a</i> a feofytinu <i>a</i>	47
Tabulka 3: Vypočtené hodnoty pro vybrané části RC.....	49
Tabulka 4: Vypočtené hodnoty na strukturách chlorofylů a feofytinů z RC.....	53
Tabulka 5: Vypočtené a experimentální hodnoty pro molekuly chlorofylů (Chl).	59
Tabulka 6: Vypočtené a experimentální hodnoty pro molekuly chlorofylu <i>a</i> a feofytinu <i>a</i>	60
Tabulka 7: Vypočtené a experimentální hodnoty pro molekuly bakteriochlorofylů (BChl). ..	64
Tabulka 8: Vypočtené a experimentální hodnoty absorpčních pásů molekul karotenoidů.....	65
Tabulka 9: Souhrn vypočtených a experimentálních dat pro molekuly fykobilínů.	71

„To, co je opravdu důležité - je lidským očím neviditelné.“

Antoine de Saint-Exupéry

1. Úvod

Fotosyntéza [1-3] zahrnuje jedny z nejdůležitějších procesů na Zemi, bez nichž by nebyla možná existence jakýchkoli vyšších organismů. Zelené části rostlin absorbují energii slunečního záření a chemickými reakcemi ji využívají na stavbu vlastního těla. Tím vytvářejí organickou hmotu, která je dále využívána jako potrava pro živočichy. Sluneční záření tak představuje, ať už přímo nebo nepřímo, hlavní zdroj energie na Zemi.

Tématicky je možno tuto diplomovou práci rozdělit do dvou částí. První se věnuje reakčnímu centru fotosystému II a druhá vybraným molekulám pigmentů.

Cílem první části je studium absorpčních spekter chlorofyl-feofytinového komplexu reakčního centra fotosystému II, který představuje lákavý objekt pro výzkum z pohledu mnoha oblastí. Struktura tohoto systému je sice známa, ale některé procesy v něm probíhající stále nejsou uspokojivě popsány. Blíže bude o fotosystému II napsáno v další kapitole.

V návaznosti na studovanou problematiku školícího pracoviště [4, 5] byl pro objekt diplomové práce zvolen teoretický model 1DOP [6] ze strukturní proteinové databáze (www.pdb.org).

Druhá část práce zahrnuje výpočet absorpčních spekter širokého souboru pigmentů [1-3]. Pro studium byly vybrány molekuly chlorofylů, bakteriochlorofylů, některé molekuly karotenoidů a dva bilíny. Fotosyntetické pigmenty tvoří nezbytnou součást celého fotosyntetického aparátu. Tyto pigmenty svými chemickými i fyzikálními vlastnosti přispívají nemalou měrou k fungování procesu fotosyntézy. Uvádím jejich krátký přehled:

- Chlorofyly a bakteriochlorofyly jsou zelená barviva [7] tvořící reakční centra fotosystémů. Jsou též hojně zastoupeny v anténních komplexech jmenovaných fotosystémů. Převážná část získané energie ze slunečního záření pochází z absorpce světla molekulami pigmentů chlorofylového typu. Je známo několik modifikací chlorofylů i bakteriochlorofylů. Chemicky jde o tzv. cyklické tetrapyroly.
- Karotenoidy jsou červená až žlutá barviva [8-10]. Jedná se o lineární polyeny. Rozdělují se do dvou skupin podle chemické podstaty. Jde-li o čisté uhlovodíky, nazývají se karoteny. Kyslíkaté derivátů karotenů se označují jako xantofyly. Nacházejí se

převážně v anténních komplexech fotosyntetických aparátů. Největší význam pro fotosyntetické organismy mají jejich ochranné funkce.

- Fykobilíny jsou přídatné pigmenty sinic a řas [2, 3]. Chemicky jde o lineární tetrapyroly, které pravděpodobně vznikají rozpadem tetrapyrolového jádra.

Historie objevů pigmentů

Již v dávné historii lidé používali přírodních barviv ke zdobení materiálů (zmínky popisující extrakci některých přírodních barviv a jejich použití jsou známy již z dob starého Egypta), ale teprve až v roce 1864 G. G. Stokes při studiu fluorescence listových barviv došel k závěru, že je možno předpokládat existenci nejméně dvou zelených a dvou žlutých barviv, které by se mohly v rostlinách nacházet. S pomocí nemísitelných rozpouštědel pak směs pigmentů rozdělil na chlorofyly a karotenoidy. Po něm roku 1906 ruský botanik M. Cvět přímo dokázal existenci dvou chlorofylů dnes známých jako chlorofyl *a* a chlorofyl *b*. V dalších letech našli vědci spektroskopickou podobu chlorofylů s porfyriny, jenž lze získat z hemu. M. Nencki (1896) z toho odvozoval společný evoluční původ živočichů a rostlin. Strukturu porfyrinového kruhu (základu chlorofylu) stanovil a syntézou potvrdil H. Fischer a jeho kolektiv spolupracovníků. Fischer za své práce obdržel roku 1930 Nobelovu cenu za chemii.

Další poznatky již nabývají značné šíře a spíše než s historií jsou spjaty s moderním výzkumem.

Historie objevu fotosystému II, [3]

Dnes u fotosyntézy vyšších rostlin rozlišujeme dva fotosystémy [1-3], fotosystém I a fotosystém II, ale historie jejich objevení je oproti pigmentům poněkud mladší. První zmínky o existenci dvou fotosystémů v oxygenní fotosyntéze pocházejí od R. Hilla a L. N. Duysense. Z podobnosti s oxidativní fosforylací mitochondrií (dýchací řetězec) usuzovali, že jedna fotochemická reakce se podílí na redukci cytochromů, druhá na jejich oxidaci. Mezi těmito dvěma redoxními reakcemi se elektrony pohybují po spádu elektrochemického potenciálu (Hillovo jméno je také spojováno s tzv. schématem Z, které znázorňuje spojení dvou fotochemických reakcí v oxygenní fotosyntéze ve stupnici oxidačně redukčních potenciálů. Toto schéma však publikoval Hill až později). Hillova představa dvou fotochemických reakcí byla potvrzena pokusy Duysense roku 1961. Ten už obě soustavy barviv rozděluje a

pojmenovává systém 1 a systém 2. Dalším, kdo píše o dvou následných reakcích, je B. Kok roku 1963, kdy ztotožňuje P700 s jedním reakčním centrem.

Další významné poznatky lze spojit se jmény H. Kautsky a Govindjee (1960). Ti svým výzkumem dále rozšířili vědomosti o obou fotosystémech. V roce 1988 byla udělena Nobelova cena za práce prohlubující poznání zákonitostí fotosyntézy a struktury fotosyntetických reakčních center. Obdržel ji tým vědců z Martinsriedu u Mnichova – J. Deisenhofer, R. Huber a H. Michel [11-13].

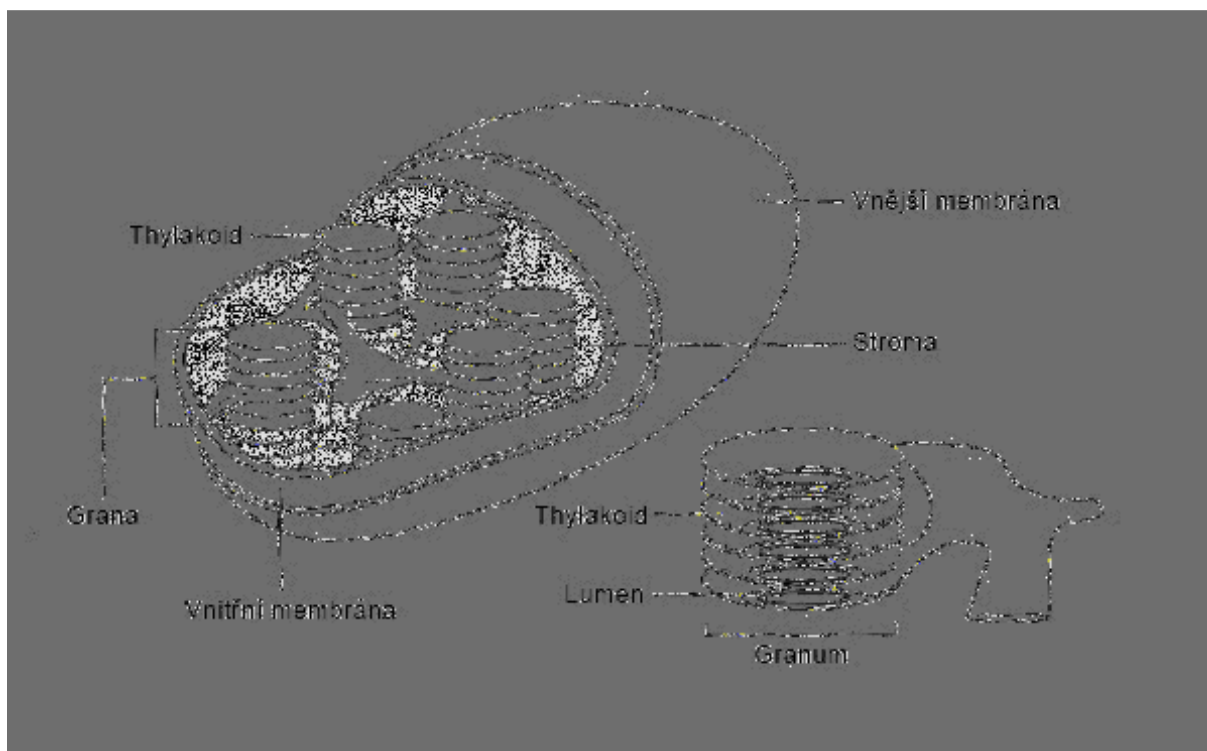
Rozvržení kapitol je následující. Kapitola 2 se věnuje teoretickým poznatkům o fotosystému II a jednotlivých fotosyntetických pigmentech. Kapitoly 3 a 4 popisují základy kvantové teorie a použité semiempirické a ab initio metody. Pátá kapitola shrnuje popis studovaný modelů. Kapitola 6 obsahuje vypočtená data vynesena do grafů, diskutované hodnoty v zapsané tabulkách a interpretaci vypočtených výsledků. Kapitola 7 shrnuje získané poznatky a zabývá se možnostmi dalšího výzkumu v dané problematice. Veškeré obrázky pigmentů jsou otisknuty v obrazové příloze A spolu se schematickým zápisem jejich struktur.

2. Fotosystém II a funkce pigmentů ve fotosyntéze

Fotosyntézu provozují fotoautotrofní organismy – tj. fotosyntetické bakterie, sinice, řasy a rostliny. Téměř všechny ostatní organismy získávají energii oxidací organických sloučenin vytvořených těmito fotosyntetickými organismy.

2.1 Primární procesy fotosyntézy

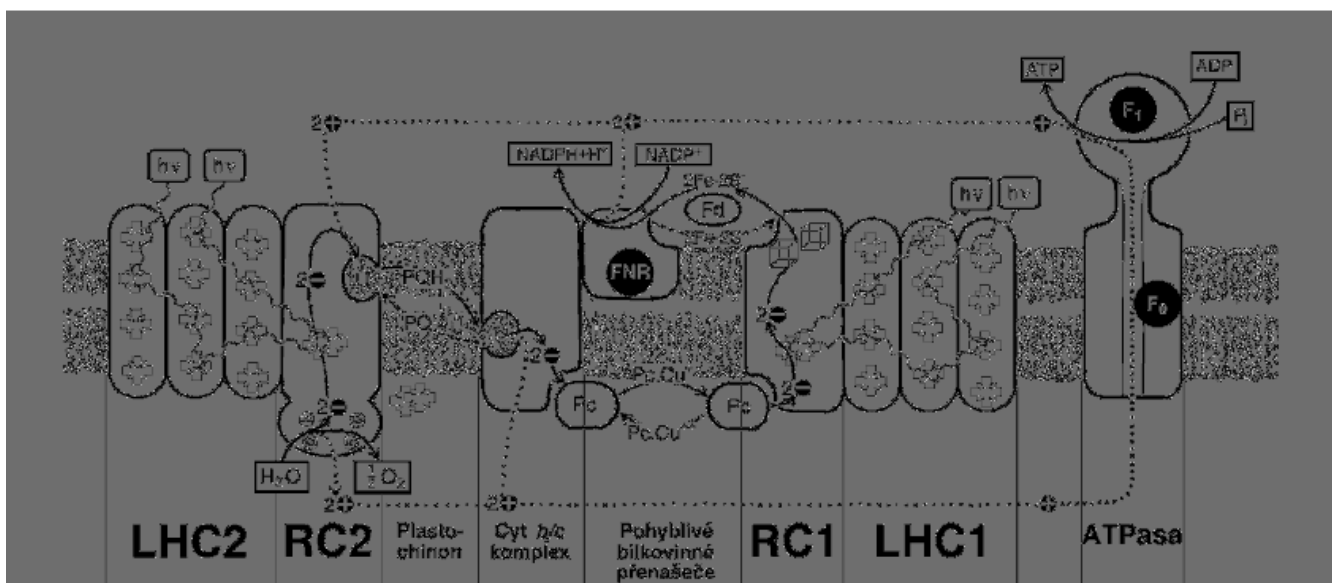
Fotosyntézu lze podle probíhajících reakcí rozdělit na fotochemické procesy, kde se přetváří sluneční světelná energie na energii chemickou (ATP, NADPH+H⁺), a na procesy biochemické, kde se tato energie využívá k syntéze organických sloučenin.



Obr. 1: Schéma chloroplastu [1]. Chloroplast obsahuje tři membrány, popsané na obrázku. Fotosyntéza probíhá na nejvnitřnější z nich, na tzv. thylakoidní membráně.

U vyšších rostlin fotosyntéza (kde se nachází námi zkoumané reakční centrum fotosystému II) probíhá v zelených částech, konkrétně v buněčných organelách, které se nazývají chloroplasty. Uvnitř chloroplastů je umístěna složitá soustava membránových útvarů zvaných thylakoidy (viz obrázek 1).

Všechny fotochemické děje se odehrávají v bílkovinových komplexech zasazených v thylakoidní membráně. Označení jednotlivých částí a nejdůležitějších reakcí je znázorněno a popsáno na obrázku 2 [3].



Obr. 2: Schematický náčrt thylakoidní membrány a elektronového transportu v případě oxygenních fotosyntetických organismů. Thylakoidní membránu tvoří dvojitá vrstva lipidů, rozdělující prostor na stromální (na obrázku orientovaná nahoře) a lumenální (dole) část. V membráně se nacházejí funkční bílkovinné komplexy. Jsou to fotosystém I (PSI) a fotosystém II (PSII), z nichž se každý skládá z jádra a vnější pohyblivé antény (LHC1 a LHC2). Jádro fotosystému obsahuje reakční centrum (RC1 a RC2). Přenos elektronů mezi jednotlivými reakčními centry zprostředkovává cytochrom b_6/f komplex. Mezi PS2 a cytochromem b_6/f komplexem přenáší elektrony volně pohyblivé chinony (PQ a PQH₂). Dalším přenašečem je plastocyanin (PC) mezi b_6/f komplexem a RC1. Přenosy elektronů jsou spřaženy s přenosem protonů. Vyniklý protonový gradient se využívá prostřednictvím ATPázy k syntéze ATP.

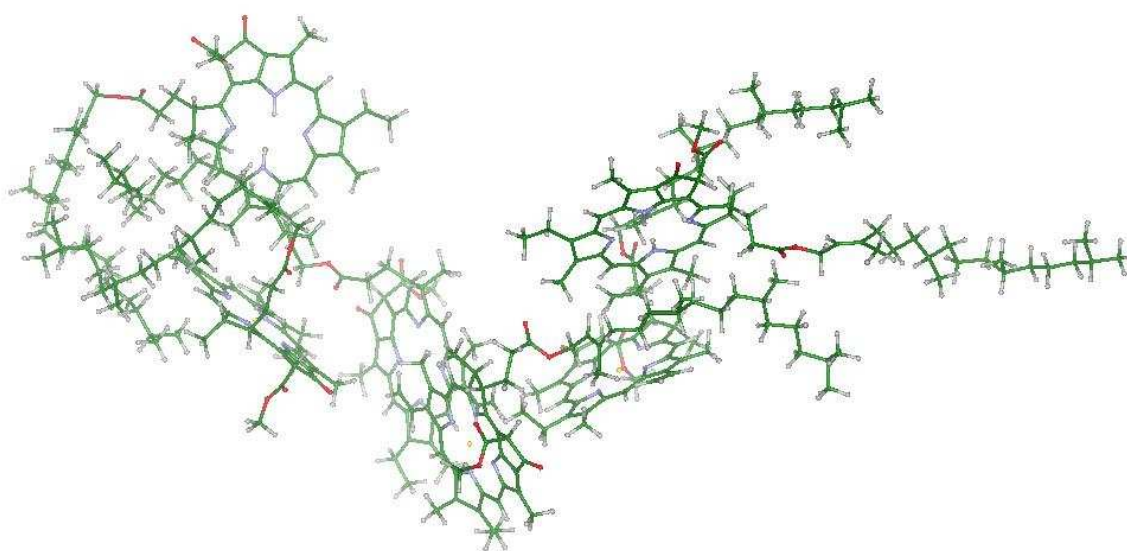
Fotosystém II (PS II) a reakční centrum (RC)

Fotosystém II [4, 6, 14-17] ve svém jádře obsahuje reakční centrum, které se skládá z proteinů a pigmentových molekul podílejících se na přenosu elektronu (viz obrázek 2).

Reakční centrum fotosystému II vykazuje vysokou nestabilitu (nejvyšší ze všech reakčních center), která úzce souvisí s vysokým oxidačně-redukčním potenciálem P680, primárního donoru elektronu PS II, který je někdy označován jako tzv. speciální pár (viz dále). RC PS II je jedinečné svou schopností odebrat elektron z molekuly vody, což vede k uvolňování kyslíku potřebného pro vytváření kyslíkové atmosféry naší planety.

Molekuly komplexu jsou umístěny v lipidové membráně v takových prostorových vztazích, které jsou optimální pro nevratné rozdělení nábojů. Ve středu reakčního centra je obsaženo šest chlorofylů a dva feofytiny, systém má pseudo-dvoučetnou symetrii. Uprostřed je umístěn pár chlorofylů, další elektronové akceptory se nachází v tzv. aktivní a neaktivní větvi. V některé literatuře se přímo hovoří o neaktivitě jednoho z feofytinů [1, 2, 6]. Důvod této neaktivity není znám.

Naším objektem zájmu byl chlorofylo-feofytinový komplex ve středu reakčního centra fotosystému II (viz obrázek 3).



Obr. 3: Chlorofylo-feofytinový komplex reakčního centra, složený ze čtyř centrálních chlorofylů a dvou postranních feofytinů.

Postup elektronu komplexem PS II

Celý proces začíná zachycením světelných kvant molekulami pigmentů, obsaženými ve světlosběrných anténách (spektrálními vlastnostmi jednotlivých fotosyntetických pigmentů se zabýváme v dalším textu). Ty jsou tímto excitovány. Takto získaná energie se přenáší do reakčního centra fotosystému II. Přenos excitační energie v anténě se odehrává v řetězci pigmentových molekul po energetickém spádu. Pro zajištění správné funkčnosti antény je proto důležité vhodné prostorové (resp. energetické) uspořádání. Rozmístění je takové, aby

energetický spád přiváděl excitační energii k reakčnímu centru. Část energie je ztracena ve formě tepla, tím je částečně zaručena nevratnost procesu.

Excitace molekul způsobená světelným zářením je přenesena na speciální pár P680 reakčního centra, které je silným redukčním činidlem. Dochází v něm k chemické reakci – rozdělení nábojů a vytvoření volného elektronu. Elektron je přenesen na akceptor (feofytin) a do vyniklé díry oxidovaný komplex přijme jiný elektron prostřednictvím tyrosinu Y_z z vody. Po přenesení elektronu z chlorofylu na vzdálený akceptor (PQ – viz obrázek 2) a zaplnění díry po tomto elektronu elektronem z molekuly vody, dojde k dosažení původního stavu systému a reakční centrum je znovu připraveno pro zachycení nového fotonu.

Elektron se přenáší proti spádu elektrochemického potenciálu, prochází skrz membránu a je přenášen dále na fotosystém I.

Chlorofyl a feofytin v RC PS II

Chlorofyly [7] mají klíčovou světlosběrnou úlohu. Ve vyšších rostlinách tvoří RC a jsou i hojně obsaženy v anténních komplexech. Prostřednictvím jejich absorpce je zachycována většina sluneční energie. Zásadní význam molekuly chlorofylu *a* pro fotosyntézu je její přítomnost v reakčních centrech. Její funkce nelze nahradit žádným jiným druhem pigmentů (máme na mysli vyšší rostliny, sinice a řasy - u bakterií tuto funkci zastávají bakteriochlorofyly).

Spektrální vlastnosti chlorofylů jsou dány přítomností tetrapyrolového cyklu s přidruženým izocyklem. Systém pyrolů leží v rovině a soustava konjugovaných vazeb mu dává silný aromatický charakter.

Stejnou strukturu jako chlorofyl má také feofytin, pouze centrální hořčíkový ion Mg^{2+} je substituován dvěma vodíky.

2.1.1 P680

Primární donor elektronu v reakčních centrech se nazývá P_λ , kde λ je poloha absorpčního pásu tohoto komplexu. V případě RC PS II je primárním donorem P680 s absorpčním maximem u 680 nm [4, 6, 18-25]. Experimentálně (např. EPR) bylo ukázáno, že v případě bakteriálních reakčních center je donorem elektronu centrální dimer. P_λ se často nazývá „speciální pár“. U reakčního centra vyšších rostlin však situace není příliš jasná.

Přestože jsou známy některé strukturní podobnosti bakteriálního reakčního centra a RC PS II [6, 20], jsou tyto dvě centra odlišná. V bakteriálním reakčním centru vykazuje primární donor elektronu červený posuv absorpčního pásu S_0-S_1 (od spektra monomeru). Tento posuv je výsledkem dipólového působení mezi dvěma molekulami bakteriochlorofylů tvořícími speciální pár. Naproti tomu u PS II malý spektrální posuv absorpčního pásu P680 ukazuje na to, že molekuly tvořící P680 vykazují slabé dipólové působení, které je stejné jako působení mezi sousedními pigmenty. Toto energetické působení přímo odpovídá geometrii RC. RC PS II má molekuly pigmentů v jádře rozmístěny rovnoměrně a zhruba stejně daleko od sebe. U bakteriálního RC se silné vzájemné působení mezi molekulami speciálního páru odráží v menší vzdálenosti dvou centrálních molekul.

Pro popis P680 se uvažuje několik modelů, z nichž nejprosažovanější jsou následující:

1. P680 je dimer dvou slabě vázaných chlorofylů a – „speciální pár“ a excitonové působení se sousedními chlorofyly a feofytiny lze zanedbat. V tomto modelu všechny pigmenty, mimo P680, operují jako samostatné jednotky v zachycení excitační energie. Excitační energie je nejdříve přenesena z těchto samostatných jednotek do P680 a zde začíná primární rozdělení náboje.
2. Trochu odlišný pohled přináší Durrant a kol. (1995), jenž tvrdí, že má být započítáno nejenom excitonové působení mezi molekulami centrálního páru, ale také působení s ostatními pigmenty, které jsou v oblasti energetického působení 100 cm^{-1} . To vede k myšlence, že se na primárním rozdělení náboje účastní kompletní jádro PS II RC (předpokládají se čtyři centrální chlorofyly a a dva sousední feofytiny a). Popisovaný model se nazývá multimerní model slabě vázaných pigmentů komplexu P680. Delokalizace energie se uvažuje přes všechny molekuly tohoto modelu.
3. Do předchozího modelu se někdy zahrnuje fakt, že se přenosu náboje účastní pouze jedna větev RC a uvažuje se o nesymetrické delokalizaci energie na aktivní větvi.

2.2 Pigmenty ve fotosyntéze

Funkce pigmentů ve fotosyntéze je nezanedbatelná [1-3]. Pigmenty tvoří základní kameny fotosyntetických organismů. Bez nich by nebyla možná absorpce světla a přenos získané energie. Jejich umístění v membráně zajišťuje účinný přenos této energie a jejich správné prostorové a energetické rozmístění v anténě i částečnou nevratnost procesu. Principem ovlivnění energie přechodu pigmentů v případě pigment-proteinových i v případě excitonových interakcí je elektrostatické působení.

Fotosyntetické organismy obsahují značný počet pigmentů, jejichž role pro funkčnost fotosyntézy je rozdílná. Výskyt pigmentů v jednotlivých organismech je značně individuální a odráží v sobě potřeby dané životními podmínkami rostlin na absorpci slunečního záření (například purpurové bakterie žijící pod úrovní většiny ostatních rostlin využívají světlo neabsorbované ostatními rostlinami - z oblasti okolo 500 nm a z oblasti nad 800 nm).

System konjugovaných vazeb, který se nachází v každé molekule fotosyntetického pigmentu, předurčuje absorpci do viditelné (či blízké UV nebo blízké IR oblasti) části spektra. V této oblasti dochází u molekul pigmentů k elektronové excitaci.

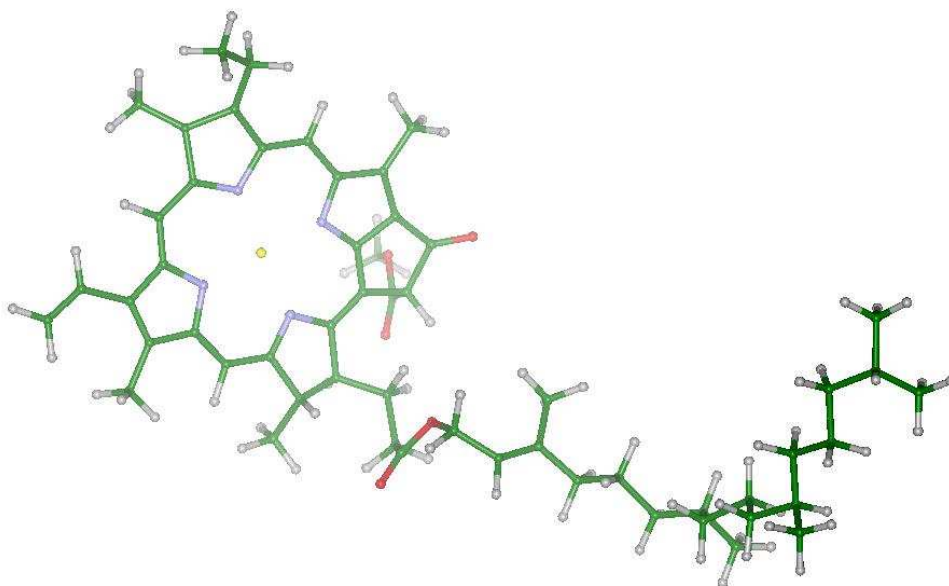
Detailnější spektrální vlastnosti molekul pigmentů závisí do určité míry na prostředí, které tuto molekulu obklopuje – proteiny či další pigmentové molekuly.

Fotosyntetické pigmenty lze podle struktury rozdělit na čtyři základní skupiny: chlorofyly, bakteriochlorofyly, karotenoidy a fykobilíny. Popis jednotlivých skupin následuje níže. Kompletní přehled obrázků je uveden v obrazové příloze.

2.2.1 Chlorofyly (Chl)

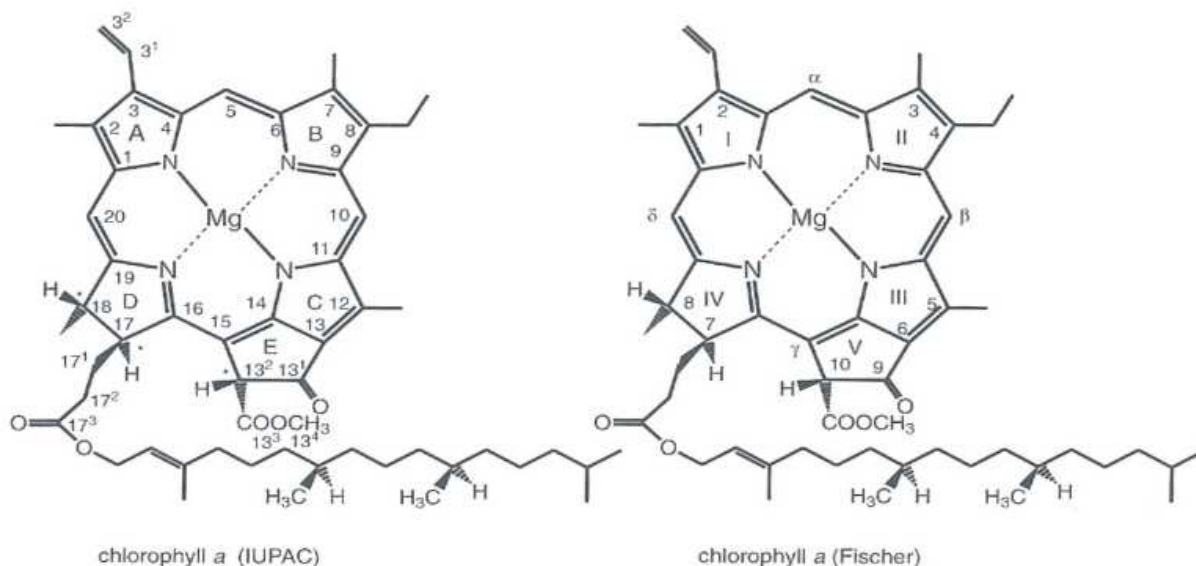
Základ každého chlorofylu [7] je tvořen téměř planární strukturou tetrapyrolového kruhu (šířka 10 Å). Hořčík uprostřed je koordinován se čtyřmi dusíkatými atomy, jenž jsou každý součástí čtyř pyrolů chlorofylu (viz obrázek 4). Proto jsou chlorofylové molekuly zařazovány mezi tetrapyroly. Často se setkáváme se zařazením k porfyrinům. Porfyriny [19, 26-29] jsou ale obecně více symetrické molekuly. K centrálnímu makrocyklu (čtyři pyrolová jádra v kruhu – A, B, C a D) je připojen další pětičetný kruh, nazývaný izocyklus a označovaný písmenem E. Na pyrolu D je připojen alkoholový zbytek tzv. fytylový řetězec – dlouhý uhlíkovodíkový řetězec složený ze čtyř izoprenových jednotek. Ke kruhu je vázán esterickou vazbou.

Biosyntéza molekuly chlorofylu *a* probíhá v sedmnácti krocích, základním kamenem je kyselina δ -aminolevulinová.



Obr. 4: Molekula chlorofylu a. Hlavičku chlorofylu tvoří kruh čtyř pyrolů a pátý přidružený cyklus. Jednotlivé chlorofyly se od sebe vzájemně liší substituenty na tetrapyrolovém jádře. Součástí chlorofylu je i zpravidla dlouhý uhlovodíkový řetězec, udržující molekulu v membráně.

Každý z kruhů má standardní označení a číslování atomů. V této práci používám označení dle IUPAC (viz obrázek 5).



Obr. 5: Standardní označení atomů a cyklů v molekule chlorofylu. Stejné číslování i popis platí i v případě bakteriochlorofylu.

Pojmenování „chlorofyl“ bylo poprvé použito Pelletierem a Caventouem v roce 1818 pro popis zelených pigmentů obsažených ve fotosyntéze vyšších rostlin. Známe čtyři základní

varianty lišící se svými substituenty na jednotlivých kruzích v makrocyklu. Chlorofyly se označují malými písmenky arabské abecedy – od *a* po *d*, a to v pořadí jejich objevení.

- *Chlorofyl a* se vyskytuje se ve všech známých eukaryotních fotosyntetických organismech. V prokaryotních je ve větším množství pouze u cyanobakterií. Chlorofyl *a* zastává významnou roli při přenosu elektronu a tvoří reakční centra fotosystémů. Hojně je však zastoupen i v integrálních anténních komplexech.
- *Chlorofyl b* má maximum absorpce díky formylu (-CHO) na atomu C-7 (viz obrázek 5) posunuto do kratších vlnových délek. Jde o nejvíce zastoupený světloabsorbující pigment ve většině eukaryotických fotosyntetických organismech (s výjimkou červených a hnědých řas). Je obsažen v přídatných anténách (ty lze od RC oddělit).
- *Chlorofyl c* je považován za nejméně obvyklý chlorofyl, nejvíce se liší tím, že neobsahuje ani redukovanou vazbu na kruhu D ani ftylový řetězec. Jde o přídatný světloabsorbující pigment mořských řas. Je známo několik strukturních modifikací, které mají velice podobné spektrální vlastnosti.
- *Chlorofyl d* se vyskytuje v červených mořských řasách a je možné ho považovat za energetický a strukturní mezistupeň mezi chlorofyly a bakteriochlorofyly. Jeho absorpční maximum se nachází v červené oblasti položeno u nejdelších vlnových délek ze všech chlorofylů.

Za studie související se strukturou pigmentů byly dány tři Nobelovy ceny. V roce 1915 získal cenu R. Willstätter (Německo, Mnichov) za studium rostlinných pigmentů, zejména chlorofylu. Roku 1930 byla cena udělena H. Fischerovi (Německo, Mnichov) za výzkumy chemické stavby hemoglobinu a chlorofylu. Zatím poslední Nobelova cena v oblasti výzkumu chlorofylů byla dána v roce 1965, získal ji R. Woodward (USA, Cambridge - Massachusetts) za výsledky v oblasti organické syntézy.

Spektrální vlastnosti

Chlorofylové spektrum je charakteristické tzv. Soretovým pásem v oblasti 350 nm až 450 nm [1, 7] a dvěma pásy v červené oblasti okolo 660 nm.

Chlorofyly a bakteriochlorofyly jsou deriváty porfyriu a je tedy možné spektrální vlastnosti molekul chlorofylového typu vysvětlit obdobným způsobem jako je uváděno u porfyriu. S relativně jednoduchým modelem, zvaným „čtyřorbitalový model“, přišel v šedesátých letech Gouterman [27-29]. Podle něj je spektrum porfyriu výsledkem lineární

kombinace jednoelektronových přechodů mezi dvěma nejvyššími obsazenými a dvěma nejnižšími neobsazenými π -orbitaly (HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1).

Výsledkem jsou čtyři možné elektronové přechody označované Q_y , Q_x a dva B (Soretův pás). Elektronové přechody mají přechodové dipólové momenty s různou oscilátorovou silou a orientací, Soretův pás je složen z příspěvků o různé polarizaci. Spektrální čáry ve viditelné a blízké infračervené oblasti, tzv. Q pásy, pochází od rozdílů, B resp. Soretovy pásy v blízké ultrafialové oblasti ze součtu kombinací přechodů.

U symetrického porfyriu (symetrie D_{4h}) nastává degenerace energetických hladin HOMO a HOMO-1. Pro substituované porfyryny, jakými jsou chlorofyly a bakteriochlorofyly je symetrie nižší a degenerace energetických hladin je sejmuta.

Spektrální vlastnosti chlorofylů i bakteriochlorofylů (poloha a výška absorpčních pásů) závisejí výrazně na povaze prostředí, v němž jsou barviva umístěna. Spektra se liší s druhem rozpouštědla a jeho polaritou.

2.2.2 Bakteriochlorofyly (BChl)

Rozlišení základních variant bakteriochlorofylů [1, 7] je jako u molekul chlorofylů prostřednictvím malých písmenek arabské abecedy a to od *a* po *g*; též v pořadí jejich objevení.

Svou strukturou jsou velmi podobné chlorofylům. Konjugace cyklu je ale menší, což má samozřejmě vliv i na podobu absorpčních spekter. Jednoduchá vazba z původní dvojné je nejenom na kruhu D ale i na kruhu B.

- *Bakteriochlorofyl a* se vyskytuje u anoxygenních fotosyntetických bakterií. Obdobně jako chlorofyl *a* zastává významnou roli při přenosu elektronu a tvoří reakční centra fotosystémů bakterií. Je obsažen také v anténních komplexech, zejména zelených sírných bakterií.
- *Bakteriochlorofyl b* je možné najít pouze u některých purpurových bakterií. Absorbuje na nejdelších vlnových délkách ze všech pigmentů chlorofylového (Chl+BChl) typu – mezi 950 nm a 1050 nm *in vivo*.
- *Bakteriochlorofyly c, d, e, (f)* se uvádějí ve skupině, jelikož byly nalezeny pouze u zelených fotosyntetických bakterií v anténních komplexech tzv. chlorosomech. Strukturální změny jsou spojeny s požadavkem možnosti lepší agregace těchto bakteriochlorofylů do uvedených komplexů. Absorpční maximum klesá ve vlnových

délkách od bakteriochlorofylu *c* po bakteriochlorofyl *e*. Místo fytylového zbytku je na stejném místě připojen farnesol (3,7,11-trimetyldodeka-2,6,10-trien-1-ol). Chlorofyl *f* se uvádí jako logické doplnění sady bakteriochlorofylů, nebyl však ještě nalezen v žádném fotosyntetickém organismu.

- *Bakteriochlorofyl g* se vyskytuje u anoxygenních heliobakterií. Je to strukturní hybrid chlorofylu *a* a bakteriochlorofylu *b*. Je nestálý a rozpadá se na chlorofyl *a*. Místo fytylového zbytku, stejně jako bakteriochlorofylu *c*, *d*, a *e*, esterifikovaný farnesol.

Spektrální vlastnosti

Spektrální vlastnosti bakteriochlorofylů jsou značně podobné chlorofylovým spektrálním vlastnostem, které již byly uvedeny výše. Také je pro jejich popis možno použít čtyřorbitalový model.

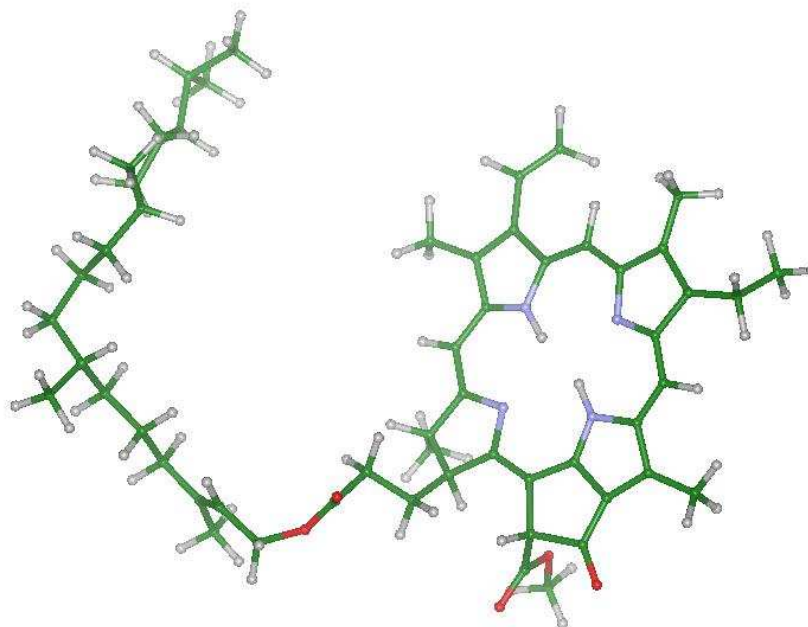
Pro spektrum nejvýznamnější je rozdíl, který je způsoben redukcí dvojně vazby na jednoduchou na kruhu B. Rozdělení energetických hladin je jiné. Ve spektru to způsobí posun červených čar k delším vlnovým délkám a posun Soretova pásu ke kratším vlnovým šířkám.

2.2.3 Feofytin a bakteriofeofytin

Ke každému chlorofylu či bakteriochlorofylu náleží i příslušný feofytin, resp. bakteriofeofytin. Mají stejnou strukturu jako molekuly chlorofylu a bakteriochlorofylu, pouze centrální Mg^{2+} je nahrazen dvěma vodíky. Označení jednotlivých feofytinů a bakteriofeofytinů je odvozeno od podobnosti příslušných molekul. Feofytiny a bakteriofeofytiny jsou vytvořeny během degradace chlorofylů [1, 3] a bakteriochlorofylů, nejčastěji jako první produkt. Protože jsou nepostradatelnou složkou některých reakčních center, uvažuje se o tom, že mohou též vznikat určitou specifickou cestou, ačkoli to ještě nebylo potvrzeno. Jsou akceptory elektronů a v řetězci přenašečů jsou umístěny v místech, kde molekuly chlorofylového typu nepracují.

Spektrální vlastnosti

Spektrální vlastnosti bakteriochlorofylů jsou blízké jim podobným chlorofylům. Spektra se liší jen posunem poloh jednotlivých pásů.



Obr. 6: Struktura molekuly feofytinu a. Od molekuly chlorofylu a se liší nahrazením centrálního hořčíku dvěma vodíky.

2.2.4 Karotenoidy

Karotenoidy lze najít ve všech živých fotosyntetických organismech. Mají mnoho funkcí [1, 3, 8-10] a jejich přítomnost ve fotosyntéze je nezbytná. Konkrétní funkce se odvíjí od jejich umístění v membráně. Důležitá je též orientace vůči ostatním molekulám v pigment-proteinových komplexech.

Karotenoidy mají následující funkce:

1. Zachycují světelné záření ve spektrálních oblastech jim vlastních (oblast absorpce je dána strukturou pigmentu), přenášejí excitační energii na pigmenty chlorofylového typu a dále do reakčního centra.
2. Mají ochrannou funkci, která spočívá ve schopnosti zhaset excitaci tripletního stavu chlorofylu, jehož spontánní deexcitace by jinak v aerobním prostředí vedla ke vzniku velmi reaktivního singletního kyslíku a následnému nevratnému poškození buněčného organismu.
3. Regulují přenos excitační energie prostřednictvím tzv. xantofylového cyklu. Jde o vratný proces, v němž dochází k efektivní změně délky konjugovaného systému, a tím ke

změně energie elektronových hladin. Proces je řízen protonovým gradientem přes membránu. V případě nadměrného osvětlení se díky tomuto procesu karotenoid stane pastí pro energie z chlorofylové molekuly.

4. Svou lineární strukturou napomáhají ke stabilizaci struktury proteinových komplexů.

Studium karotenoidů je též významnou oblastí výzkumu a stejně jako výzkum chlorofylů se i v této oblasti udělovaly Nobelovy ceny. V roce 1937 obdržel cenu P. Karrer (Curych) za výzkumy karotenoidů, flavinů a vitaminů A a B₂. Další cena byla udělena hned následující rok 1938 chemikovi R. Kuhnovi (Heidelberg) za práce o karotenoidech a vitamínech.

Syntéza karotenoidů probíhá výhradně v mikroorganismech a rostlinách. Patří mezi terpenoidy. Jejich uhlíková kostra je složena z osmi izoprenových jednotek, jenž jsou zařazeny do lineárního řetězce. Koncové části molekul často vytváří různé šestičtené kruhy (mezi druhým uhlíkem prvního a třetím uhlíkem druhého izoprenu), které jsou podle struktury označovány písmeny řecké abecedy. Cyklizace může proběhnout na jednom, ale i na obou koncích karotenoidové molekuly. S těmito cykly se setkáváme zvláště u oxygenní fotosyntézy.

Celou rozsáhlou skupinu těchto barviv je možné rozdělit na karoteny a xantofyly, jenž jsou kyslíkaté deriváty karotenů. Kyslíkové atomy jsou zde obsaženy v hydroxylových či epoxidových skupinách.

Karotenoidy jsou to sloučeniny značně nestálé. Pouze ve tmě a za nepřístupu vzduchu je možné je považovat za relativně stálé.

V této práci se zabývám následujícími molekulami:

- *Fytoen* (3), *neurosporen* (9) a *lykopen* (11) patří lineární karoteny a jsou tvořeny pouze izoprenovými jednotkami. Liší se délkou konjugovaných vazeb, tzv. chromoforu. Délka konjugace je uvedena v závorce.
- *Lykopen* a *β-karoten* mají délku chromoforu stejnou. Liší se jen kruhovým zakončením řetězce. Lykopen žádné takové nemá, za to *β-karoten* má na obou koncích kruh označovaný β .
- *Zeaxantin*, *antheraxantin* a *violaxantin* jsou barviva, která se účastní tzv. xantofylového cyklu. Jejich struktura se liší přítomností epoxy skupiny a tím i délkou chromoforové části molekuly.
- *Peridinin* a *fukoxantin* mají též základní strukturu stejnou. Obsahují ale dvě různé funkční skupiny – keto a lakto skupinu.

Tyto karotenoidy byly vybrány tak, aby bylo možné popsat základní vlivy struktury na elektronové spektrum.

Spektrální vlastnosti

Typickým zbarvením karotenoidů je žluté až červené – tedy spektrální oblast 400 nm až 500 nm [8, 9].

Delokalizovaný π -elektronový systém, jenž je odpovědný za absorpci ve viditelné části spektra, se nazývá „chromofor“. U jednotlivých karotenoidů je různě dlouhý.

Pro spektroskopii jsou nejvýznamnější dvě poměrně nízko ležící elektronové hladiny singletních excitovaných stavů. Z teorie [9] vyplývá, že absorpční a emisní spektra jsou spojeny s rozdílnými excitovanými stavy. Takže ačkoli je stav 1^1B_u je odpovědný za silný absorpční pás, je zde jiný, extrémně slabý, excitovaný stav, který leží energeticky níže. Jinak řečeno, singletní stav spojený s přechodem elektronu z HOMO do LUMO není nejnižší ležící excitovaný singletní stav a díky rozdílné symetrii od základního stavu je přechod do něj povolen. Naproti tomu přechod mezi základním a prvním excitovaným singletním stavem $S_0 \rightarrow S_1$ je dipólově zakázaný, protože jde o přechod mezi hladinami o stejné symetrii. Na absorpčním spektru se tedy uplatní až přechod do druhého singletního stavu S_2 .

Rozdíl v excitačních energiích pro *cis* a *trans* izomery jsou malé v porovnání s rozdílem, jenž je způsoben přidáním či odebráním konjugované dvojné vazby.

2.2.5 Fykobilíny

Fykobilíny jsou otevřená tetrapyrolová barviva [1-3]. Jejich molekula má tvar přeštípnutého prstence. Vznikají oxidačním otevřením porfyrinového kruhu. Tetrapyrolový makrocyklus se roztrhne a je překroucen do téměř lineární konformace.

Fykobilíny jsou součástí světlozachycujících anténních komplexů, tzv. fykobilisomů. Přenos energie ve fykobilisomech probíhá po spádu energetického gradientu. Fykobilisomy navíc obsahují proteiny zvané linkery, které ladí absorpci biliproteinů podle světelných podmínek. U živočichů se též můžeme setkat s bilíny. Tam bývají produktem rozpadu hemu a jsou známy jako žlučová barviva.

Bilíny jsou jako jediné pigmenty vázány kovalentně k proteinům. Navázání je uskutečněno prostřednictvím thioesterové vazby ke specifické aminoskupině, kterou je

cystein. Všechny fykobilíny jsou takto vázány přes vinyl na kruhu A. Ve většině se vyskytuje vazba k proteinu pouze jedna, ale u fykoerytobilínu je známa ještě druhá taková vazba a to ke kruhu D.

Tři uhlíkové můstky mezi pyrolovými jádry mohou mít obě vazby jednoduché, nebo jednu jednoduchou a druhou dvojnou. Molekula fykocyanobilínu má všechny tři můstky má nenasycené, dva můstky s nenasycenou vazbou má skupina bilínů, kam patří fykoerytobilín.

Fykobiliproteiny můžeme rozdělit do čtyř skupin – allofykocyaniny, fykocyaniny, fykoerytrocyaniny a fykoerytriny.

Vyskytují se v sinicích a ruduchách. V mé práci jsme se zaměřili na dva bilíny:

- *Fykoerytobilín* má jen dva nasyčené můstky mezi pyrolovými jádry. K bílkovině je možné jedno i dvojí navázání kovalentní vazbou.
- *Fykocyanobilín* má všechny můstky mezi pyrolovými jádry nasyčené a k bílkovině je vždy vázán pouze jednou vazbou.

Spektrální vlastnosti

Spektrální oblast absorpce bilínů [3] je mezi 550 nm až 650 nm. Rozdíly v absorpčních vlastnostech fykobiliproteinů nejsou ani tak dány nepříliš významnými rozdíly ve struktuře samotných molekul fykobilínů, ale především jejich interakcemi s bílkovinou, k níž jsou kovalentně vázány.

Ve fykobiliproteinech jsou fykobilínové molekuly v různé míře nataženy a s natažením molekuly se výrazně mění i její absorpční vlastnosti.

Nejčastějšími chromofory fykobiliproteinů jsou modrý fykocyanobilínu s maximem absorpce v oblasti 600 nm až 670 nm, červený fykoerytobilín s oblastní maxima absorpce mezi 540 nm a 570 nm nebo červený fykourobilín s maximem absorpce mezi 490 nm a 500 nm.

3. Teoretický úvod

Využití výpočetní techniky v experimentálních a teoretických oblastech přírodních věd se v současné době stalo nedílnou součástí výzkumné práce vědeckých pracovníků. Stále větší uplatnění nachází také směr výzkumu, v němž je klasický experiment nahrazen počítačovou simulací či svými výsledky napomáhá klasické chemii v oblastech, kde by experimentální řešení bylo obtížné nebo ekonomicky či časově náročné. Kvantová chemie je právě takovouto oblastí.

3.1 Formalismus kvantové chemie

Na začátku 19. století byla experimentálně zpochybněna nedělitelnost atomu. V roce 1911 navrhl anglický fyzik E. Rutherford první model atomu a v roce 1913 tento model zdokonalil dánský fyzik N. Bohr, když zavedl kvantování energie.

Vznikla tedy nutnost vytvořit novou mechaniku, jenž by platila v oblastech mikrosvětla (a její limita zároveň i v makrosvětě). Základy kvantové mechaniky položili německý fyzik W. Heisenberg a rakouský fyzik E. Schrödinger, když v letech 1925 a 1926 publikovali fundamentální myšlenky kvantové teorie.

Kvantová chemie [30-32] je aplikací kvantové mechaniky pro výpočet vlastností atomů a molekul a jejich interakcí, které popisuje jako systémy elektronů a (bodových) jader. Většina kvantově-chemických metod se zabývá řešením nerelativistické stacionární Schrödingerovy rovnice (SR)

$$\hat{H}\Psi = E\Psi. \quad (3.1.1)$$

V rovnici (3.1.1) je E energetický stav systému, Ψ vlnová funkce (daná strukturou molekuly) a H je Hamiltonův operátor, krátce hamiltonián.

Hamiltonián systému N elektronů a M jader (zapsaný v atomových jednotkách) má tvar

$$H = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}, \quad (3.1.2)$$

V rovnici (3.1.2) i, j označují elektrony a A, B jádra, M_A je poměr hmotnosti jádra A k hmotnosti elektronu a Z_A je náboj jádra. První člen v rovnici (3.1.2) je operátor kinetické energie elektronů, druhý je operátor kinetické energie pro jádra, třetí reprezentuje coulombickou interakci mezi elektrony a jádry, čtvrtý a pátý člen představuje repluzi mezi elektrony a mezi jádry.

Nalézt přesné analytické řešení SR obecně není možné. Předmětem kvantové teorie molekul zůstává především nalezení numerického řešení a proto obsahují kvantově mechanické metody několik různých matematických aproximací.

3.1.1 Atomové jednotky

V této práci jsou, pokud tomu nebude řečeno jinak, použity tzv. atomové jednotky. Používání systému těchto jednotek bylo vynuceno praktickým prováděním výpočtů, jenž vyžadují přesnost na daný počet cifer. Použití jednotek SI ve výpočetních programech by tedy nevyhnutelně vedlo k numerickým nesrovnalostem. Atomové jednotky nejsou v souladu s přijatým systémem jednotek SI. Převodní konstanty pro atomové jednotky do jednotek SI jsou v následující tabulce.

V eličina	Převodní faktor do SI	Hodnota převodního faktoru v SI
E nergie	Hartree	$4,3598 \cdot 10^{-18} \text{J}$
N áboj	e	$1,6022 \cdot 10^{-19} \text{C}$
H motnost	m_e	$9,1095 \cdot 10^{-31} \text{kg}$
\hbar	\hbar	$1,0546 \cdot 10^{-34} \text{J}\cdot\text{s}$

V případě používání délek jsem respektovala v tomto oboru nejčastěji používané jednotky - pro délky vazeb krystalografickou jednotku Å ($1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$). Pro popis vlnových délek ve spektrech jsem použila jednotku nm. Uvědomuji, si že používání rozdílných jednotek, které navíc nejsou některé jednotkami SI, je v určitém rozporu. V textu jsou však použity tak, aby čtenáři čtení textu spíše usnadnilo.

3.1.2 Born-Oppenheimerova aproximace

Born-Oppenheimerova aproximace [31, 32] se považuje za centrální aproximaci kvantové chemie. Využívá skutečnosti, že jádra jsou mnohonásobně těžší než elektrony a pohybují se výrazně pomaleji a ve výpočtech odděluje pohyb jader a elektronů v molekule.

Rozdíl hmotností elektronů a jader je nejméně tři řády. V prvním přiblížení si můžeme představit, že se elektrony pohybují v poli nehybných jader (jež jsou umístěny ve svých středních hodnotách) a naopak, z pohledu jader, rychle se pohybující elektrony vytvářejí pro jádra efektivní pole. Tyto předpoklady nám umožňují separaci proměnných vlnové funkce v rovnici (3.1.1). Vlnovou funkci pak můžeme přepsat na tvar

$$\Psi(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_A\}) = \Phi^{elec}(\{\mathbf{r}_i\}) \cdot \Phi^{nucl}(\{\mathbf{R}_A\}), \quad (3.1.3)$$

kde jsme ji převedli na součin jaderné a elektronové části.

Díky separaci závisí nyní elektronová vlnová funkce na poloze jader jen parametricky. Dosadíme-li tuto vlnovou funkci do rovnice (3.1.1) dostáváme rovnici, jež odpovídá tzv. adiabatické aproximaci. Pokud dále uvažujeme, že se část vlnové funkce pro elektrony mění s polohou jader jen málo, dojdeme k rovnici, jež je vyjádřením Born-Oppenheimerovy aproximaci.

Adiabatická i Born-Oppenheimerova aproximace jsou v kvantové chemii dostatečně jemné aproximace.

3.1.3 Vlnová funkce

Přesně řešit SR je pro větší systémy téměř nemožné, neboť pohyb elektronů je díky členům r_{ij}^{-1} vzájemně provázaný. Proto jako další přiblížení zavádíme popis předpokládající, že každý elektron se v poli pevných jader pohybuje nezávisle ve zprůměrovaném poli ostatních elektronů. Pro toto se hodí následující popis.

Vlnová funkce popisující soubor n elektronů má tvar antisymetrizovaného součinu n jednočásticových funkcí – Slaterova determinantu [31, 32]. Jednoelektronová funkce (spinorbital) je popisována čtyřmi proměnnými: třemi prostorovými souřadnicemi elektronu a spinovou proměnnou nabývající hodnot $\pm 1/2$. Volba Slaterova determinantu samozřejmě respektuje požadavek antisymetrie (Pauliho vylučovací princip).

Jsou-li spinorbitaly normovány má příslušný Slaterův determinant tvar

$$\Phi(x_1 \dots x_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \cdots & \chi_N(x_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(x_N) & \cdots & \chi_N(x_N) \end{vmatrix}. \quad (3.1.4)$$

Přesné řešení SR lze získat rozvojem do úplné báze sestavené ze Slaterových determinatů

$$|\Psi\rangle = \sum_{n=1}^{\infty} C_n |\Phi_n\rangle. \quad (3.1.5)$$

Nekonečná řada není z výpočetního hlediska nejvýhodnější. Z tohoto důvodu byly vyvinuty nejrůznější metody, popsané níže, jak rozvoj (3.1.5) co nejlépe a přitom v rozumném čase aproximovat.

3.1.4 Molekulové orbitály jako lineární kombinace atomových orbitalů (MO-LCAO)

Molekulové orbitály $\psi_i(\mathbf{r})$ se obvykle charakterizují jako lineární kombinaci atomových orbitalů $\phi_\mu(\mathbf{r})$ lokalizovaných na jednotlivých atomech [31, 32], tj. metoda MO-LCAO (molecular orbitals – linear combinations of atomic orbitals). Při použití metody MO-LCAO vyjadřujeme molekulové orbitály pomocí konečné báze jednoelektronových funkcí, jenž nemusí být obecně ortogonální

$$\Psi_i = \sum_{\mu} c_{i\mu} \phi_{\mu}, \quad (3.1.6)$$

kde ϕ_{μ} jsou už jednoduché analytické funkce, tvořící úplný systém. Zkušenosti ukazují, že nejvhodnější bázi tvoří atomové orbitály lokalizované na jednotlivých jádrech, neboť vlnová funkce si v blízkosti jádra zachovává atomární charakter. Použití těchto funkcí má výhodu zejména v rychlé konvergenci tohoto rozvoje. Rozvoj (3.1.6) pak stačí aproximovat jen relativně velmi malým počtem funkcí, což je zásadní pro rychlost výpočtu.

Další podmínkou pro dosažení rychlé konvergence rozvoje (3.1.6) je volba vhodného tvaru rozvojových funkcí.

Báze s nejmenším možným počtem prvků se nazývá minimální. Bázi, ve které každému orbitalu přísluší dvě funkce, říkáme báze DZ (double-zeta).

3.2 Báze atomových orbitalů

Jako funkce báze lze použít přímo atomové orbitaly získané přesným řešením Schrödingerovy rovnice pro atom vodíku, které mají správné chování pro $r \rightarrow 0$ i chování pro $r \rightarrow \infty$. Ty jsou ale pro praktické výpočty příliš složité.

Pro funkci popisující atomový orbital lze také použít rozvoj do řady známých funkcí [31, 32]. Použité funkce musí přibližně respektují tvar funkcí vodíkového typu, ale pochopitelně musí být z výpočetního hlediska jednodušší. Obecně platí, že čím víc je funkcí báze, tím je výpočet pomalejší. S vyšším počtem bázových funkcí se ale dosahuje vyšší přesnosti vypočtených dat.

3.2.1 Slaterovy a Gaussovské funkce

Širokého použití se dočkaly Slaterovy funkce (STO = Slater type orbital)

$$R(r) = (2\zeta)^{n+1/2} \frac{1}{\sqrt{(2n)!}} r^{n-1} e^{-\zeta r}, \quad (3.2.1)$$

kde ζ je Slaterův exponent, jehož hodnoty jsou tabelovány. Ve výpočtech se však téměř výhradně používají funkce Gaussova typu (GTO) ve tvaru

$$R(r) = N r^n e^{-a(r-r_A)^2}, \quad (3.2.2)$$

kde N je normalizační faktor a r_A poloha jádra A .

Gaussovské funkce mají tu výhodu, že součinem dvou funkcí lokalizovaných na centrech A a B je opět gaussovská funkce. Tím se zvyšuje rychlost výpočtu vícecentrových integrálů, jenž se redukují na jedno- a dvoucentrové.

Přes značnou výpočetní výhodu nemají Gaussovy funkce správné chování v blízkosti jádra, ani ve velkých vzdálenostech od něj. Proto je třeba použít větší počet funkcí báze. Často používaným přístupem je použití kontrakce několika funkcí Gaussovského typu k aproximaci jedné funkci Slaterova typu.

V této práci se vychází z báze 6-31G, ve kterých jsou vnitřní orbitaly reprezentovány kontrakcí šesti gausiánů a každému valenčním orbitalům přísluší dvě funkce.

3.2.2 Polarizační a difúzní funkce

Ukazuje se, že báze složená pouze z obsazených atomových orbitalů je nedostačující. A je potřeba dalších modifikací báze. Ve výpočtech se osvědčily tzv. polarizační a difúzní funkce.

Označení polarizační funkce se používá pro funkce p -, d -, f -typu, jenž jdou nad minimální bázi. Použití polarizačních funkcí znamená například, že k atomu vodíku se přidá ještě p -funkce a k p -prvkům se přidávají d -funkce. Jsou důležité pro popis aniontů a excitovaných stavů. V popisu báze se zapisují hvězdičkou.

Difúzní funkce dovolují lepší popis slabě vázaných elektronů ve větší vzdálenosti od jádra. V zápisu báze jsou ve formě symbolu plus.

Báze 6-31+G*, použitá v této práci pro geometrické optimalizace, obsahuje oproti 6-31G polarizační funkce na všech atomech kromě vodíkových.

4. Výpočetní metody

4.1 Hartree-Fockova metoda (HF)

V roce 1930 D. Hartree a V. Fock vypracovali metodu selfkonzistentního pole (SCF). Tato metoda se také nazývá Hartree-Fockova metoda a zavádí přiblížení, usnadňující řešení Schrödingerovy rovnice.

Hartree-Fockova metoda spočívá v aproximaci rozvoje (3.1.5) jediným determinantem $|\Phi^{HF}\rangle$ ve tvaru Slaterova determinantu (3.1.4), který popisuje systém neinteragujících částic. Předpokládaný tvar stacionární vlnové funkce má však v případě interagujících částic jen přibližnou platnost, pohyb jednotlivých částic není totiž nezávislý. Variačním principem nalezneme soubor spinorbitalů takových, že z nich vytvořený Slaterův determinant je nejlepší možnou aproximací základního stavu N -elektronového systému. Minimalizace energie $\langle \Phi^{HF} | \hat{H} | \Phi^{HF} \rangle$ vede k systému tzv. Hartree-Fockových rovnic

$$f_a(i) \chi_a(x_i) = \varepsilon_a \chi_a(x_i). \quad (4.1.1)$$

Konkrétní vyjádření těchto rovnic však závisí na daném studovaném systému.

Fockův operátor f se od původního hamiltoniánu liší v nahrazení členů r_{ij}^{-1} efektivním potenciálem v^{HF} , jenž simuluje způsob jakým ostatní elektrony působí na elektron a .

$$f_a(i) = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_A \frac{Z_A}{r_{iA}} + v^{HF}(i), \quad (4.1.2)$$

$$v_a^{HF}(i) = \sum_b^{occ} (J_b(i) - K_b(i)). \quad (4.1.3)$$

V rovnicích je J_b coulombovský operátor, který popisuje lokální potenciál v místě x_i od elektronu ve spinorbitalu χ_b

$$J_b(i) \chi_a(i) = \left[\int d\mathbf{x}_2 \chi_b^*(2) r_{i2}^{-1} \chi_b(2) \right] \chi_a(i) \quad (4.1.4)$$

a K_b je výměnný operátor popsany rovnicí

$$K_b(i) \chi_a(i) = \left[\int d\mathbf{x}_2 \chi_b^*(2) r_{i2}^{-1} \chi_a(2) \right] \chi_b(i). \quad (4.1.5)$$

Každá z Hartree-Fockových rovnic (4.1.1) odpovídá stacionární SR pro jediný elektron. Každý elektron se z pohledu Hartree-Fockovy metody pohybuje nezávisle (díky separaci proměnných v determinantu) v poli jádra a současně v jakémsi středním poli reprezentujícím jeho interakce s ostatními elektrony. Protože je pole ovlivňováno i samotnými jednoelektronovými funkcemi, hovoříme o tomto poli jako o poli selfkonzistentním.

Parametry ε_a vyskytující se na pravých stranách Hartree-Fockových rovnic (4.1.1) hrají roli vlastních jednoelektronových energií. Jsou to zároveň vlastní čísla Fockova operátoru. Dostáváme pro ně výraz (s využitím zkrácené notace)

$$\varepsilon_i = \langle i | h | i \rangle + \sum_b \langle ib | | ib \rangle. \quad (4.1.6)$$

Jejich součet však není roven celkové energii studovaného systému v základním stavu. V součtu jednoelektronových energií jsou totiž příspěvky odpovídající vzájemné interakci libovolné dvojice elektronů nesprávně započteny dvakrát.

Celková energie systému popsaného v Hartree-Fockově přiblížení je rovna

$$E_{HF} = \sum_i^N \varepsilon_i - \frac{1}{2} \sum_i^N \sum_b^N \langle ib | | ib \rangle + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}. \quad (4.1.7)$$

Energii základního stavu dostaneme dosažením nejnižších vlastních energií ε_a z rovnic (4.1.1) a jim odpovídajících vlastních funkcí χ_a do výrazu (4.1.7). Slaterův determinant Ψ_0 popisující základní stav je tvořen antisymetrizovaným produktem funkcí $\{\chi_a\}$.

Vzhledem k závislosti operátoru \hat{f} na vlastních funkcích je nutné řešit Hartree-Fockovy rovnice iterativně k dosažení selfkonzistence. V praxi obvykle dosadíme rozvoj molekulových orbitalů do atomových do soustavy rovnic (4.1.1)

$$f_a(i) \sum_\nu C_{\nu a} \phi_\nu(i) = \varepsilon_a \sum_\nu C_{\nu a} \phi_\nu(i), \quad (4.1.8)$$

po úpravě získáme tzv. Roothanovy rovnice

$$\sum_\nu F_{\mu\nu} C_{\nu a} = \varepsilon_a \sum_\nu S_{\mu\nu} C_{\nu a}, \quad (4.1.9)$$

kde \mathbf{S} je tzv. překryvová matice a \mathbf{F} představuje Fockovu matici.

Pro další výpočty je užitečné si zavést *matici hustoty* \mathbf{P} a to následujícím vztahem

$$P_{\mu\nu} = 2 \sum_a^{N/2} C_{\mu a} C_{\nu a}^* . \quad (4.1.10)$$

Máme-li systém s rozdílným počtem elektronů pro oba spiny, platí pro matici hustoty modifikovaný vztah

$$P_{\mu\nu}^{\alpha,\beta} = P_{\mu\nu}^{\alpha} + P_{\mu\nu}^{\beta} = \sum_a^{N^{\alpha}} C_{\mu a} C_{\nu a}^* + \sum_a^{N^{\beta}} C_{\mu a} C_{\nu a}^* . \quad (4.1.11)$$

Zavedeme též *core-hamiltonián* \mathbf{H}^{core} , která obsahuje kinetickou energii a nukleární atrakci

$$H_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}^*(\mathbf{r}) H^{\text{core}}(\mathbf{r}) \phi_{\nu}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (4.1.12)$$

$$H_{\mu\nu}^{\text{core}} = T_{\mu\nu} + V_{\mu\nu}^{\text{nucl}} , \quad (4.1.13)$$

Fockova matice \mathbf{F} se jde díky takto definovaným maticím napsat, tak že se skládá z jednoelektronové části \mathbf{H}^{core} a z části dvouelektronové \mathbf{G} , která je funkcí matice hustoty \mathbf{P}

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu}^{\text{core}} + G_{\mu\nu} = H_{\mu\nu}^{\text{core}} + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma} \left[\langle \mu\sigma | \nu\lambda \rangle - \frac{1}{2} \langle \mu\sigma | \lambda\nu \rangle \right] . \quad (4.1.14)$$

Elektronová část energie systému je dána vztahem

$$E_{el} = \frac{1}{2} \sum_{\mu} \sum_{\nu} P_{\mu\nu} (H_{\mu\nu} + F_{\mu\nu}) . \quad (4.1.15)$$

Z uvedeného je opět vidět funkční závislost Fockovy matice na matici hustoty, respektive na rozvojových koeficientech (tedy na vlastních funkcích). Roothanovy rovnice nejsou díky tomu lineární

$$\mathbf{F}(\mathbf{C})\mathbf{C} = \mathbf{S}\mathbf{C}\mathbf{\epsilon} , \quad (4.1.16)$$

a jako u předchozích popisovaných rovnic je nutné soustavu těchto rovnic řešit iterativně k dosažení selfkonzistence.

V HF aproximaci není vzata do úvahy korelace pravděpodobnosti výskytu elektronů s opačným spinem, což je vážný nedostatek této metody. Rozdíl energií mezi přesným řešením a řešením SCF, způsobený nerespektováním korelace elektronů, se nazývá korelační energie. Přesným řešením rozumíme nejnižší nerelativistickou energii systému elektronů E_0 dosažitelnou pomocí hamiltoniánu (3.1.2) a přesným řešením metodou SCF rozumíme nejnižší energii dosažitelnou v rámci HF aproximace

$$E_{\text{corr}} = E_0 - E_{\text{HFL}} . \quad (4.1.17)$$

4.2 Semiempirické metody

Kvantově mechanické metody obsahují různé matematické přiblížení. Podle míry tohoto přiblížení rozeznáváme metody

- ab initio, kdy řešíme Schrödingerovu rovnici přímo. Těmto metodám je věnována následující kapitola, a
- semiempirické, které vycházejí z přesného hamiltoniánu, který je zjednodušen dodatečnými aproximacemi. Neřeší se tedy SR ale jen zjednodušené rovnice. Ve výpočtu jsou zahrnuty pouze valenční elektrony. V uvedených rovnicích jsou využívány empirické parametry (určené na základě experimentu). Ve výpočtech jsou pak nastaveny tak, aby získaná data ve shodě s experimentálními daty. Přitom se však nesmí narušit žádné fyzikální požadavky na strukturu. Důvodem používání semiempirických metod je velikost některých systémů, které by pro svou složitost nešly řešit ab initio metodami pomocí dnešních výpočetních prostředků.

První teoretické modely pracovaly pouze s π -elektrony, např. 1931 Hückelův model, nebo z něj vycházející PPP metoda, s kterou přišli v roce 1951 Pariser, Parr a Pople. V roce 1965 vytvořil Pople metodu CNDO, jež už do výpočtu zahrnovala všechny valenční orbitály. Následovala další Poplova metoda INDO, která vylepšuje předchozí metodu. Metoda INDO byla poté přepracována a znovu parametrizována M. Zernerem. Výsledkem byla metoda ZINDO, která je navíc schopna vypočítat viditelná a UV spektra.

Následující významnou semiempirickou metodou je metoda MINDO vytvořená roku 1975 M. Dewarem. O dva roky později byla metoda dále zpracována na metodu MNDO, již roku 1985 Dewar vylepšil zahrnutím van der Waalsovských interakcí a vodíkových vazeb. Novou metodu pojmenoval AM1. Tu přepracoval a parametrizoval v roce 1989 Stewart a vytvořil tím metodu PM3.

Zahrnutí pouze valenčních elektronů vyplývá z úvahy, která předpokládá, že elektrony vnitřních slupek jen elektrostaticky odstiňují atomová jádra.

Semiempirické metody je nutno používat s určitou opatrností, neboť často selhávají na systémech, pro které nebyly parametrizovány.

4.2.1 ZINDO

Metoda ZINDO [33-35] použitá v této práci vychází z aproximace metody INDO s parametrizací podle Zenera, která se jeví jako vhodná metoda pro výpočet molekul jakými jsou molekuly chlorofylového typu [26, 27, 29].

Metoda CNDO (complete neglect of differential overlap)

V této metodě předpokládáme, že je matice překryvu jednotková. Pro zmenšení počtu dvouelektronových integrálů typu $(\mu\nu | \rho\sigma)$ se zavádí aproximace tzv. nulového překryvu

$$(\mu\nu | \lambda\sigma) = \delta_{\mu\nu} \delta_{\lambda\sigma} (\mu\mu | \lambda\lambda). \quad (4.2.1)$$

Dále si zavedeme integrál γ_{AB} závisující na charakteru atomů A a B

$$(\mu\mu | \lambda\lambda) = \gamma_{AB}, \quad \mu \in A, \quad \lambda \in B. \quad (4.2.2)$$

Díky tomuto jsou splněny nezbytné podmínky invariance řešení vůči transformaci.

Použití této aproximace na všechny páry atomových orbitalů vede ke značnému zjednodušení Roothanových rovnic (4.1.9). Pro molekulu s uzavřenou slupkou platí

$$\sum_{\nu} F_{\mu\nu} c_{\nu i} = \varepsilon_i c_{\nu i}, \quad (4.2.3)$$
$$F_{\mu\mu} = H_{\mu\mu} - \frac{1}{2} \langle \mu\mu | \mu\mu \rangle + \sum_{\lambda} P_{\lambda\lambda} \langle \mu\lambda | \mu\lambda \rangle,$$
$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu} - \frac{1}{2} P_{\mu\nu} \langle \mu\nu | \mu\nu \rangle, \quad \mu \neq \nu.$$

Metoda se používá v určení vlastností základního stavu systémů nejrůznějšího typu – tzn. valenčních úhlů, deformačních vibrací, dipólových momentů a např. chemických posuvů NMR.

Metoda INDO (intermediate neglect of differential overlap)

V této metodě se na rozdíl od CNDO nezanedbávají jednocentrové dvouelektronové integrály, které jsou důležité pro výpočet energetického stavu molekuly. Stejně jako u všech semiempirických metod jsou explicitně zahrnuty pouze valenční elektrony a vnitřní slupky jsou uvažovány pouze jako modifikace jaderného potenciálu.

Parametrizování jednocentrových dvouelektronových intergrálů vede ke vztahům (pro otevřené slupky):

$$\begin{aligned} F_{\mu\mu}^{\alpha} &= U_{\mu\mu} + \sum_{\lambda, \sigma \in A} [P_{\lambda\sigma}(\mu\mu | \lambda\sigma) - P_{\lambda\sigma}^{\alpha}(\mu\mu | \lambda\sigma)] + \sum_{B(\neq A)} (P_{BB} - Z_B) \gamma_{AB}, \quad \mu \in A \\ F_{\mu\nu}^{\alpha} &= U_{\mu\nu} + \sum_{\lambda, \sigma \in A} [P_{\lambda\sigma}(\mu\nu | \lambda\sigma) - P_{\lambda\sigma}^{\alpha}(\mu\mu | \nu\sigma)], \quad \mu \neq \nu, \mu, \nu \in A \\ F_{\mu\nu} &= H_{\mu\nu} - P_{\mu\nu}^{\alpha} \gamma_{AB}, \quad \mu \in A, \nu \in B, A \neq B \end{aligned} \quad (4.2.4)$$

Jestliže dále použijeme valenční báze s , p , (d), je pak mnoho dalších dvouelektronových jednocentrových integrálů díky symetrii rovno nule. V těchto rovnicích pak zůstanou pouze integrály typu $(\mu\mu | \mu\mu)$, $(\mu\mu | \nu\nu)$ a $(\mu\nu | \mu\nu)$, $\mu \neq \nu$.

4.2.2 PM3

Metoda PM3 použitá v této práci vychází z aproximace metody NNDO.

Metoda NNDO (neglect of diatomic differential overlap)

V NNDO metodě se rozlišuje interakce orbitalů různých typů. Jsou zanedbány všechny integrály, v nichž je obsažen součin $\phi_{\mu}\phi_{\nu}$, kde jsou atomové orbitály lokalizovány na různých atomech. To znamená, že předpoklad nulového diferenciálního překryvu (4.2.1) platí pouze pro orbitály lokalizované na různých atomech. Ostatní dvouelektronové integrály se nezanedbávají.

Členy Fockovy matice mají tvar

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu} + \sum_B \sum_{\lambda, \sigma \in B} P_{\lambda\sigma}(\mu\nu | \lambda\sigma) - \frac{1}{2} \sum_{\lambda, \sigma \in A} P_{\lambda\sigma}(\mu\sigma | \nu\lambda), \quad \mu, \nu \in A, \quad (4.2.5)$$

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu} - \frac{1}{2} \sum_{\sigma \in A} \sum_{\lambda \in B} P_{\lambda\sigma}(\mu\sigma | \nu\lambda), \quad \mu \in A, \nu \in B, \quad A \neq B.$$

Dvoucentrové repulzní integrály $(\mu\sigma | \nu\lambda)$ reprezentují interakční energii mezi nábojovými hustotami $e\phi_\mu\phi_\sigma$ na atomu A a $e\phi_\nu\phi_\lambda$ na atomu B . Tato interakce se v metodách MNDO, AM1 a PM3 dále aproximuje multipólovým rozvojem.

Metoda PM3

Metoda PM3 vychází z metody NNDO, resp. z MNDO, která původní metodu znovu parametrizuje.

Modifikuje jadernou repulzní funkci přidáním dodatečných Gaussovských termů, což umožňuje lépe popsat repulzi mezi atomy v dosahu van der Waalových sil.

4.3 Ab initio metody

Pojem „ab initio“ pochází z latinského „od počátku“. Ab initio metody také řeší SR, ale na rozdíl od semiempirických metod nepoužívají experimentálních parametrů.

Teoretický základ ab initio metod začal budovat Slater zhruba v roce 1930. Slater popsal výpočet energie molekuly pomocí dnes označovaného Slaterova determinantu. Dalšími mezníky byly publikace Roothanových prací roku 1950 a Popleho prací roku 1965.

Popleho snažení vedlo roku 1979 k vytvoření programového balíku Gaussian [36, 37], jenž obsahuje ab initio i semiempirické metody.

4.3.1 Teorie funkcionálu hustoty (DFT)

Za zpracování DFT teorie dostal W. Kohn v roce 1998 Nobelovu cenu [38]. Spolu s ním získal cenu v tomto roce i J. Pople za objevy výpočetních metod v kvantové chemii.

Základní myšlenkou DFT metody úspěšné pro popis základního stavu je nahrazení vlnové funkce elektronovou hustotou, což je matematicky jednodušší objekt. Zatímco vlnová

funkce je složitá, komplexní a závislá na souřadnicích a spinech všech částic systému je funkce elektronové hustoty reálná a závislá pouze na třech souřadnicích. Elektronová hustota navíc odpovídá měřitelné veličině. Energie je potom pokládána za funkci elektronové hustoty.

Střední hodnotu elektronového operátoru f , který lze napsat jako součet jednoelektronových bezspinových operátorů

$$\hat{f} = \sum_i f_i, \quad (4.3.1)$$

lze vyjádřit ve tvaru

$$\int \hat{f} |\psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)|^2 d\tau = \int f_1 \rho(\mathbf{r}_1) d\mathbf{r}_1, \quad (4.3.2)$$

kde $\rho(\mathbf{r})$ jsou diagonální členy matice hustoty 1. řádu.

Obdobně lze postupovat i v případě elektronového operátoru, který je součtem dvouelektronových bezspinových operátorů

$$\hat{g} = \sum_{i < j} g_{ij}, \quad (4.3.3)$$

$$\int \hat{g} |\psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)|^2 d\tau = \int g_{12} \rho(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2, \quad (4.3.4)$$

kde $\rho(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2)$ jsou diagonální členy matice hustoty 2. řádu.

Protože lze hamiltonián napsat jako součet jedno a dvouelektronových operátorů, stačí nám k výpočtu celkové energie znát diagonální elementy matic hustot 1. a 2. řádu.

Dosud však byl problém nalézt příslušné matice hustot bez znalosti vlnové funkce. V principu je však jednodušší nalézt jednoelektronovou hustotu $\rho(\mathbf{r})$, jejíž znalost, jak se ukazuje, stačí k nalezení energie základního stavu.

DFT metoda je shledána jako velmi efektivní výpočetní metoda při řešení elektronové struktury složitých systémů.

4.3.2 Hohenbergův-Kohnův teorém

Velkým přínosem pro rozvoj teorie funkcionalu hustoty byl Hohenbergův-Kohnův teorém z roku 1964 [38].

Tento teorém říká, že vlnová funkce nedegenerovaného základního stavu mnohaelektronového systému je jednoznačným funkcionallem jednoelektronové hustoty

$$\begin{aligned}\psi &= \psi[\rho], \\ E[\rho] &= \langle \psi[\rho] | H | \psi[\rho] \rangle.\end{aligned}\tag{4.3.5}$$

Hlavní význam tohoto tvrzení je, že z něho plyne oprávněnost použití elektronové hustoty místo vlnové funkce. Důkaz tohoto tvrzení podávají autoři Hohenberg a Kohn ve svém článku z roku 1964 ve Physical Review.

Stejně jako pro vlnovou funkci, můžeme tedy i pro energii vyjádřenou jako funkcionál hustoty použít variační metodu a hledat hustotu tak, aby energie byla minimální.

4.3.3 Kohnovy – Shamovy rovnice

Pro matematický popis metody funkcionálu hustoty se používá Kohnových – Shamových rovnic [39], které byly svými autory představeny v roce 1965. Našel se tím sice způsob pro výpočet DFT metody, ale naproti tomu výraz pro energii obsahuje neznámý člen.

Předpokládáme hamiltonián systému ve tvar

$$H = T + U + V ,\tag{4.3.6}$$

kde T je operátor kinetické energie, U je operátor coulombovské energie a V je jednočásticový vnější potenciál, jenž lze zapsat ve tvaru

$$V = \int v(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) .\tag{4.3.7}$$

Celková hustota lze například vyjádřit součtem orbitálních hustot, podobně jako u HF

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^N |\psi_j(\mathbf{r})|^2 .\tag{4.3.8}$$

Pro navzájem neinteragující elektrony ve vnějším poli je energie je rovna

$$E = \sum_j \left\langle \psi_j(\mathbf{r}) \left| -\frac{\hbar^2}{2m} \right| \psi_j(\mathbf{r}) \right\rangle + \int v(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} .\tag{4.3.9}$$

Výraz lze přepsat do tvaru

$$E[\rho(\mathbf{r})] = T_s[\rho(\mathbf{r})] + \int v(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} .\tag{4.3.10}$$

Pro interagující elektrony je tento výraz

$$E[\rho(\mathbf{r})] = T_s[\rho(\mathbf{r})] + \int v(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} + \frac{e^2}{2} \int \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} d\mathbf{r}d\mathbf{r}' + E_{xc}[\rho(\mathbf{r})]. \quad (4.3.11)$$

První člen odpovídá kinetické energii pro neinteragující elektrony bez vnějšího pole, třetí člen představuje coulombovskou interakci a $v(\mathbf{r})$ je zastupuje hustotu vnějšího potenciálu. Poslední člen obsahuje všechny ostatní efekty (výměnný, korelační – tato metoda tedy částečně započítává korelaci, která není obsažena u HF metody). V principu je možné najít funkcionál E_{xc} takový, že energie získaná z Kohn-Shamových rovnic bude rovna Schrödingerově limitě. Na rozdíl od předchozí členů tento člen není znám a nebyl nalezen jednoduchý způsob, jak ho systematicky zlepšovat. To je úkol pro další teorie.

Variací poslední rovnice, dostaneme podmínku extrému funkcionálu energie

$$\frac{\delta E[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = \frac{\delta T_s[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})} + v(\mathbf{r}) + e^2 \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + \frac{\delta E_{xc}[\rho(\mathbf{r})]}{\delta \rho(\mathbf{r})}. \quad (4.3.12)$$

Předpokládáme, že funkcionál E_{xc} lze přibližně vyjádřit ve tvaru

$$E_{xc}[\rho(\mathbf{r})] = \int v_{xc}(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad (4.3.13)$$

kde $v_{xc}(\mathbf{r})$ je lokální potenciál (LDA – local density approximation, aproximace lokální hustoty).

Schrödingerova rovnice pak bude mít tvar (podmínka extrému)

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m} \Delta + v_{eff}(\mathbf{r}) \right] \psi_j(\mathbf{r}) = \epsilon_j \psi_j(\mathbf{r}), \quad (4.3.14)$$

kde je efektivní jednočásticový potenciál v_{eff} roven

$$v_{eff}(\mathbf{r}) = v(\mathbf{r}) + e^2 \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{xc}(\mathbf{r}). \quad (4.3.15)$$

Poslední člen v_{xc} se nazývá exchange-correlation potential. Potenciál $v_{xc}(\mathbf{r})$ lze aproximovat různými způsoby. Položíme-li v_{xc} rovno nule, přejdou uvedené vztahy na Hartreeho rovnice.

Vztahy (4.3.14) a (4.3.15) se nazývají Kohnovy-Shamovy rovnice. Řeší se iterační metodou k dosažení selfkonzistence.

4.3.4 DFT funkcionál

DFT funkcionál by měl být pouze funkcí hustoty, nebo její derivace. Podle toho rozdělujeme funkcionály na lokální (závislé jen na hustotě) a na nelokální (závislé i na její derivaci). Dále se můžeme setkat s tzv. hybridními funkcionály, jejichž částí je HF výměnná energie.

Nejjednodušším funkcionálem je lokální LSDA (local spin density approximation) a VWN (Vosko, Wilk, Nusair) korelační potenciál. Mezi nelokální funkcionály patří BPW91 (Becke, Perdew, Wang).

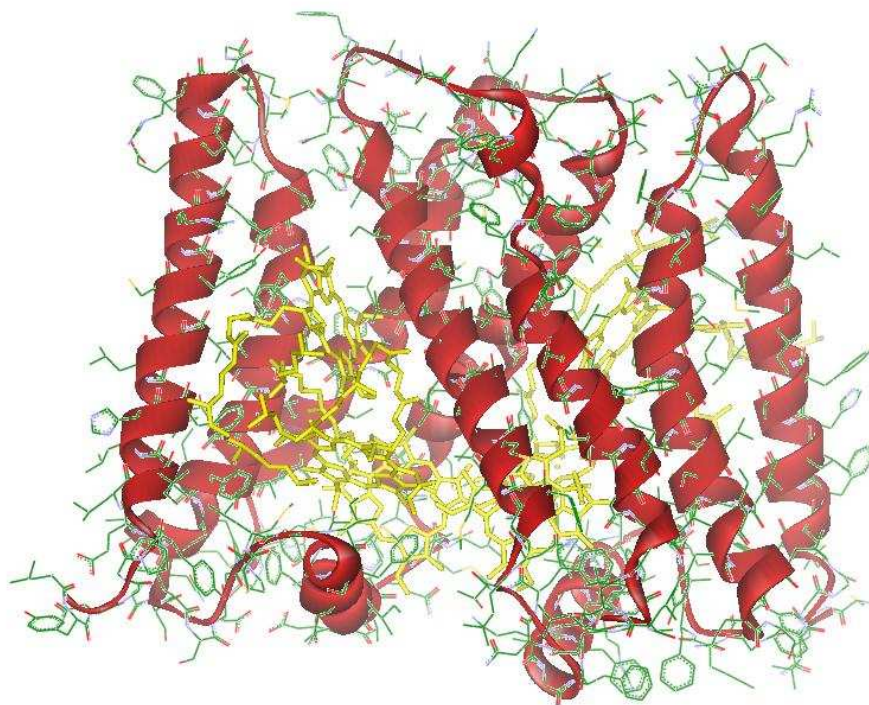
Pro chemické aplikace však dosáhlo největšího rozšíření použití hybridních funkcionálů. Zavedením parametrů je možné tyto funkcionály „doladit“. Velmi známý a výpočetně úspěšný je funkcionál Becke3LYP (Becke, Lee, Yang, Parr).

5. Studované modely

5.1 Reakční centrum – struktura 1DOP

Použitá struktura byla převzata z modelu 1DOP [6] – obrázek 7, který byl utvořen kombinací předpokladů o strukturní homologii mezi PSII a bakteriálního reakčního centra se spektroskopickými znalostmi tohoto komplexu. Důvodem sestavení modelu, který jsme převzali z proteinové databáze, byla snaha o úplné porozumění funkce fotosystému II ve fotosyntéze.

Část celé struktury, která podléhala našim výpočtům, obsahuje čtyři molekuly chlorofylu *a* a dvě molekuly feofytinu *a* ze středu RC. Podle experimentálních dat PS II RC není jasné kolik molekul chlorofylu *a* RC zahrnuje, ale uvažuje se o počtu šesti chlorofylů se dvěma feofytiny. Tyto další dva pigmenty se přímo neúčastní primárního rozdělení náboje a nachází se až na okraji struktury, proto se také nenachází v modelu 1DOP. A i v našich výpočtech jsme se zabývali pouze komplexem čtyř chlorofylů a dvou feofytinů (viz obrázek 8).

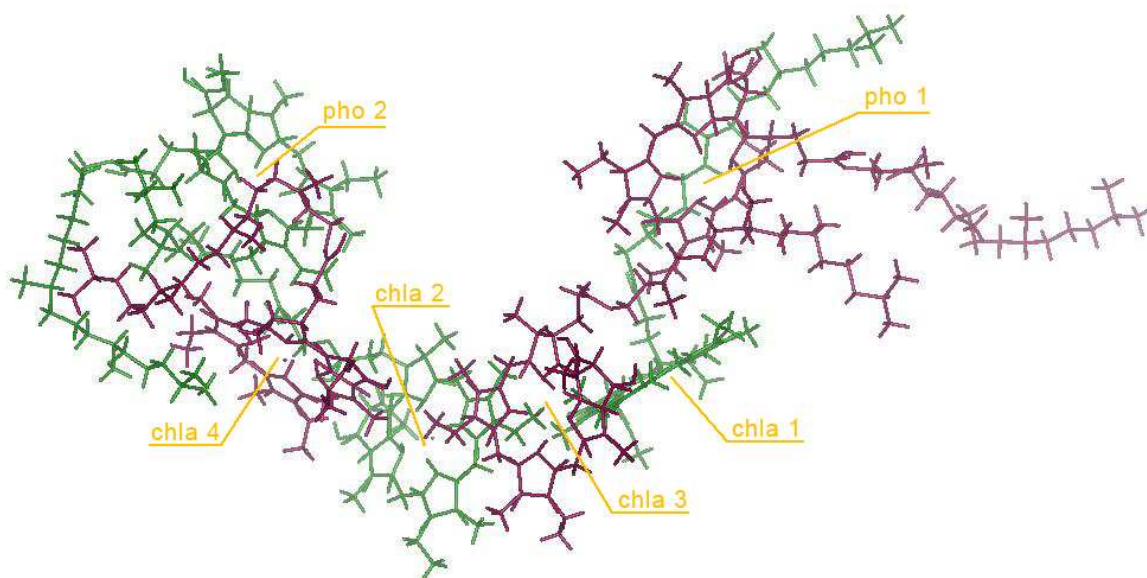


Obr. 7: Model 1DOP. Chlorofylo-feofytinový komplex (viz obrázek 8) se nachází mezi dvěma proteinovými jednotkami, zvýrazněnými na obrázku červenou barvou. Všechny Chl a BChl jsou označeny žlutou barvou.

5.1.2 Model systému chlorofylů a feofytinů

Komplex čtyř chlorofylů *a* a dvou feofytinů *a*, doplněný o vodíkové atomy, zahrnuje celkem 824 atomů. Převzatá struktura byla ve všech výpočtech držena pevná – pozice (nevodíkových) atomů byly fixovány. Optimalizačním procesům podléhaly jen přidané vodíkové atomy. Vzdálenost dvou chlorofylů v centrálním páru je 10,1 Å

Použité číslování jednotlivých molekul vychází z označení v *pdb* souboru a blíže je též znázorněno na následujícím obrázku.



Obr. 8: Číslování molekul chlorofylů a feofytinů v použitém modelu (*chla*=chlorofyl *a*, *pho*= feofytin *a*).

5.1.2 Současný výzkum RC PS II

Až donedávna byl výzkum fotosyntézy v oblasti popisované v mé práci omezen neznalostí přesné struktury fotosystému II. První krystalové struktura PS II byla publikována až v roce 1987 [16].

Před prvním zveřejněním plné struktury fotosystému II, nedosahovaly modely dostatečného rozlišení a bylo možno pouze rozlišit tetrapyrrolové kruhy molekul kofaktorů fotosystému II, ne však jejich orientace – tj. polohy jednotlivých substituentů [15, 17]. Proto se ve většině modelů využívalo znalosti struktury bakteriálního fotosystému, u něhož se předpokládá dostačující podobnost s PS II RC.

První přesná struktura reakční centra fotosystému II byla publikována v roce 2004, Ferreira a kol. [14].

5.2 Pigmenty

Byly zvoleny takové molekuly, aby bylo možné sledovat základní spektrální vlastnosti plynoucí ze struktury pigmentu, např. přítomnost některých substituentů nebo délka chromoforové části molekuly.

Zabývali jsme se těmito molekulami:

1. chlorofyly: chlorofyl *a*, chlorofyl *b*, chlorofyl *c1*, chlorofyl *c2*, chlorofyl *c3*, chlorofyl *d*,
2. bakteriochlorofyly: bakteriochlorofyl *a*, bakteriochlorofyl *b*, bakteriochlorofyl *c*, bakteriochlorofyl *d*, bakteriochlorofyl *e*, bakteriochlorofyl *g*,
3. karotenoidy: fytoen, neurosporen, lykopen, β -karoten, zeaxantin, anteraxantin, violaxantin, peridinin, fukoxantin,
4. fykobilíny – fykoerytrobilín a fykocyanobilín.

Obrázky jednotlivých pigmentů a schematický zápis jejich struktur jsou uvedené v obrazové příloze.

6. Výsledky

Všech výsledků v této diplomové práci bylo dosaženo metodami počítačové chemie prostřednictvím kvantově chemických výpočtů za pomoci programu Gaussian [36, 37].

6.1 Reakční centrum fotosystému II

Původní struktura chlorofylo-feofytinového komplexu (viz obrázek 8) neobsahovala vodíkové prostorové souřadnice. Ty bylo nutné doplnit a jejich geometrii optimalizovat.

K optimalizaci byla v semiempirických výpočtech použita metoda PM3, v ab initio výpočtech metoda DFT s funkciónálem B3PW91 a bází 6-31G* (pro zvýšení rychlosti průběhu výpočtu byla použita předoptimalizace metodou HF s bází 6-31G*). Uvedené metody byly zvoleny na základě předchozí diplomové práce J. Šedy [4, 40].

Po optimalizaci geometrie vodíků následoval výpočet absorpčních elektronových spekter. Energie elektronových přechodů byly spočteny semiempirickou metodou ZINDO. V přesnějších ab initio výpočtech byla spektra vypočtena metodou DFT pomocí B3PW91 a báze 6-31+G*. Tento postup byl aplikován na neutrální molekuly.

Nejdříve byla takto spočtena spektra jednotlivých monomerů a následně pak vybraných skupin molekul pigmentů – dimerů, trimerů, tetramerů a hexameru. Spektra byla porovnávána a snahou bylo určit tzv. multimerní charakter speciálního páru.

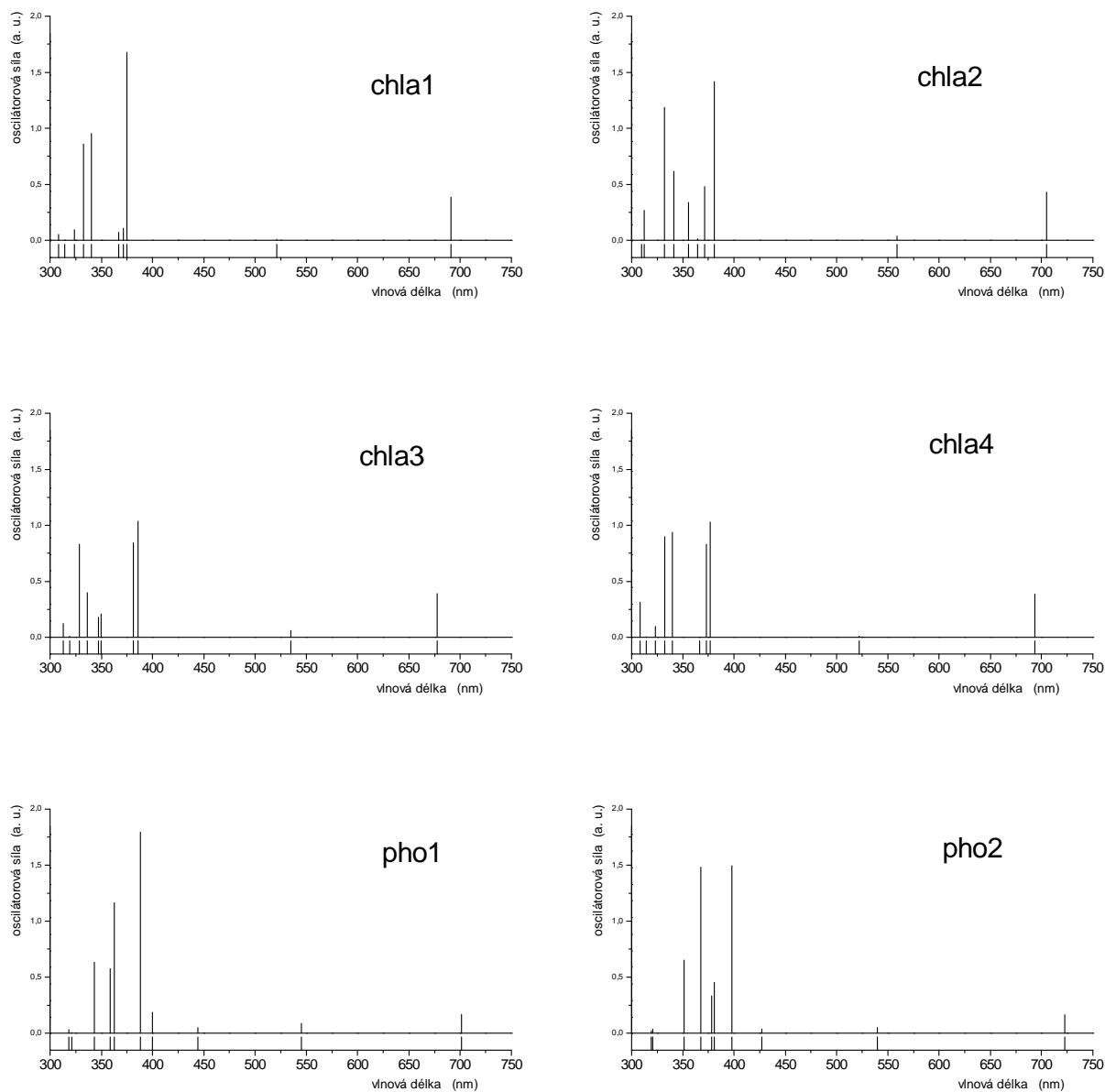
Ponechání pevné nevodíkové struktury, nepřímo respektujeme vliv okolního proteinu, který má na podobu konkrétní struktury samozřejmě vliv. V samotném výpočtu ale žádný vliv okolí zahrnut nebyl.

6.1.1 Monomery – semiempirické výpočty

Byla vypočtena elektronová spektra všech šesti molekul z RC. Získaná data jsou vyneseny do grafu 1 a v tabulce 2. Experimentální spektrum je na obrázku 9 a potřebné hodnoty v tabulce 1. Výpočet byl prováděn pro deset singletních přechodů.

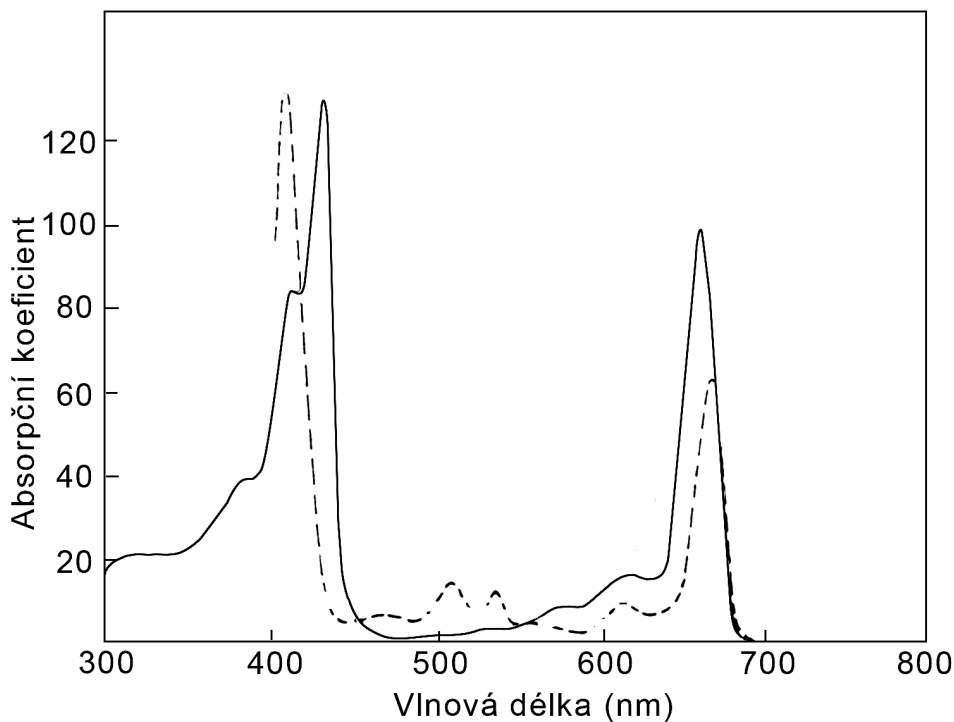
Výpočty na monomerních jednotkách RC byly provedeny jak se strukturou, která obsahovala fytylový řetězec (na kruhu D), tak i se strukturami, kde byl tento řetězec nahrazen metylovou skupinou. Ze získaných dat bylo zjištěno, že samotná přítomnost tohoto uhlovodíkového řetězce (skelet zůstal pevný, optimalizace se účastnily jen atomy vodíků)

má zanedbatelný vliv na rozložení energetických hladin a tedy i na podobu absorpčního spektra. Nebylo potřeba nadále tento řetězec brát v úvahu [41, 42]. Mohli jsme tak zkrátit čas potřebný pro získání výsledných dat a využít tohoto poznatku v následných ab initio výpočtech. Fytyl neobsahuje žádné π -elektrony, a jeho funkce jako součásti molekuly chlorofylu či feofytinu je převážně udržovat danou polohu v membráně.



Graf 1: Spektra monomerů RC spočtené metodou ZINDO. Uvedená spektra jsou pro struktury bez fytylové řetězce. Označení viz obr. 8.

Ve spektrech jsou dobře patrné pásy Q_x , Q_y a Soretův pás. Mezi spektry jednotlivých monomerů jsou vidět rozdíly v poloze i intenzitě přechodů, to samozřejmě souvisí s jejich rozdílnou prostorovou strukturou. Jinak ale získaná data odpovídají experimentální podobě spekter pro molekuly chlorofylu *a* a feofytinu *a* [7, 41, 42] – viz též obrázek 9.



Obr. 9: Experimentální absorpční spektrum chlorofylu *a* (—) a feofytinu *a* (- -) v dietyl éteru [7].

Experimentální data

	rozpuštědlo	λ_{max} (nm)
Chl a	dietyl éter	430 578 662
Pho a	dietyl éter	416 540 672

Tabulka 1: Experimentální hodnoty pro molekuly chlorofylu *a* a feofytinu *a* [7].

Všechny hodnoty Q_y pásů jsou červeně posunuty od experimentálních hodnot, průměrně o hodnotu 35 nm. Svůj podíl na tom má použitá báze ale také zanedbání okolí molekul (např. zahrnutí vodíkových vazeb).

Hlavní rozdíl mezi spektry chlorofylu *a* a feofytinu *a* je pokles intenzity přechodu Q_y a spektrální linie v oblasti kolem 435 nm. Spektrálním rozdílem mezi chlorofylem *a* a feofytinem *a* se budu dále zabývat v odstavci o pigmentech.

Vypočtené hodnoty

chla1		chla2		chla3		chla4		pho1		pho2	
λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)
690,87	0,3844	704,72	0,4319	677,51	0,3892	693,35	0,3866	701,03	0,1674	722,38	0,1624
521,23	0,0112	559,13	0,0344	534,89	0,0581	522,29	0,0103	545,23	0,0882	539,72	0,0494
374,89	1,6791	380,71	1,4161	385,58	1,0341	376,66	1,0277	444,22	0,0503	427,08	0,0351
371,19	0,1108	371,37	0,4800	381,30	0,8400	372,68	0,8275	400,04	0,1873	398,19	1,4935
366,92	0,0724	364,37	0,0139	349,80	0,2075	366,67	0,0013	387,90	1,7930	380,86	0,4527
340,38	0,9530	355,80	0,3397	347,49	0,1786	339,97	0,9362	362,65	1,1636	378,44	0,3316
332,44	0,8606	341,28	0,6164	336,49	0,3989	332,52	0,8968	358,75	0,5759	367,55	1,4798
323,41	0,0963	332,24	1,1849	328,31	0,8291	323,03	0,0940	343,30	0,6341	351,13	0,6521
314,25	0,0022	312,20	0,2682	318,96	0,0098	314,06	0,0024	320,93	0,0042	320,89	0,0357
308,42	0,0563	309,83	0,0025	313,00	0,1209	308,61	0,3123	318,36	0,0315	319,09	0,0198

Tabulka 2: Vypočtené hodnoty pro molekuly chlorofylu a a feofytinu a.

Vypočtená spektra poslouží k analýze dalších výpočtů.

Všechny nadále uvedené grafy a tabulky jsou platné pro struktury bez fytylu. Označení monomerů a vybraných částí RC je uvedeno na obrázku 8 v předchozí kapitole a pochází z pojmenování jednotlivých molekul v *pdb*-souboru modelu 1DOP. Chla2 a chla3 tvoří centrální pár a tzv. aktivní větev obsahuje chla4 a pho2.

6.1.2 Skupiny pigmentů reakčního centra – semiempirické výpočty

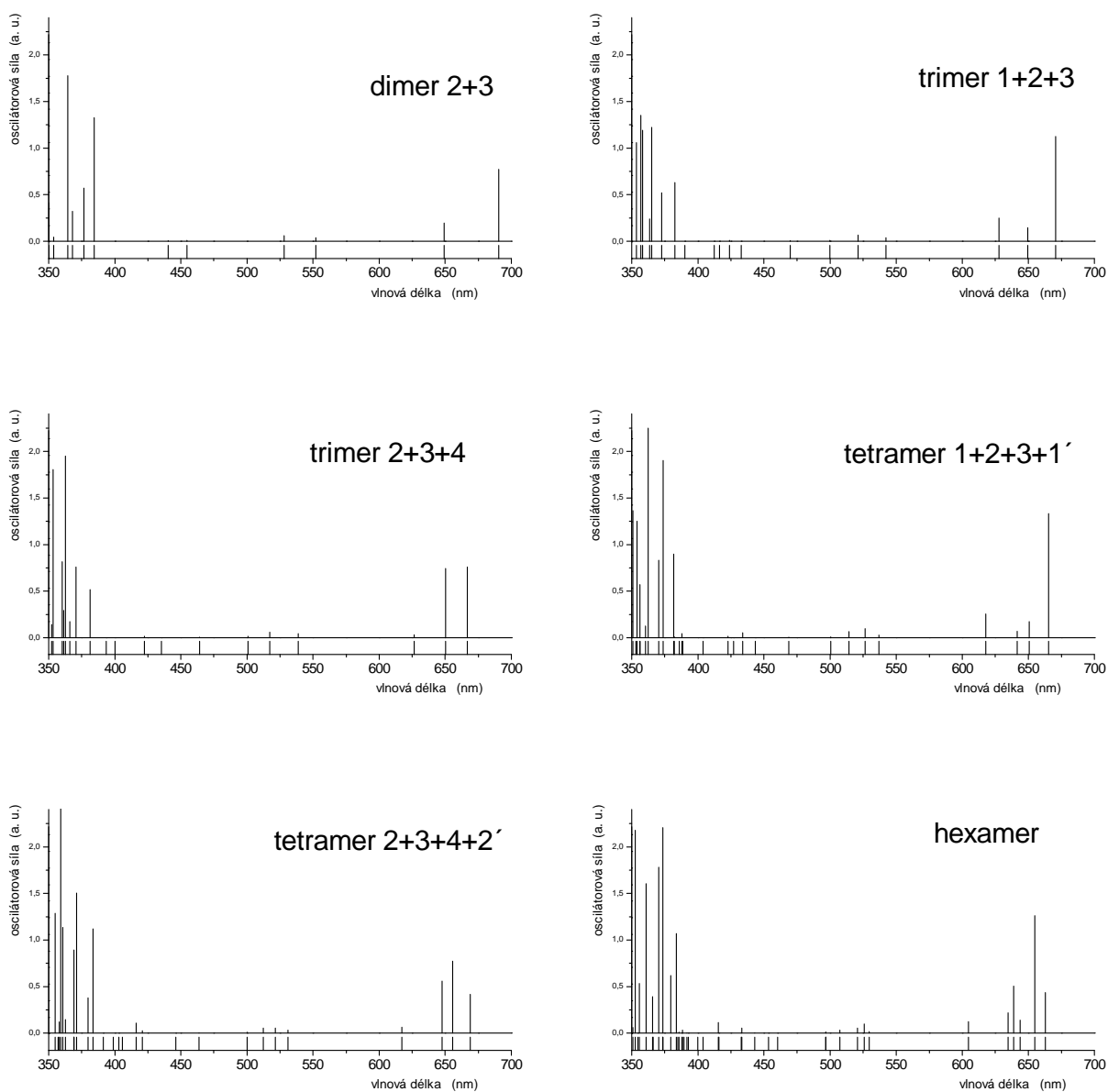
Stejně jako u předcházejících výpočtů byly na vybraných částech chlorofylo-feofytinového komplexu optimalizovány vodíkové souřadnice PM3 metodou a potom vypočteno elektronové spektrum metodou ZINDO. Opět byly všechny výpočty provedeny na strukturách s fytylovým řetězcem i bez něj a znovu jsme dosáhli shody obou typů spekter.

Ve spektrech multimerů jsme spočetli padesát singletních elektronových přechodů. V tabulce 3 jsou vypsány vlnové délky a oscilátorové síly přechodů z oblasti od 600 nm do 700 nm. Svým počtem odpovídají počtu pigmentů v multimeru.

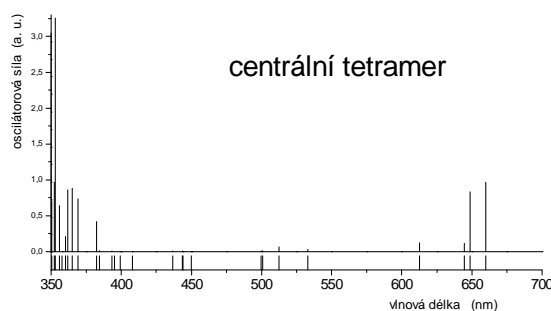
V grafu 2 si můžeme všimnout rozdílného složení absorpčních pásů v oblasti 600 nm až 700 nm, které má jiný charakter pro aktivní a neaktivní část chlorofylo-feofytinového komplexu. Aktivní větev (chla2+chla3+chla4+ pho2) má jiné rozložení intenzit přechodů než větev neaktivní (chla1+chla2+chla3+ pho1). V neaktivní větvi se nachází vždy jeden z pásů, který je výrazně intenzivnější než ostatní oproti větvi aktivní, kde tomu tak není. Součet oscilátorových sil je zachován.

Aktivní část a neaktivní část se dále liší i v podobě Soretova pásu. Ve spektrech částí aktivní větve je Soretova oblast vyšší a nachází se více v modré oblasti než Soretův pás u spekter neaktivní části.

Přestože není původ ani důvod neaktivity jedné z větví znám, je z výše uvedeného jasné, že existují významné spektroskopické rozdíly mezi oběma větvemi.



Graf 2: Spektra vybraných částí hexameru RC spočtené metodou ZINDO. Uvedená spektra jsou pro struktury bez ftylové řetězce. Označení viz obr. 8, číslice 1 až 4 odpovídají chlorofylům a číslice 1' a 2' feofytinu 1 a 2 v uvedeném pořadí.



Graf 2b: Spektrum centrálního tetrameru RC spočtené metodou ZINDO (bez fytylového řetězce).

Vypočtená data

dimer 2+3		trimer 1+2+3		trimer 2+3+4		tetramer 1+2+3+1'	
λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)
690,56	0,7694	670,35	1,1264	666,54	0,7624	665,09	1,3326
648,99	0,1974	649,41	0,1483	650,15	0,7436	650,79	0,1723
		627,46	0,2502	626,31	0,0339	641,36	0,0706
						617,71	0,2529
tetramer 2+3+4+2'		centrální tetramer		hexamer			
λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)		
668,98	0,4154	659,83	0,9721	662,91	0,4318		
655,66	0,7703	648,59	0,8353	654,64	1,2594		
647,45	0,5605	644,76	0,1163	643,82	0,1422		
617,38	0,0625	612,64	0,1229	638,65	0,5068		
				634,55	0,2162		
				604,83	0,1224		

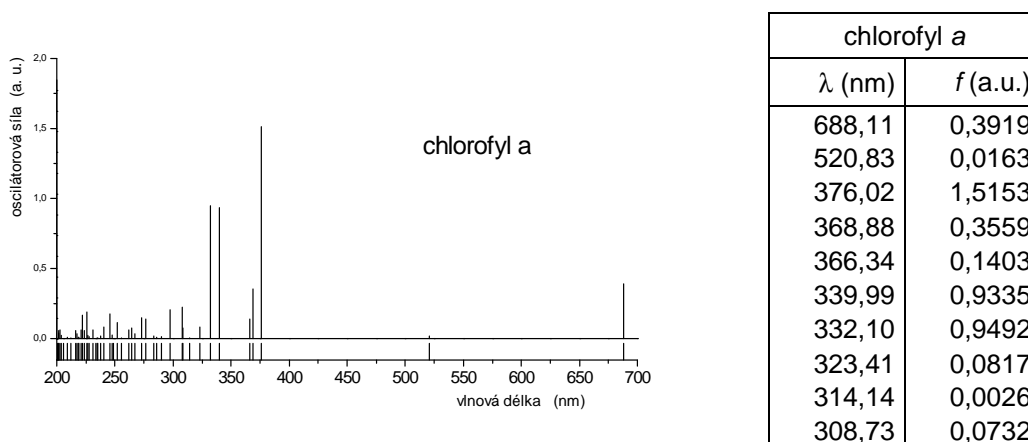
Tabulka 3: Vypočtené hodnoty pro vybrané části RC. Označení viz obr. 8, číslice 1 až 4 odpovídají chlorofylům a číslice 1' a 2' feofytinu 1 a 2 v uvedeném pořadí.

6.1.2.1 Červený posun P680

Teoretické zdroje [6, 7, 18-23, 25] se rozcházejí v otázce povahy primárního donoru elektronu RC PS II. Z experimentu je znám červený posuv spektra tohoto donoru od spektra samotného chlorofylu a jeho absorpce v oblasti 680 nm. U bakteriálních reakčních center je donorem dimer bakteriochlorofylů. U reakčního centra vyšších rostlin je ale prostorové uspořádání pigmentů jiné a jednotlivé molekuly jsou jinak excitonově svázány.

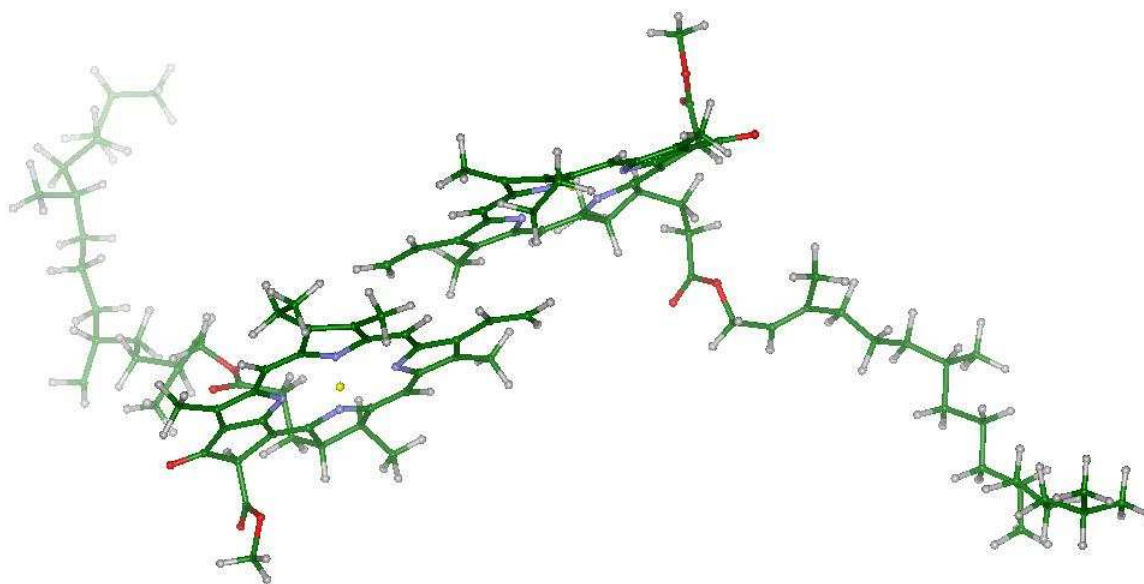
Protože byl u ZINDO výpočtů na chlorofylech RC pozorován červený posuv spektrálních linií [4], byl znovu proveden výpočet přechodů molekuly chlorofylu *a*, tentokrát byla ale do optimalizace zahrnuta celá struktura (všechny atomy). Abychom mohli lépe

posoudit červený posuv pásů vytvořených multimerních struktur, spočetli jsme také padesát singletních elektronových přechodů. V následujícím grafu s tabulkou jsou získané výsledky.



Graf 3: Spektrum chlorofylu a, kde byla optimalizovaná celá struktura, bez fytylového řetězce. V tabulce jsou uvedeny polohy a oscilátorové síly prvních deseti absorpčních linií.

Z grafů 2, 3 a tabulky 3 je vidět, že od spektra monomeru (668 nm) je červeně posunut pouze dimer (691 nm), tedy centrální pár (viz obrázek 10).



Obr. 10: Centrální chlorofylový pár (chl a2 a chl a3).

Z provedených výpočtů bohužel nemůžeme posoudit, zda červený posuv P680 způsobuje pouze seskupení chlorofylů či se na tom podílí i další faktory, jako jsou například

vodíkové vazby či jiná interakce s proteinem. Z našich výpočtů vyplývá, že pokud bychom se řídili pouze červeným posuvem, mohli bychom za donor považovat jen centrální dimer (viz obrázek 10). Ale i tak je červený posun menší než experimentální od 662 nm pro chlorofyl k 680 nm donoru P680.

6.1.3 Monomery – DFT výpočty

Elektronové singletní přechody monomerů byly zpracovány na úrovni DFT výpočtu. Požadovaný počet linií (singletních přechodů) byl deset.

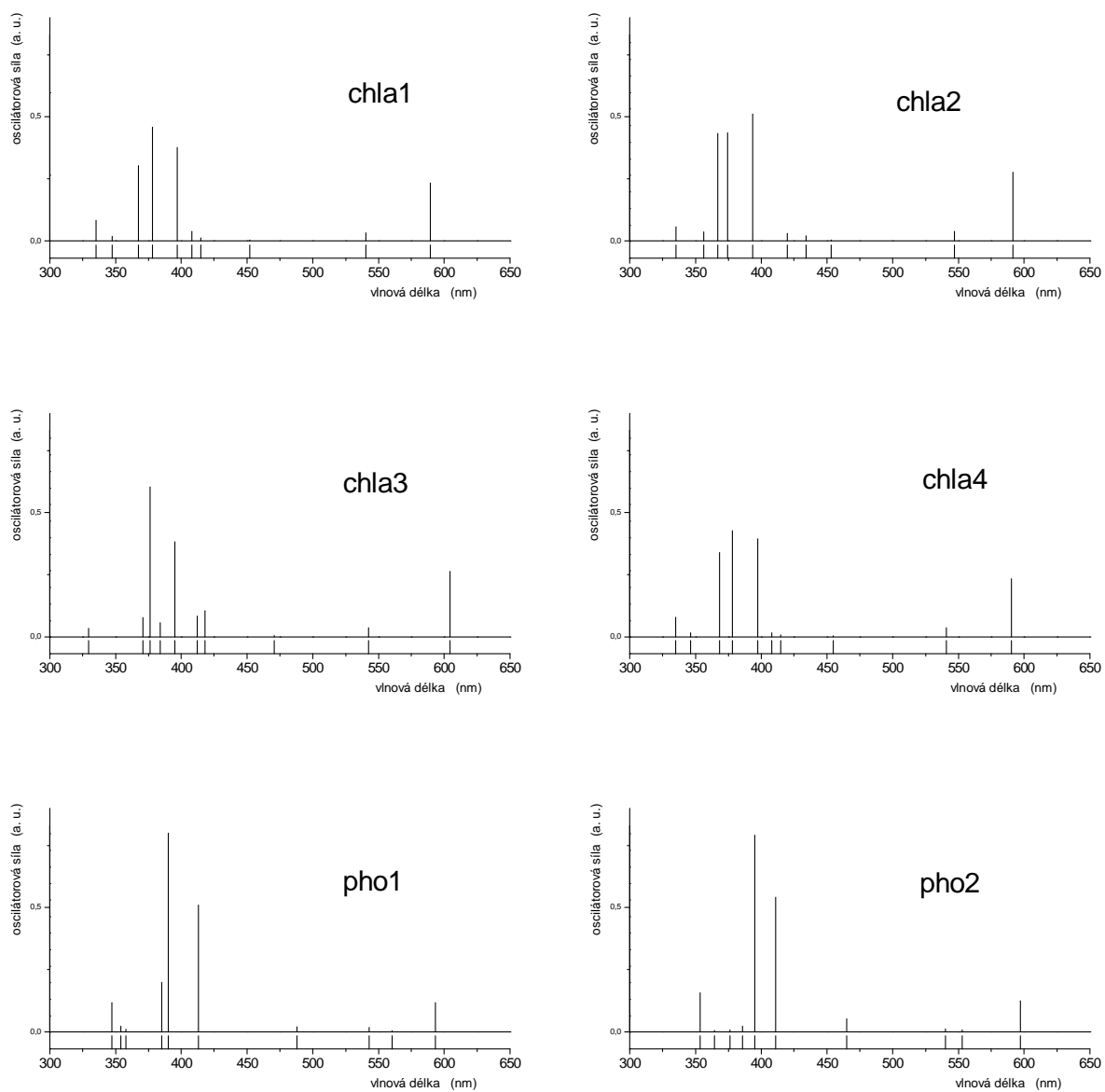
Oproti metodě ZINDO, je zde naopak patrný modrý posuv absorpčních čar od experimentálních dat. Jde o možný vliv použité báze, o kterém se píše i v literatuře [41, 42]. Musí však i uvažovat o vlivu molekulárního okolí, které v našich výpočtech z výpočetního hlediska být zahrnuto nemohlo. Částečně vliv prostředí respektujeme ponecháním pevné nevodíkové struktury RC (geometrické optimalizaci podléhaly pouze souřadnice atomů vodíků).

Vypočtené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4 a vykresleny do grafu 4. Všechna vypočtená spektra odpovídají experimentální podobě (viz obrázek 9). Komentovaný modrý posun se takovýto: první pás Q_y je posunut průměrně o hodnotu 70 nm, ostatní pásy již méně – asi o 35 nm.

Vypočtené oscilátorové síly pro Q_y pás intenzity dobře odpovídají experimentální hodnotě 0,23 a.u. pro chlorofyl *a* [41, 42]. Poměr intenzit Soretova pásu a Q_y pásu se s experimentálními daty shoduje lépe než předchozí výsledky získané metodou ZINDO. Vzhledem k tomu, že zde používáme ab initio metodu a ZINDO je metoda semiempirická je dosažení lepší shody pochopitelné. I spektra feofytinů lépe odpovídají skutečnosti. Srovnáme-li spektra jednotlivých molekul RC, vidíme že vztahy poloh absorpčních pásů mezi pigmenty jsou jiné u obou metod, protože je ale DFT přesnější metoda než ZINDO jsou takového rozdíly nepodstatné a můžeme je brát jako chybu použití semiempirické metody.

Pokud bychom výsledky srovnávali se čtyřorbitalovým modelem, který se používá pro popis přechodů porfyrinových molekul, můžeme říci (a uvidíme to i v dalších výpočtech), že jmenovaný model je pro popis chlorofylových a feofytinových elektronových přechodů příliš jednoduchý a bylo by vhodnější použít model složitější. V našich spektrech tvoří čáru Q_y už kombinace přechodů HOMO→LUMO a HOMO-1→LUMO+1, a čáru Q_x kombinace přechodů HOMO→LUMO+1 a HOMO-1→LUMO. Někdy se malou mírou zapojují i další

přechody. Také Sunholm ve svých publikacích [41, 42] popisuje, že spektra chlorofylů vyžadují pro svůj popis více než čtyři pásy.



Graf 4: Spektra monomerů RC spočtené metodou DFT. Uvedená spektra jsou pro struktury bez fytolové řetězce. Označení viz obr. 8.

Vypočtené hodnoty

chla1		chla2		chla3		chla4		pho1		pho2	
λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)
589,53	0,2342	591,56	0,2765	604,30	0,2654	590,41	0,2346	593,47	0,1190	596,97	0,1244
540,50	0,0335	547,02	0,0392	542,45	0,0368	540,93	0,0360	560,44	0,0031	552,64	0,0076
452,03	0,0044	453,11	0,0045	470,72	0,0055	454,79	0,0046	542,90	0,0182	539,94	0,0118
415,05	0,0115	433,85	0,0200	417,88	0,1058	415,00	0,0091	487,96	0,0197	465,20	0,0535
408,00	0,0392	419,77	0,0299	412,25	0,0845	407,82	0,0170	412,96	0,5109	411,14	0,5423
397,03	0,3774	393,55	0,5103	394,85	0,3827	397,17	0,3956	389,85	0,8005	395,11	0,7930
378,13	0,4589	374,39	0,4351	383,84	0,0577	378,22	0,4281	384,94	0,2004	385,91	0,0215
367,48	0,3025	367,17	0,4327	376,17	0,6046	368,26	0,3403	357,77	0,0106	376,39	0,0074
347,39	0,0186	356,46	0,0359	370,82	0,0769	346,28	0,0165	354,14	0,0232	364,32	0,0053
335,26	0,0840	335,07	0,0561	329,64	0,0355	334,71	0,0800	347,19	0,1173	353,68	0,1561

Tabulka 4: Vypočtené hodnoty na strukturách chlorofylů a feofytinů z RC. Označení plyne z obrázku 8.

Data získaná DFT metodou na molekulách RC budou dále využita ve výpočtech, kde budeme příslušné molekuly uvažovat jako kation a anion radikály

6.2 Pigmenty

Výpočty týkající se fotosyntetických molekul zahrnují tři významné skupiny pigmentů – molekuly chlorofylového typu, karotenoidy a fykobilíny, které byly zvoleny tak, aby bylo možné popsat základní spektroskopické vlastnosti těchto pigmentů plynoucí z jejich struktury.

Postup výpočtu lze rozdělit do tří kroků. Nejprve jsme utvořili modely molekul pigmentů, v druhém kroku následovala optimalizace geometrie všech vytvořených struktur. Pro některé z pigmentů bylo sestaveno několik různých možných prostorových konformerů a proto byla v posledním kroku provedena energetická analýza. Energeticky nejvýhodnější struktura daného pigmentu byla použita pro výpočet elektronového spektra na úrovni metody funkcionálu hustoty.

Snahou bylo popsat experimentálně pozorovanou závislost podoby absorpčního spektra na struktuře pigmentu. Aby bylo srovnání korektní, bylo ve všech výpočtech použito stejného postupu.

6.2.1 Vytváření modelů

Nejvíce modelů bylo vytvořeno v případě molekul *chlorofylového typu*, které mají na základním tetrapyrolovém kruhu několik substituentů. Struktura chlorofylu *a* je převzatá z předchozích studií z modelu 1DOP a doplněna o vodíkové atomy. Pro další molekuly byla použita tato struktura jako základ, pouze došlo k doplnění a nahrazení správnými substituenty

[1]. U substituentů, u kterých není zřejmá jejich energeticky nejvýhodnější poloha, bylo uděláno několik variant poloh substituentů. Varianty obsahují možné kombinace takovýchto „nezřejmě“ umístěných skupin. Fytylové řetězce byly nahrazeny metylovou skupinou (vyšli jsme tak z poznatku předchozích výpočtů, že samotná přítomnost řetězce má zanedbatelný vliv na podobu spektra).

V případě molekul *karotenů* byla situace jednodušší. Pro lineární řetězec byla použita *all-trans* konformace a byly uvažovány některé konformery týkající se zakončení řetězce.

Pro modely molekul *fykobilínů*, kde je spektrum značně závislé na vzaté konformaci [3], jsem použili strukturu převzatou z proteinové databanky. Možných konformerů je zde téměř neomezené množství a tak tímto krokem částečně respektujeme přirozený výskyt pigmentu v biologickém materiálu. Struktura byla doplněna o vodíkové atomy a posloužila jako základ pro obě molekuly.

6.2.2 Konformační analýza

V tomto kroku byla optimalizována geometrie všech vytvořených modelů na úrovni HF s 3-21G, aby mohla být rychleji porovnána energie jednotlivých molekul spočtená stejné úrovni. U jednotlivých modelů byla pozorována celková energie a k dalšímu kroku byly použity jen modely s popsané nejnižší energií. Celková geometrie a výpočet spektra však už byly provedeny pomocí funkcionalu B3PW91 s bází 6-31+G*.

Pokud byl energetický rozdíl dvou téměř energeticky nejvýhodnějších ale různých modelů malý v porovnání s energiemi ostatních modelů daného pigmentu, pak bylo pro výpočet spektra použito obou struktur, aby mohl být posouzen vliv příslušné změny na elektronové spektrum.

Žádná část struktury nebyla držena pevná a geometrické optimalizace se účastnily všechny atomy dané molekuly.

6.2.2.1 Ukázka vlivu některých substituentů

Konformační analýza se týkala převážně molekul chlorofylového typu, proto zde uvedu příklady právě chlorofylových molekul.

Některé rozdílné konformery jedné molekuly měly po geometrické optimalizaci blízko ležící energie základních stavů. Výpočet elektronového spektra ukázal, že tyto dvě varianty jedné molekuly náležejí téměř stejným spektrům a že i elektronové přechody jsou stejné.

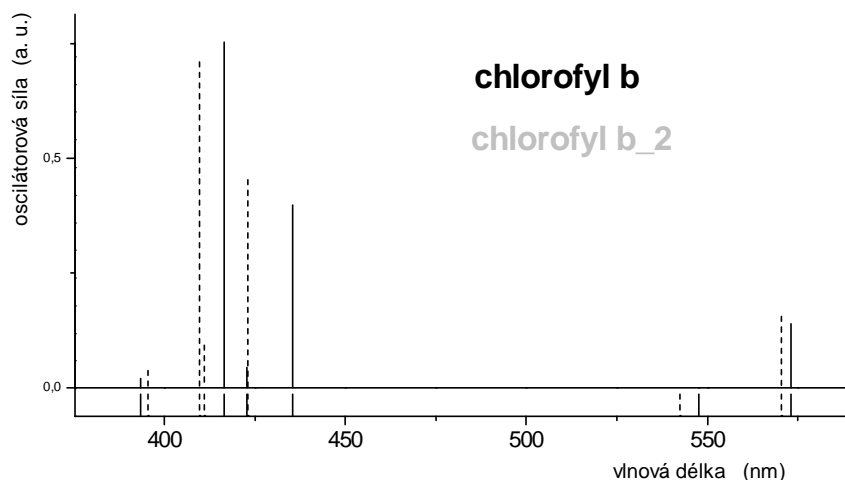
S blízko ležícími energiemi základního stavu jsme se setkali např. u chlorofylu *b* (viz obrázek 11) a u bakteriochlorofylu *e*. V obou případech šlo o prostorovou modifikaci téže skupiny, konkrétně o etylovou skupinu. V případě chlorofylu *b* jde o substituent na pozici uhlíku C-8 (viz obrázek 5 nebo zvýrazněné skupina na obrázku 11). Poprvé byl etyl orientován pod rovinu makrocycly, podruhé nad rovinu tetrapyrolového makrocycly. Dosažená energie po geometrické optimalizaci struktury byla stejná, přestože, byl etyl i po tomto procesu orientován na opačné strany. Za to, že se spektrum nezměnilo, může povaha substituentu. Etylová skupina neobsahuje žádnou dvojnou vazbu, která by mohla nějakým způsobem ovlivnit soustavu konjugovaných vazeb makrocycly, jehož struktura je stěžejní pro spektroskopické vlastnosti celé molekuly.

V případě bakteriochlorofylu *e*, kde jsme se též setkali s tak blízkými energiemi, šlo o též o etyl, tentokrát na pozici C-12.



Obr. 11: Molekula chlorofylu *b* s vyznačenými substituenty, které jsou diskutovány v textu.

Ze sledování změn plynoucích z manipulace s jinými substituenty, byly energetické rozdíly znatelně větší oproti rozdílům způsobeným různou polohou etylové skupiny. Příkladem může být opět molekula chlorofylu *b*. Diskutovanou skupinou bude teď $-CHO$ na uhlíku C-7 a její orientace. Celá skupina leží v rovině makrocycly, ale chlorofyl *b*₂ má inverzní uspořádání atomů ve skupině $-CHO$ než chlorofyl *b*. Všechny absorpční linie ve spektru chlorofylu označeného chlorofyl *b*₂ jsou od linií chlorofylu *b* posunuté do modra. Pro první dvě linie je posuv jen 3 nm a elektronové přechody si odpovídají. Následující jsou posunuté do modra více. Skupina $-CHO$ obsahuje jednu dvojnou vazbu, která je navíc umístěna v rovině tetrapyrolového kruhu. Svou přítomností přispívá ke zvýšení koncentrace π -elektronové delokalizace na molekule.



Graf 5: Ukázka rozdílných spekter molekuly chlorofylu b v dvou různých konformacích. Energeticky výhodnější je struktura chlorofylu b (plná čára). Druhá prostorová orientace (přerušovaná čára) má energii vyšší.

6.2.3 Výpočet spekter

Absorpční spektra byla získána metodou DFT pomocí funkcionálu B3PW91 s použitím rozšířené double zeta báze 6-31+G*. Za optimální počet dosažených spektrálních linií byl zvolen počet šest, vzhledem k povaze očekávaných diskutovaných hodnot a známých experimentálních dat.

Všechny vypočtené elektronové přechody molekul pigmentů jsou vyneseny do grafů spekter a jsou uvedeny v následujícím textu. V tabulkách jsou zaznamenány potřebné a diskutované hodnoty spolu s experimentálními. Diskutované struktury jsou v obrazové příloze. Označení poloh substituentů u chlorofylových a bakteriochlorofylových molekul se řídí podle standardního popisu (na obrázku 5).

6.2.4 Analýza spekter

Některé spektrální čáry (viz tabulky 5-9, grafy 6-13) jsou posunuté až o 100 nm od experimentálních hodnot, průměrná hodnota posunu je ale menší a rozdílná pro různé skupiny pigmentů. Protože je ale posun u všech struktur v rámci dané skupiny pigmentů zhruba stejný, je to pravděpodobně způsobeno zvolenou bází [41, 42].

S ohledem na výše diskutované je z tabulek patrné, že bylo dosaženo velmi dobré shody s experimentem pokud jde o pozorované závislosti mezi jednotlivými pigmenty.

6.2.4.1 Chlorofyly

Všechny spektra chlorofylových molekul obsahují dva absorpční pásy, jeden v modré oblasti a druhý v červené. Vypočtené hodnoty vykazují modrý posuv od experimentálních hodnot: 67 nm pro pás Q_y , 17 nm pro pás Q_x a 21 nm pro Soretův pás.

Spočetli jsme šest singletních elektronových přechodů. Získaná data jsou uvedeny v tabulce 5 a vyneseny do grafu 6. Bereme-li v úvahu modrý posuv všech spekter je shoda s experimentem velmi dobrá. Byly dosaženy všechny spektrální rozdíly mezi jednotlivými chlorofylovými molekulami.

Chlorofyl a je nejvíce známý chlorofyl a proto i jeho spektrum je velmi dobře prozkoumáno [41, 42] – viz obrázek 9. Podle očekávání jsme získali dva absorpční pásy v červené oblasti a několik pásů odpovídající širšímu Soretovu pásu v oblasti modré. Pro použitou strukturu byl nalezen pás Q_y v 583 nm, Q_x v 539 nm a Soretův pás v oblasti 400 nm. Jmenované hodnoty můžeme vidět vynesené v grafu 6 a zapsané v tabulce 5. Pro pás Q_y je experimentální hodnota oscilátorové síly přechodu 0,23 a.u. Námí vypočtená hodnota 0,239 a.u. je ve velmi dobrém souhlasu. Pro další pásy nejsou experimentální hodnoty oscilátorových sil nikde přímo uvedeny a tak není možné jiné než kvalitativní srovnání, ze které ho lze říci že vypočtené spektrum odpovídá experimentálnímu.

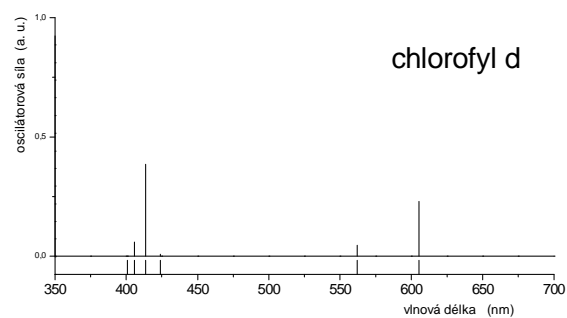
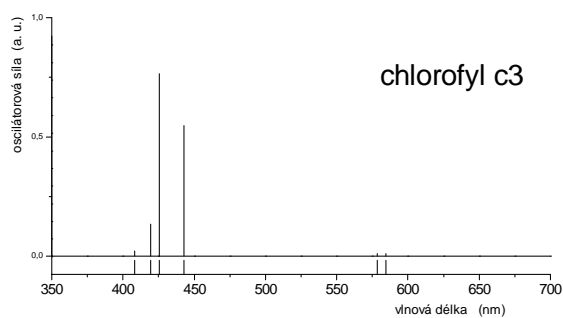
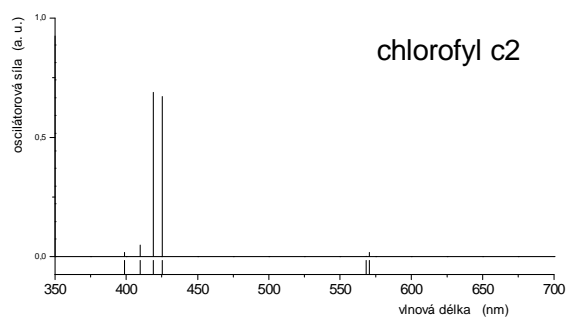
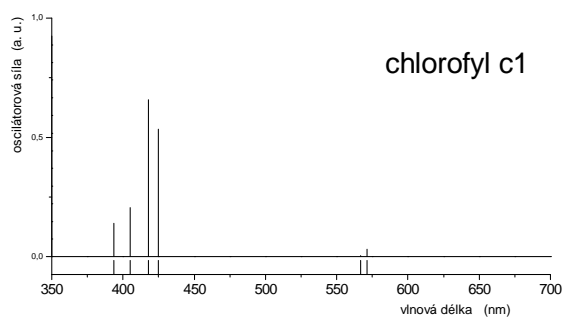
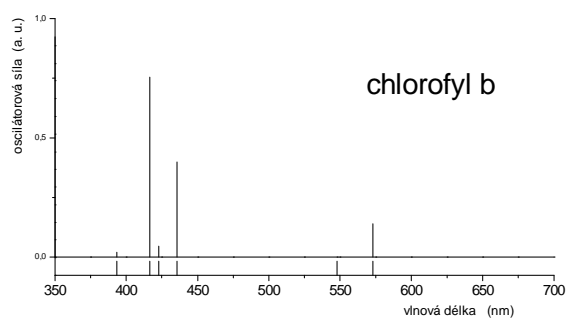
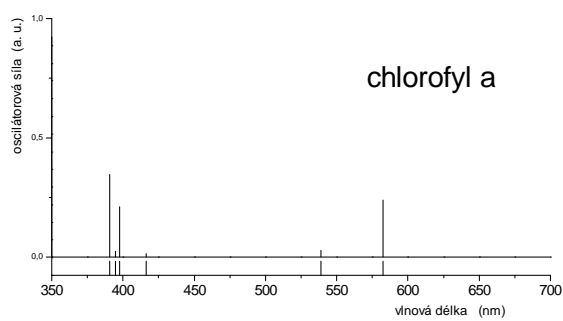
Chlorofyl b se od chlorofylu *a* liší pouze skupinou na uhlíku C-7. Původní metylová skupina je zde nahrazena skupinou formylovou (-CHO). Tato změna způsobí červený posuv Soretova pásu k 417 nm a modrý posuv Q_y pásu k 573 nm oproti spektru chlorofylu *a*. Dvojná vazba formylové skupiny má pravděpodobně vliv na konjugovaný systém dvojných vazeb. Závislost však není stejná jako by docházelo k prodloužení konjugovaného systému. Skupina -CHO naruší π -elektronový systém molekuly natolik, že excitovaný stav je méně stálý a potřebná energie pro excitaci je větší. Poměr oscilátorových sil přechodu Q_y k oscilátorové síle Soretovu pásu je menší u chlorofylu *b* než u chlorofylu *a* ve shodě s experimentálními spektry [7]. Skupina -CHO je obsažena též v bakteriochlorofylu *e*, kde též dochází k modrému posuvu z důvodu přítomnosti této skupiny.

Chlorofyl c se od ostatních chlorofylů liší v několika aspektech. Hlavními rozdíly od ostatních je přítomnost dvojná vazba na kruhu D a nahrazení izoprenového řetězce jinou

skupinou. Chlorofyly *c* mají tedy za základ porfyrin a ne chlorin jako ostatní chlorofyly a jejich molekuly mají větší symetrii. To ovlivní podobu spektra tak radikálně, že téměř vymizí pásy Q_y (výrazně se sníží jejich intenzita). Spektrální vlastnosti všech tří chlorofylů *c* jsou díky těmto společným rozdílům velmi podobné. Samotné chlorofyly *c* se od sebe liší jen povahou substituentů na uhlících C-7 a C-8.

Všechna spektra mají v souladu s experimentem silný Soretův pás, který se nachází v oblasti 390 nm až 440 nm, tedy asi o 18 nm posunutý do oblasti menších vlnových délek od odpovídajících experimentálních dat. Na poloze pásů Q_y a Q_x mezi jednotlivými molekulami těchto pigmentů je vidět vliv substituentů na uhlících C-7 a C-8. Chlorofyl *c3*, který na obou substituentech obsahuje dvojnou vazbu, která svými π -elektrony ovlivňuje π -systém makrocyklu, má pásy Q_y a Q_x posunuty oproti ostatním do červena asi o 13 nm. Délka konjugovaného systému se prodlouží a můžeme uvažovat o stejném vlivu na spektrum jako i karotenů (viz dále).

Chlorofyl *d* se od chlorofylu *a* liší jen substituentem na pozici C-3, kde je formylová skupina místo vinylové. Chlorofyl *d* je považován za energetický a strukturální mezistupeň mezi chlorofylem *a* a bakteriochlorofylem *a* [1]. Podle očekávání, ve výpočtech vyšlo, že chlorofyl *d* absorbuje na nejdelších vlnových délkách ze všech chlorofylů. Změnu je možné vysvětlit pouze přítomností formylové skupiny na pozici C-3 (jde o jedinou změnu od chlorofylu *a*). Stejný substituent v chlorofylu *b* způsobil modrý posun Q pásů. Zde ale nahrazením původní vinylové skupiny nedochází ke změně počtu celkových π -elektronů.



Graf 6: Spektra molekul chlorofylů.

Vypočtená data

	λ_{\max} (nm)
Chl a	416,37 538,83 582,73
Chl b	435,52 547,68 573,05
Chl c1	424,90 566,75 571,24
Chl c2	425,28 568,36 570,51
Chl c3	442,99 578,59 584,31
Chl d	423,58 562,17 605,30

Experimentální data

	rozpuštědlo	λ_{\max} (nm)
Chl a	dietyl éter	430 578 662
Chl b	dietyl éter	455 549 644
Chl c1	dietyl éter	444 578 628
Chl c2	dietyl éter	448 579 628
Chl c3	dietyl éter	452 586 626
Chl d	dietyl éter	447 688

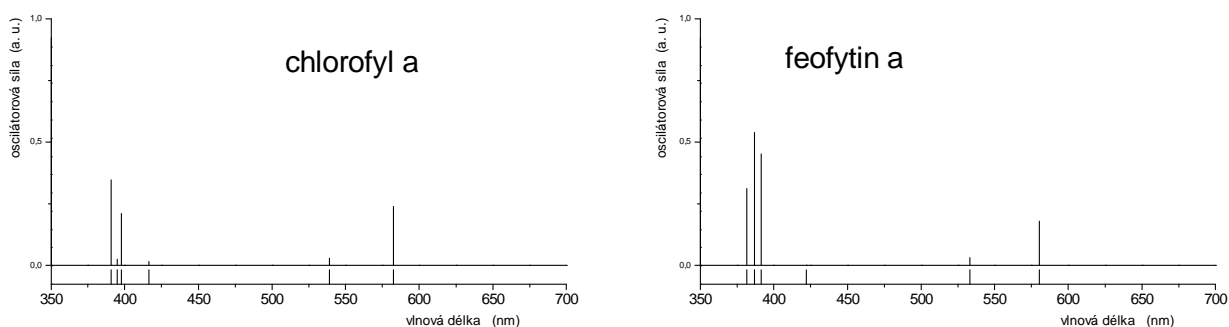
Tabulka 5: Vypočtené a experimentální hodnoty pro molekuly chlorofylů (Chl).

6.2.4.2 Chlorofyl a a feofytin a

Každý z chlorofylů i bakteriochlorofylů má jemu odpovídající feofytin a bakteriofeofytin. Pro popis rozdílných spektroskopických vlastností těchto velice strukturně podobných molekul jsme si zvolili chlorofyl *a* a feofytin *a*. Jediná změna, ke které dochází, je odstranění hořčíkového atomu s centra chlorofylu *a* a jeho nahrazení dvěma vodíky na pyrolových částech molekuly.

Protože nás zajímal hlavně vliv nahrazení hořčíku vodíky, převzali jsme strukturu feofytinu ze struktury chlorofylu *a* a geometricky optimalizovali pouze vodíky, jenž nahradily centrální hořčíkový atom. Stejně jako u předchozích struktur byl fytylový řetězec nahrazen metylovou skupinou.

V grafu 7 jsou vynesena vypočtená elektronová spektra. V tabulce jsou uvedeny hodnoty poloh absorpčních čar a jejich oscilátorové síly a odpovídající experimentální hodnoty. Srovnatelná experimentální spektra jsou na obrázku 9.



Graf 7: Spektra chlorofylu *a* a feofytinu *a*.

Vypočtená data				Experimentální data	
chlorofyl a		feofytin a		chlorofyl a	feofytin a
λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	λ (nm)
582,73	0,2390	580,43	0,1791	662	672
538,83	0,0277	532,96	0,0303	578	540
416,37	0,0155	422,01	0,0005	430	416
397,60	0,2107	391,30	0,4518		
394,87	0,0250	386,76	0,5395		
390,65	0,3456	381,46	0,3119		

Tabulka 6: Vypočtené a experimentální hodnoty pro molekuly chlorofylu *a* a feofytinu *a*.

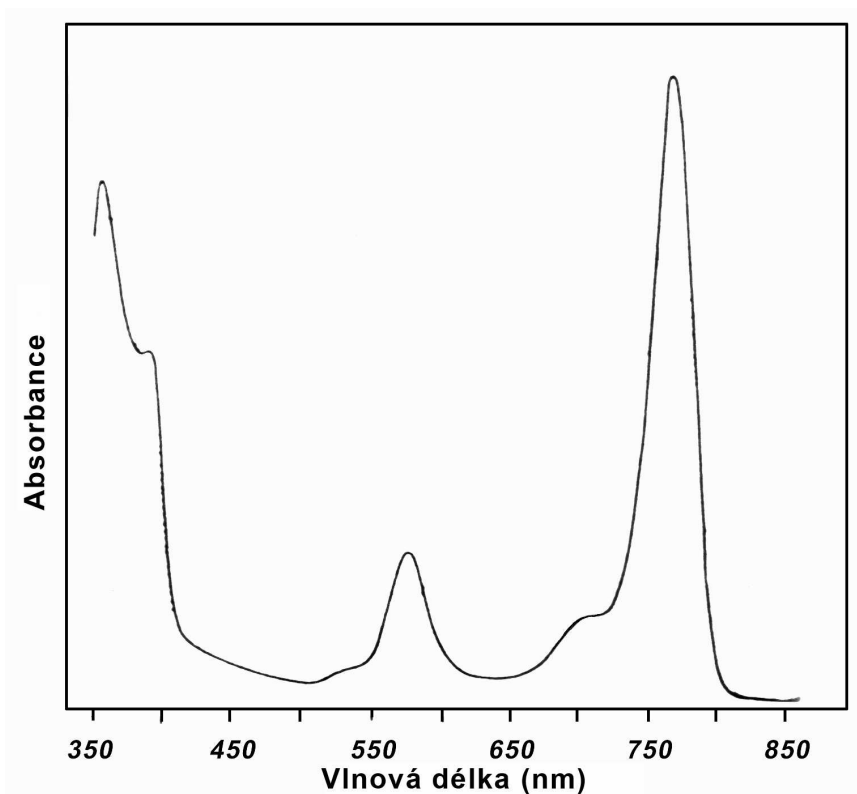
Porovnáváme-li obě spektra mezi sebou, je možno pozorovat několik rozdílů. Prvním rozdílem je nestejná oscilátorová síla přechodu z HOMO do LUMO. Oscilátorová síla Q_y chlorofylu *a* je ve shodě s experimentální hodnotou 0,23 a.u.. Intenzita přechodu Q_y chlorofylu je o 33% větší než intenzita přechodu feofytinu. Obdobný výsledek získal Sundholm [41, 42]. Dalším rozdílem je výrazný pokles v intenzitě třetího přechodu u feofytinu o 97% v oblasti 420 nm, který je též souhlasí s experimentem. Čtvrtá čára v oblasti začínajícího Soretova pásu má u feofytinu dvakrát větší intenzitu a i součet oscilátorových sil přechodů tvořící Soretův pás je znatelně větší než u chlorofylu. Všechny tyto pozorované rozdíly odpovídají experimentálním datům [7, 41, 42] a jsou též srovnatelné s výpočty skupiny vedené Sundholmem [41, 42].

6.2.4.3 Bakteriochlorofyly

Bakteriochlorofyly mají menší π -elektronový systém chlorofylové molekuly. Obsahují redukovanou dvojnou vazbu nejenom na kruhu D ale i na kruhu B. Systém elektronových hladin se v důsledku toho změni dojde k posunu Q_y pásů do červena a Soretova pásu do modré oblasti. Výsledky vykazují shodu s tímto teoretickým poznatkem.

Vypočtené hodnoty jsou v tabulce 7 a v grafu 8. Oproti experimentálním hodnotám jsou ve všech spektrech jsou Q_y pásy modře posunuty průměrně o 86 nm.

Bakteriochlorofyl *a* je základní molekulou chlorofylového typu u většiny anoxygenních fotosyntetických bakterií a proto jsou její spektroskopické vlastnosti známi stejně dobře jako tomu je u chlorofylu *a* (experimentální spektrum je uvedeno na obrázku 12). Strukturální rozdíl mezi molekulami chlorofylu *a* a bakteriochlorofylu *a* je přítomnost acetylové skupiny na uhlíku C-3 a jednoduchá vazba na kruhu B (mezi uhlíkem C-7 a C-8). Velikost konjugovaného systému dvojných vazeb je tím zmenšena a symetrie molekuly je tím s porovnání s chlorofylovou molekulou také menší. Hlavním faktorem, díky kterému je pás Q_y posunut více do červené oproti chlorofylu *a*, je redukováná vazba na kruhu B, svůj díl má ale i přítomnosti acetylové skupiny, obdobně jako přítomnost formylové skupiny u chlorofylu *d*. Také můžeme vidět vyšší intenzitu Q_y pásu, která přesahuje intenzitu Soretova pásu, což jsme dle experimentálních spekter očekávali [7]. Spektrum je v souladu s experimentem.

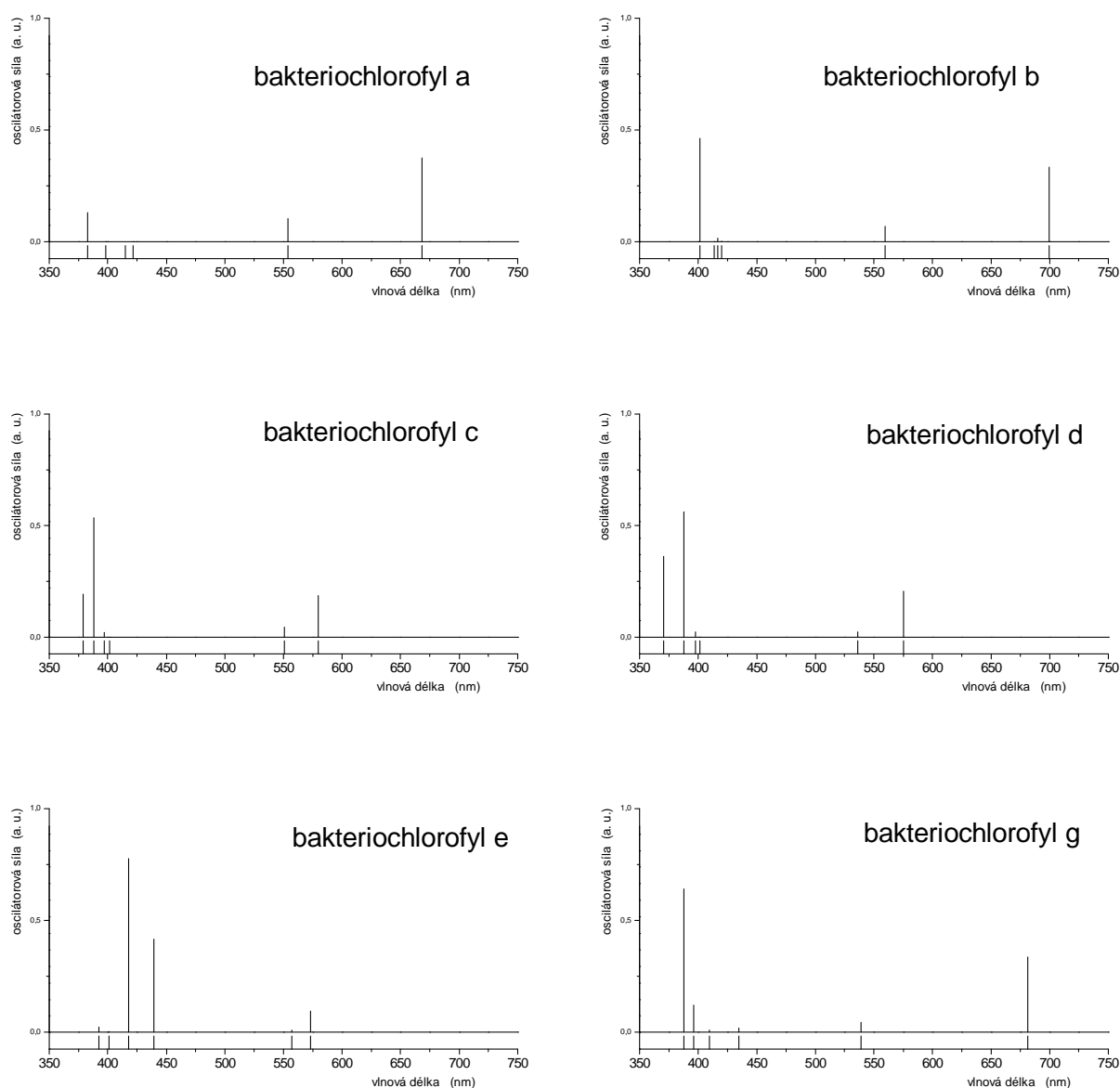


Obr. 12: Experimentální absorpční spektrum bakteriochlorofylu *a* v dietyl éteru [7].

Bakteriochlorofyl *b* má od bakteriochlorofylu *a* =CH-CH₃ skupinu na uhlíku C-8. Tato skupina posouvá Q_y pás ještě dál do téměř infračervené oblasti a díky tomu má bakteriochlorofyl *b* absorpční pásy v nejdelších vlnových délkách v porovnání s ostatním molekulám chlorofylového typu – až u 700 nm. Posun nastává v souvislosti s nárůstem délky konjugovaného systému.

Bakteriochlorofyly *c*, *d* a *e*. Jejich spektroskopické charakteristiky jsou velmi podobné, proto se uvádějí ve skupině. Dochází u nich ke změně π-elektronového systému makrocyclu (liší se od bakteriochlorofylů jako skupina chlorofylů *c* od ostatních chlorofylů). Chybějící substituent na izocyklu na uhlíku C-13-2 pravděpodobně spektrum výrazně neovlivňuje, díky vzdálenosti od tetrapyrrolového systému. V souladu s experimentálními daty je z grafu snadno pozorovaný posuv Q_y pásu od bakteriochlorofylu *c* k bakteriochlorofylu *e* k menším vlnovým délkám související se strukturálními změnami mezi jednotlivými bakteriochlorofyly. Bakteriochlorofyl *c* a *d* se liší substituentem na uhlíku C-20. Metylová skupina na bakteriochlorofylu *c* by sice svou povahou spektrum zásadně neovlivnila, ale v poloze C-20 svou přítomností narušuje symetrii celé molekuly a posouvá tak absorpční maximum bakteriochlorofylu *c* jemně do červena od bakteriochlorofylu *d*. Bakteriochlorofyl *e* sice též obsahuje metyl v poloze C-20, ale zde převládá vliv formylové skupiny na uhlíku C-7, která

také způsobí modrý posun (jako u chlorofylu *b* s formylovou skupinou ve stejné poloze na tetrapyrolovém jádře).



Graf 8: Spektra molekul bakteriochlorofylů.

Bakteriochlorofyl g má základ struktury velmi podobný chlorofylu *a*. Liší se pouze přítomností =CH-CH₃ skupiny na pozici C-8 a tím i redukcí dvojně vazby na kruhu B. Rozdíl mezi spektrem bakteriochlorofylu *g* a chlorofylu *a* můžeme přisoudit jen této změně. Počtu π -elektronů je stejný. V souladu s experimentálními daty (105 nm) je pás Q_y posunut od chlorofylu *a* do červené oblasti o 98 nm.

Vypočtená data

	λ_{\max} (nm)		
BChl a	421,88	553,64	668,34
BChl b	420,12	559,45	699,75
BChl c	401,47	550,98	579,97
BChl d	401,74	536,34	575,32
BChl e	439,21	557,24	573,23
BChl g	434,62	538,90	681,17

Experimentální data

	rozpuštědlo	λ_{\max} (nm)		
BChl a	dietyl éter	358	577	773
BChl b	dietyl éter	368	578	794
BChl c	dietyl éter	429	-	659
BChl d	dietyl éter	423	-	651
BChl e	aceton	458	-	647
BChl g	dietyl éter	404	565	767

Tabulka 7: Vypočtené a experimentální hodnoty pro molekuly bakteriochlorofylů (BChl).

6.2.4.4 Karotenoidy

Molekuly karotenoidů obsahují 40 atomů uhlíku a jejich uspořádání do řetězce zajišťuje vysokou strukturní rozmanitost této skupiny pigmentů (viz obrazová příloha). Struktura má samozřejmě vliv na podobu energetických přechodů. V této části jsme se snažili ověřit základní spektroskopické závislosti známé pro karotenoidy.

Delokalizaci π -elektronů možné ověřit analýzou délek vazeb mezi uhlíky chromoforové části polyenu. Délka jednoduché vazby mezi uhlíky je dle tabulek 1,53 Å (pro alkyany) a délka dvojnásobné vazby 1,33 Å [9]. Po geometrické optimalizaci se délka vazby u našich struktur pohybovala mezi těmito mezemi pro jednoduchou a dvojnásobnou vazbu a to v rozsahu hodnot od 1,35 Å do 1,45 Å pro chromoforovou část molekuly [9]. Přitom tyto velké rozdíly byly nalezeny v koncových oblastech chromoforu, blíže středu molekuly se délky vazeb blížily k průměrné hodnotě 1,4 Å.

Všechny struktury, které jsme uvažovali byly v konformaci *all-trans*. Vzali jsme v úvahu teoretický poznatek [9], že se spektra *all-trans* izomerů a *cis*- izomerů v zásadě neliší a vznikající rozdíly jsou v porovnání s vlivem počtu dvojnásobných vazeb v konjugovaném systému malé.

Identifikace S1 a S2 stavu. V souhlasu s teorií [9] jsme výpočtem u všech molekul došli k silné absorpci, která je spojena s povoleným přechodem z HOMO do LUMO. Další přechod je také v souladu s teorií a odpovídá kombinaci přechodů z HOMO do LUMO+1 a z HOMO-1 do LUMO. Tento přechod by měl být zakázán, což je v získaných spektrech patrné. Nárůst oscilátorové síly u struktur molekul anteraxantin, peridinin a fukoxantin je způsoben narušením symetrie, které pak přechod udělá „více povoleným“.

Karotenoidy mají poměrně jednoduchá absorpční spektra se třemi maximy vzniklými přechodem z nejnižší vibrační hladiny základního stavu do nejnižších vibračních hladin

elektronového excitovaného stavu. Protože jsme se vibračním problémem nezabývali můžeme s experimentálními hodnotami porovnat pouze námi první spočtený přechod.

V tabulce 8 jsou uvedeny vypočtené hodnoty poloh absorpčních linií a odpovídající experimentální data. Získané hodnoty jsou vyneseny do grafů 9-12. Z porovnání je vidět, že je první (čára s nejdelšími vlnovými délkách) čára u všech počítaných molekul posunutá oproti experimentu více do červena – v průměru o 70 nm. Bereme-li v úvahu tento posun dosáhli jsme dobré shody s experimentem a získali jsme všechny očekávané závislosti spektroskopických vlastností na struktuře.

V následujících odstavcích se budu věnovat konkrétním pozorovaným spektrálním vlastnostem karotenoidů. Uvedená experimentální data pochází z [8].

Vypočtená data

	λ_{\max} (nm)	f (a.u.)
fytoen	310,22	1,7078
neurosporen	548,21	3,8276
lykopen	620,87	4,5005
β -karoten	566,38	3,8711
zeaxantin	565,14	3,8931
anteraxantin	551,43	3,8582
violaxantin	536,02	3,8974
peridinin	528,11	3,4482
fukoxantin	529,24	3,5688

Experimentální data

	rozpouštědlo	λ_{\max} (nm)
fytoen	hexan	297
neurosporen	hexan	468
lykopen	hexan	502
β -karoten	hexan	478
zeaxantin	etanol	478
anteraxantin	etanol	474
violaxantin	etanol	470
peridinin	hexan nebo etanol	485
fukoxantin	etanol	475

Tabulka 8: Vypočtené a experimentální hodnoty absorpčních pásů molekul karotenoidů.

Vliv délky chromoforu

Očekávanou vlastností byl posun polohy absorpčních pásů do červené oblasti s narůstající délkou chromoforu. Tento efekt je dobře pozorovatelný u molekul fytoenu (3), neurosporenu (9) a lykopenu (11), což jsou lineární molekuly lišící se pouze délkou chromoforu. Z grafu 9 a následující souhrnné tabulky je vidět, že vypočtená data jsou v souladu s experimentem. Jak délka chromoforu narůstá, je možné pozorovat pokles hodnoty červeného posunu linie mezi molekulami lišícími se o dvě dvojně vazby. Experimentální posun od molekuly se třemi dvojnými vazbami k molekula s pěti dvojnými vazbami je 62 nm [8, 9] a experimentální posun od neurosporenu k lykopen o 30 nm. Z vypočtených dat je pokles nárůstu vlnové délky přidáním dvojných vazeb kvalitativně v souladu s teorií, ale

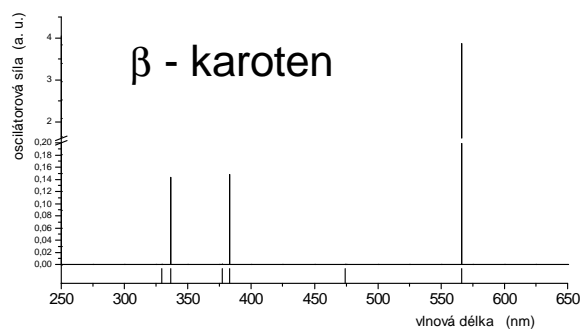
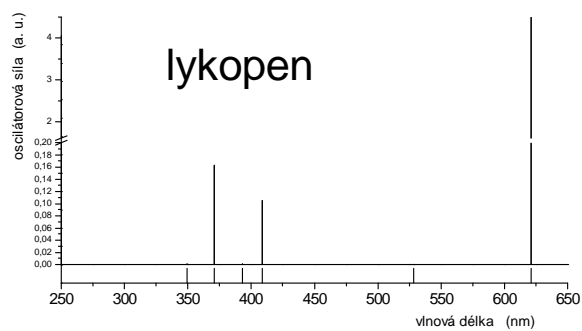
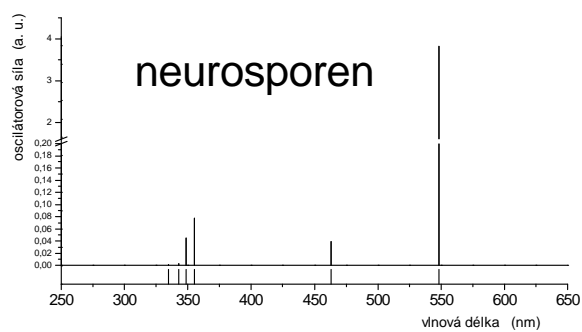
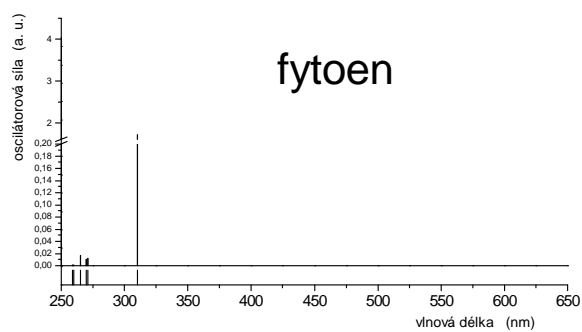
zjištěný posun na dvě dvojné vazby byl v našich výpočtech větší. Průměrný nárůst byl určen na 78 nm na dvě dvojné vazby (lineární regresí). Pozorovaný posun pásů je způsoben tím, že u delšího π -elektronového systému je k excitaci potřeba méně energie a dochází k ní proto při delších vlnových délkách.

Z grafů je patrný také nárůst oscilátorové síly nejčervenějšího absorpčního pásu s délkou chromoforu.

Vliv kruhového zakončení – β -cyklus

Pro popis závislosti výskytu kruhového zakončení karotenoidové molekuly byly vybrány molekuly lykopenu a β -karotenu, které mají stejně dlouhý systém konjugovaných vazeb, ale β -karoten má lineární řetězec zakončen na obou koncích tzv. β -kruhem.

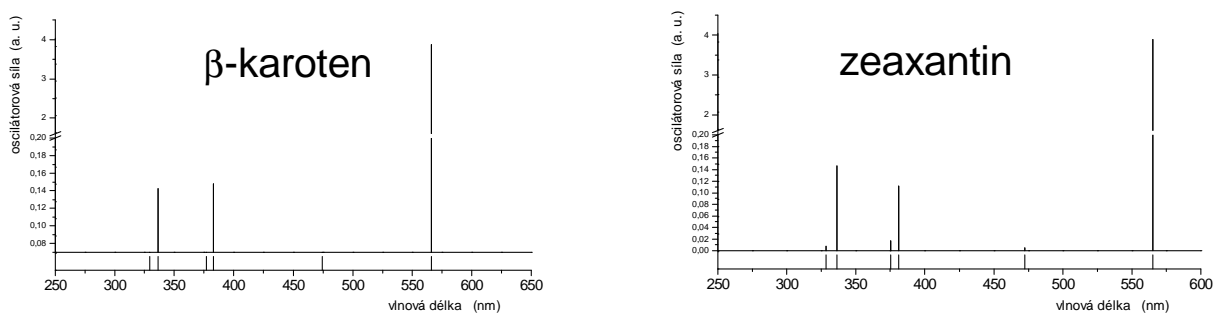
Z vypočtených hodnot vyplývá, že přítomnost β -kruhů posouvá absorpční maximum z oblasti 621 nm (hodnota pro první absorpční maximum) u lykopenu k 566 nm u β -karotenu. Modrý posuv vykazují i ostatní čáry ve spektru. Intenzita absorpčního maxima β -karotenu je menší než u lykopenu. Experimentální posuv je sice menší, pozorovaná závislost přítomnosti kruhového zakončení odpovídá experimentu.



Graf 9: Vliv délky chromoforu na pozici absorpčních pásů a vliv přítomnosti β -kruhu.

Vliv přítomnosti hydroxylové skupiny

Ze všech kyslíkatých derivátů uhlovodíků jsou nejběžnější a nejvýznamnější karotenoly. Z naší skupiny pigmentů je takovým kyslíkatým derivátem zeaxantin, který je odvozen od β -karotenu přidáním dvou hydroxylových skupin na uhlících C-3 koncových kruhů.



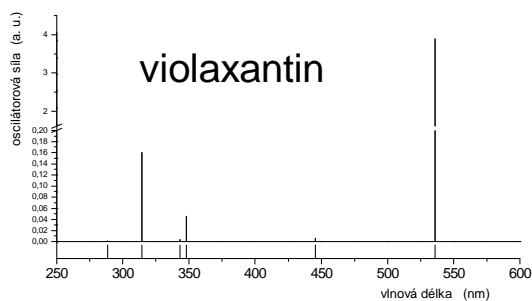
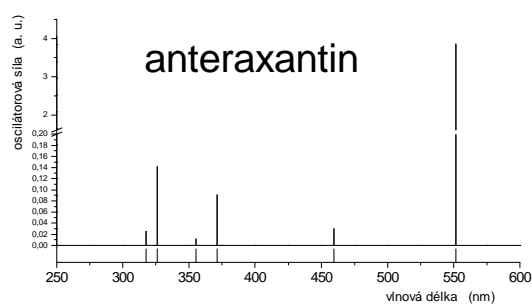
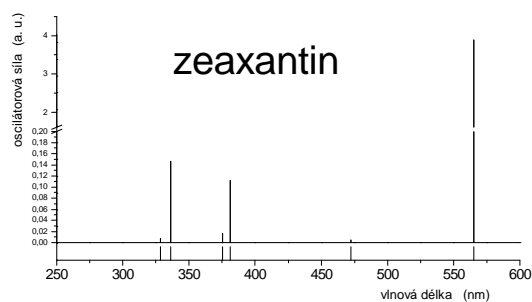
Graf 10: Vliv přítomnosti hydroxylové skupiny.

Experimentální data ukazují, že absorpční spektra těchto molekul jsou shodná. Shoda je možná vidět i ve vypočtených datech a uvedených grafech. Hydroxylová skupina totiž nemá na spektrum vliv, protože neobsahuje žádnou dvojnou vazbu, kterou by mohla ovlivnit systém konjugovaných dvojných vazeb odpovědných za spektrální vlastnosti karotenoidů.

Vliv přítomnosti epoxy skupiny – xantofylový cyklus

Xantofylový cyklus je součástí významných pochodů regulace přenosu energie, tzv. fotoochrany rostlin a prostřednictvím hodnoty pH je silně závislý na množství světla dopadajícího na anténní komplexy. Uvažované molekuly zeaxantinu (0), anteraxantinu (1) a violaxantinu (2) se liší počtem epoxy skupin (počet skupin je uveden za názvem v závorce). Fotoochrana je založená na rozdílné absorpci těchto velice podobných molekul.

Z grafů je vidět modrý posun absorpčních čar od zeaxantinu k violaxantinu, což je samozřejmě způsobeno poklesem délky chromoforu (viz výše). Modrý posuv je v souladu s experimentem. Experimentální posuv mezi jednotlivými molekulami je ale menší. Posuv od zeaxantinu k anteraxantinu a od anteraxantinu k violaxantinu je o stejnou hodnotu vlnové délky. Toho bylo dosaženo i v našich výsledcích. Intenzita absorpčních čar má ve stejném sledu nepatrně klesající charakter (viz graf 11).



Graf 11: Grafy molekul karotenoidů, které se účastní xantofylového cyklu.

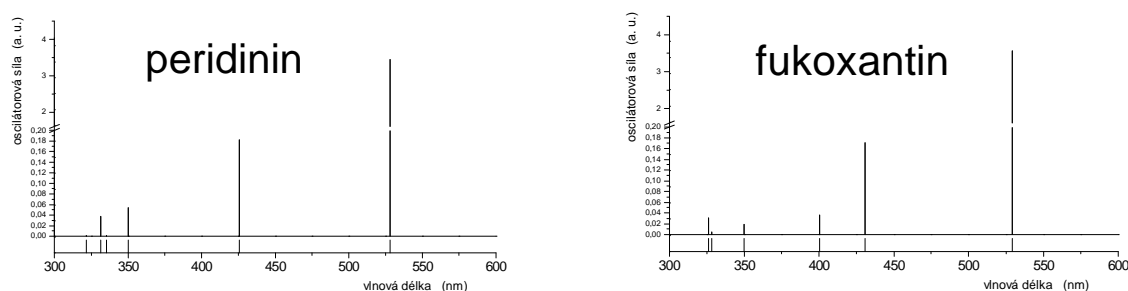
Vliv přítomnosti dalších skupin

Zbývající dva karotenoidy využijeme pro popis vlivu přítomnosti dalších substituovaných skupin ve struktuře.

Základní struktura peridininu a fukoxantinu je stejná. Peridinin i fukoxantin obsahují skupinu (-CH=C=CH-), díky které hrají významnou roli u řas, které neobsahují chlorofyl *b* ve

svých anténách. Dvě za sebou následující dvojné vazby jsou u jednoho z koncových zakončení. Přítomnost této skupiny má podle teorie posouvat spektrum do červena od obdobných karotenoidů, které ji ve své struktuře neobsahují. Z vybraných molekul tento efekt ověřit nelze.

Fukoxantin navíc obsahuje keto skupinu na uhlíku C-8 a peridinin obsahuje v blízké oblasti lakto skupinu.



Graf 12: Grafy spekter peridininu a fukoxantinu.

Keto skupina posouvá spektrum jemně do červena (má vliv na systém dvojných vazeb). Z uvažovaných molekul můžeme spektrum fukoxantinu porovnat např. se spektrem neurosporenu. Uvažujeme-li délku chromoforu, tak je fukoxantinový absorpční pás správně posunut do modra od neurosporenového.

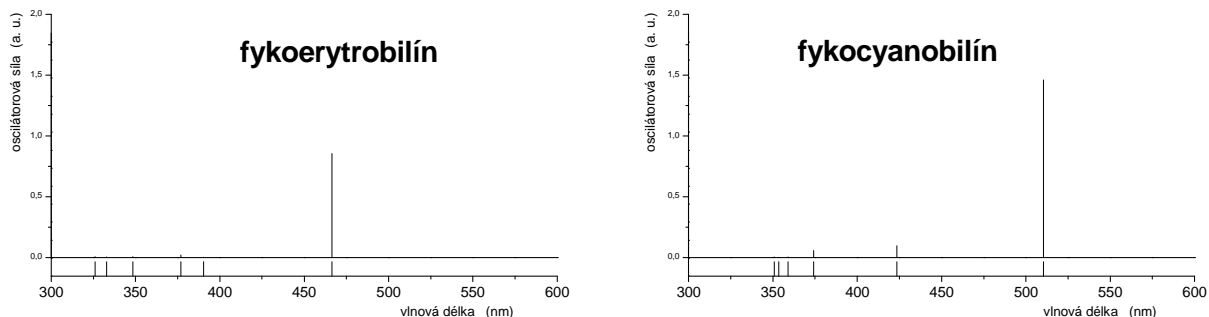
Absorpční maximum fukoxantinu je o málo menší než maximum peridininu a v přibližně stejných vlnových délkách. Experimentální data vykazují rozestup těchto maxim, který zde ale pozorovaný nebyl. Srovnání se spektry ostatních karotenoidů také vykazuje určité nesrovnalosti oproti experimentálním závislostem, kterými by bylo vhodné se dále zabývat.

6.2.4.5 Fykobilíny

Výsledky jsou uvedeny v grafu 13 a tabulce 9.

Pro porovnání základních spektrálních vlastností fykobilínových struktur byly zvoleny molekuly fykoerytrobilínu a fykocyanobilínu (viz obrazová příloha). Zásadní rozdíl mezi těmito molekulami je v délce chromoforu. Fykoerytrobilín obsahuje jeden nasycený můstek (-CH₂-) a ostatní nenasycené (-CH=) a fykocyanobilín má všechny můstky nenasycené, tudíž délka chromoforu u fykocyanobilínu je větší. Vzájemný vztah mezi oběma spektry je ve

shodě s experimentálními daty. Shoduje se i závislostí polohy absorpčního maxima na délce délky chromoforu, kterou jsme získali u molekul karotenů (viz 4.2.4.4 – vliv délky chromoforu).



Graf 13: Absorpční spektra fykobilinů.

Dalším rozdílem mezi molekulami je počet vazeb na protein. V případě fykocyanobilínu je možná pouze jedna vazba, v případě fykoerytrobilínu je možné jeho navázání na protein jak přes jednu vazbu tak prostřednictvím dvou vazeb. I tento fakt byl ve výpočtech uvažován. Pro lepší srovnání vlivu vazby na protein na elektronové přechody u molekuly fykoerytrobilínu, byla ponechána jeho struktura z předchozího výpočtu (se dvěma vazbami na protein), pouze jsme změnil počet vazeb a celou strukturu znovu optimalizovali. Z následující tabulky je vidět, že poloha prvního absorpčního pásu, zodpovědného za absorpci molekuly, se téměř nezmění. Povaha dalších přechodů je ale výrazně jiná, nejde ale o přechody intenzivní a tak k celkové absorpci nemají velký příspěvek.

Vypočtená data

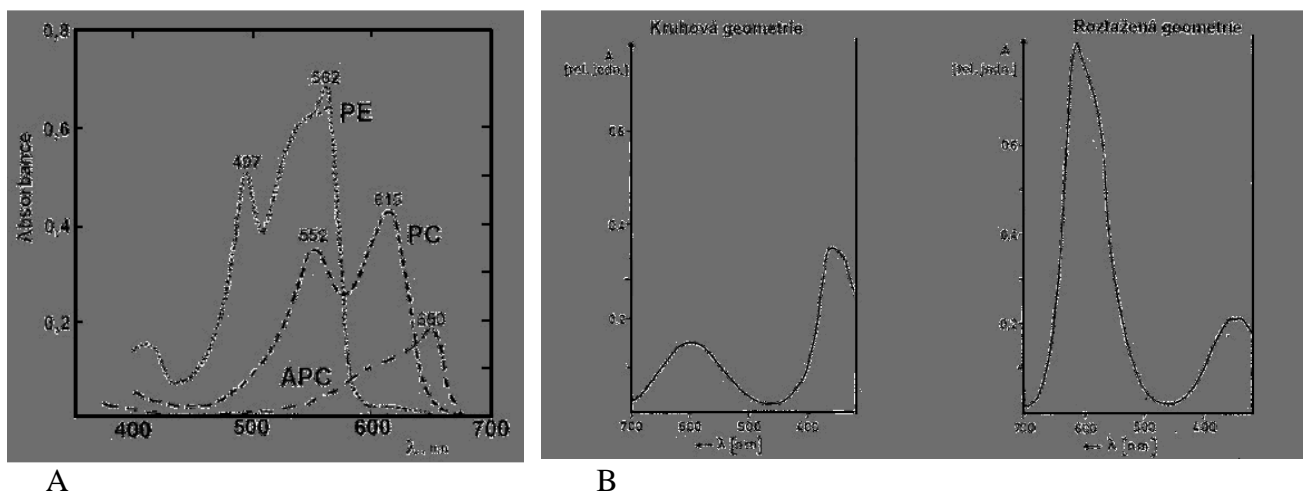
fykocyanobilín		fykoerytrobilín (2ak)		fykoerytrobilín (1ak)	
λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)	λ (nm)	f (a.u.)
510,47	1,4598	466,37	0,8555	465,78	0,8334
423,59	0,0965	390,39	0,0013	377,54	0,0183
374,13	0,0560	376,97	0,0202	349,34	0,0043
359,05	0,0042	348,38	0,0050	333,24	0,0191
353,53	0,0005	332,84	0,0046	332,44	0,0004
350,75	0,0041	325,96	0,0075	325,79	0,0456

Experimentální data [3]

fykocyanobilín	fykoerytrobilín
λ (nm)	λ (nm)
615	562
552	497

Tabulka 9: Souhrn vypočtených a experimentálních dat pro molekuly fykobilinů.

Poloha vyššího absorpčního pásu v červené oblasti je u vypočtených spekter posunutá zhruba o 100 nm do modra. To lze vysvětlit jak už bylo řečeno výše použitou bází, funkcionálem nebo molekulárním prostředím. Fykobilíny jsou ale na rozdíl od ostatních pigmentů kovalentně vázány k proteinům, a proto jsou jejich absorpční vlastnosti ovlivněny z velké míry působením bílkoviny než samotnou strukturou pigmentu. U molekul fykobilinů byl jsme zaznamenali, že modrý posuv vypočtených od experimentálních přechodů je největší. Tento posuv oproti experimentálním datům může být způsoben tedy tím, že námi počítané prostorové uspořádání atomů pigmentu je pravděpodobně odlišné od struktury pigmentu v biologickém vzorku. Na následujících obrázcích je vliv proteinu znázorněn v části B.



A

B

Obr. 13: A Absorpční spektra fykoerytrinu (PE), fykocyaninu (PC) a allofykocyaninu (APC). B Vliv interakce fykobilínu s proteinem na absorpční spektra.

Vzájemná poloha pásů obou molekul odpovídá experimentu. Hlavní absorpční pás fykoerytrobilínu je o 44nm v modré oblasti oproti stejnému pásu u fykocyanobilínu. V experimentálních datech je tento posuv 53nm. Délka chromoforu fykocyanobilínu je delší než délka chromoforu fykoerytrobilínu a spektra mají stejnou závislost polohy absorpčního pásu na délce chromoforu jako je tomu u molekul karotenoidů a odpovídá tedy očekávaní.

Velikosti absorpčních pásů neporovnávám s experimentálními daty (viz obrázek), protože jsou z uvedeného značně závislé na konkrétním uspořádání molekuly.

7. Závěr

RC PS II

V práci jsou prezentovány vypočtená spektra vybraných částí chlorofylofeofytinového komplexu RC PS II z modelu 1DOP. Spektra monomerních jednotek byla spočtena semiempirickou metodou ZINDO a ab initio metodou DFT pomocí funkcionálu B3PW91. Spektra dosažená metodou ZINDO jsou posunutá více do červené oblasti, spektra získaná pomocí metody DFT více do modré oblasti oproti experimentálním hodnotám pro molekulu chlorofylu *a*. Ukázala jsem, že na získané elektronové spektrum má vliv rovněž kvalita použité báze v DFT metodě. Na velikosti této báze pak závisí také velikost modrého posuvu. S ohledem na tento posuv jsou vypočtené elektronové přechody v souladu s experimentálními poznatky.

Semiempirickou metodu ZINDO jsme použili i na větší systémy z chlorofylofeofytinového komplexu RC PS II – dimer, trimery, tetramery a hexamer, které vždy obsahovali centrální dimer. Byly nalezeny rozdíly mezi spektry skupin pigmentů v aktivní a neaktivní větvi RC. Očekávaný posun absorpčních čar (od chlorofylu *a*) charakteristický pro P680 byl nalezen pouze u centrálního dimeru. Posuv byl srovnáván s vypočteným spektrem chlorofylu *a*, kde byly před výpočtem elektronových přechodů energeticky optimalizovány všechny souřadnice. Pozorovaný posuv spektrálních linií byl zjištěn menší, než jaký se udává pro P680 od chlorofylu *a*. U ostatních systémů nebyl žádný červený posuv nalezen. Z toho je možné usuzovat, že P680 je tvořen pravděpodobně pouze centrálním dimerem.

V dalším studiu by bylo vhodné uvedená spektra vybraných částí (dimer, trimer, tetramer, hexamer) spočítat některou ab initio metodou a ověřit pozorované závislosti a vhodnost použití ZINDO metody na větší komplexy. Významným rozšířením výsledků by bylo také zahrnutí okolí pigmentových molekul do výpočtů a posouzení vlivu na elektronové přechody.

V současné době probíhá studium elektronových přechodů monomerních a dimerních jednotek ve formě radikálů.

Pigmenty

Spektra molekul pigmentů (chlorofylů, bakteriochlorofylů, karotenů a fykobilínů) byla spočtena na metodou DFT.

Opět jsme se setkali s posuvem vypočtených hodnot od experimentálních dat, který je možno považovat za vliv použité báze. Hodnota posunu byla charakteristická pro danou skupinu pigmentů. S ohledem na tuto skutečnost je většina vypočtených hodnot v souladu s experimentálními daty. Posuzovali jsme vliv struktury na spektrální vlastnosti molekuly. Sledovanými závislostmi byla přítomnost různých substituentů, délka chromoforu a vybrané modifikace struktury. Tyto závislosti jsou rovněž v dobré shodě se závěry z naměřených spekter.

8. Literatura

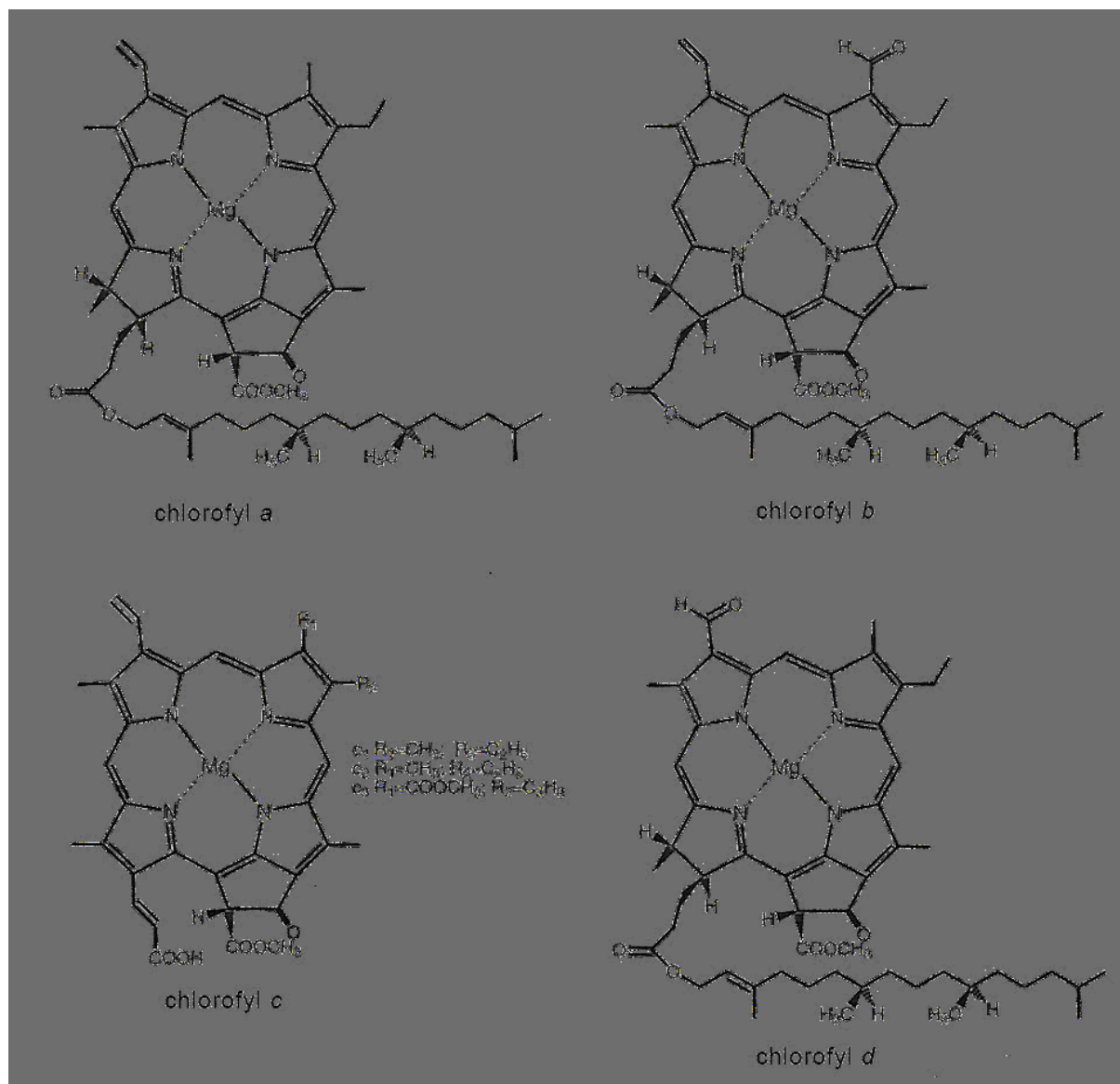
- [1] R. E. Blankenship, *Molecular Mechanisms of Photosynthesis* (2002).
- [2] D. D. Lawlor, *Photosynthesis* (1993).
- [3] J. Hála, J. Šetlík, *Biofyzika fotosyntézy* (1999).
- [4] J. Šeda, *Diplomová práce, Univerzita Karlova* (2003).
- [5] V. Brázdová, *Diplomová práce, Univerzita Karlova* (1999).
- [6] B. Svensson *et al.*, *Biochemistry* **35** (1996).
- [7] H. Scheer, *Chlorophylls* (1991).
- [8] G. Britton, *Carotenoids* B. V. Basel, Ed. (1995), vol. 1B.
- [9] B. E. Kohler, *Carotenoids* B. V. Basel, Ed. (1995), vol. 1B.
- [10] M. Loew, *Diplomová práce, Univerzita Karlova* (1997).
- [11] J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, H. Michel, *Nature* **318**, 618 (1985).
- [12] J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, H. Michel, *Journal of Molecular Biology* **180**, 385 (1984).
- [13] J. Deisenhofer, H. Michel, R. Huber, *Trends in Biochemical Science* **10**, 243 (1985).
- [14] K. N. Ferreira, T. M. Iverson, K. Maghlaoui, J. Barber, S. Iwata, *Science* **303**, 1831 (2004).
- [15] N. Kamiya, J.R. Shen, *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* **100**, 98 (2003).
- [16] O. Nanba, K. Satoh, *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* **84**, 109 (1987).
- [17] A. Zouni *et al.*, *Nature* **409**, 739 (2001).
- [18] E. J. G. Peterman, H. van Amerongen, R. van Grondelle, J.P. Dekker, *Proceeding of the National Academy of Science of th United States of America* **95**, 6128 (1998).
- [19] L. M. C. Barter, J. R. Durrant, D. R. Klug, *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* **100**, 946 (February 4, 2003, 2003).
- [20] J. R. Durrant *et al.*, *Solar Energy Materials and Solar Cells* **38**, 135 (1995).
- [21] J. R. Durrant *et al.*, *Chemical Physics Letters* **188**, 54 (1992).
- [22] J. R. Durrant *et al.*, *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* **92**, 4798 (May 23, 1995, 1995).
- [23] L. Konermann, A. R. Holzwarth, *Biochemistry* **35**, 829 (1996).
- [24] L. Konermann, I. Yruela, A. R. Holzwarth, *Biochemistry* **36**, 7498 (1997).
- [25] V. L. Tetenkin, B. A. Gulyaev, M. Seibert, A.B. Rubin, *FEBS Letters* **250**, 459 (1989).
- [26] M. Gouterman, *The Porphyrins* (1977).
- [27] M. Gouterman, *J. Molec. Spectroscopy* **6**, 138 (1961).
- [28] M. Gouterman, *J. Chem. Phys.* **30**, 1139 (1959).
- [29] M. Gouterman, G. H. Wagniere, *J. Mol. Spec.* **11**, 108 (1963).
- [30] P. Čárský, M. Urban, *Ab initio výpočty v chemii* (1985).
- [31] L. Skála, *Kvantová teorie molekul* (1994).
- [32] A. Szabo, N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry* (1996).
- [33] A. D. Bacon, M. C. Zerner, *Theor. Chim. Acta* **53**, 21 (1979).
- [34] M. A. Thompson, M. C. Zerner, *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 8210 (1991).
- [35] M. Zerner, M. Gouterman, *Theret. chim. Acta* **4**, 44 (1966).
- [36] M. J. Frisch *et al.*, *Gaussian 98, Revision A.11.3* (1998).

- [37] M. J. Frisch *et al.*, *Gaussian 03, Revision A.1* (2003).
- [38] P. Hohenberg, W. Kohn, *Physical Review* **136**, b864 (1964).
- [39] W. Kohn, L. J. Sham, *Physical Review* **140**, a1133 (1965).
- [40] J. V. Burda, J. Šeda, V. Brázdová, V. Kapsa, *Int. J. Mol. Sci.* **5**, 196 (2004).
- [41] D. Sundholm, *Chemical Physics Letters* **317**, 545 (2000).
- [42] D. Sundholm, *Chemical Physics Letters* **302**, 480 (1999).

9. Příloha A

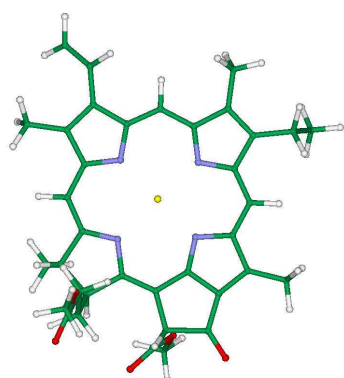
9.1 Fotosyntetické pigmenty – obrazová příloha

A.1 Chlorofyly - Schematicky zakreslené struktury

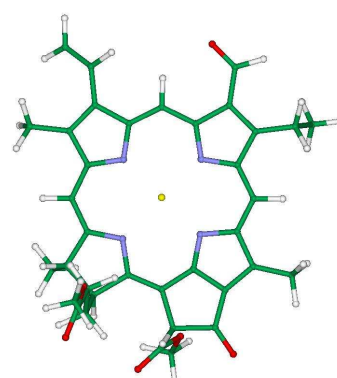


Obr. A1: Schematické znázornění struktur chlorofylů.

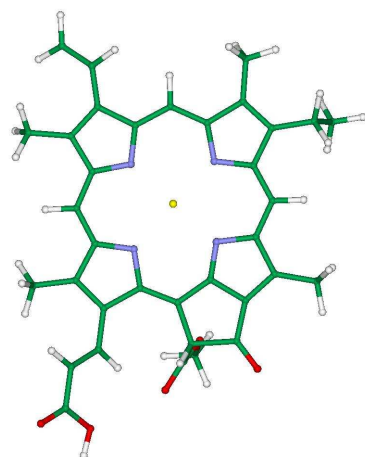
A.2 Chlorofyly – molekulové sktruktury



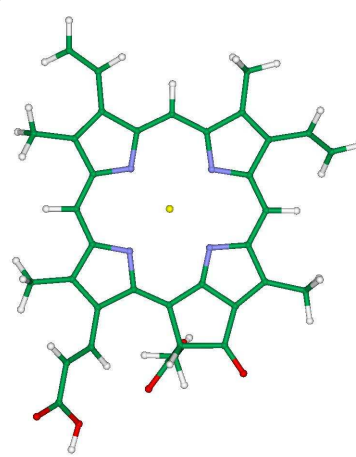
chlorofyl *a*



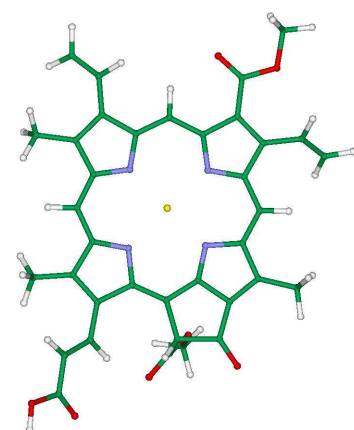
chlorofyl *b*



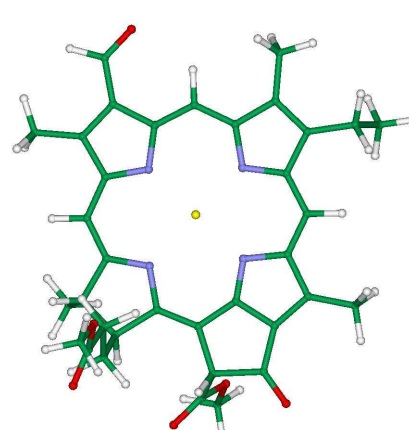
chlorofyl *c1*



chlorofyl *c2*



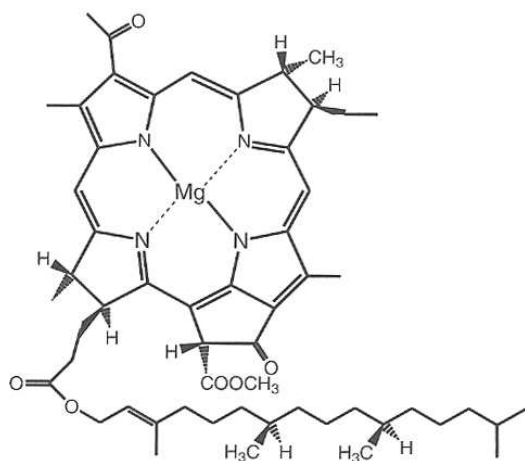
chlorofyl *c3*



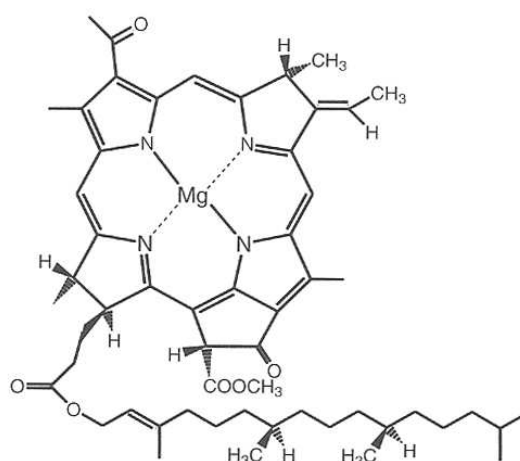
chlorofyl *d*

Obr. A2: Použité struktury molekul chlorofylů.

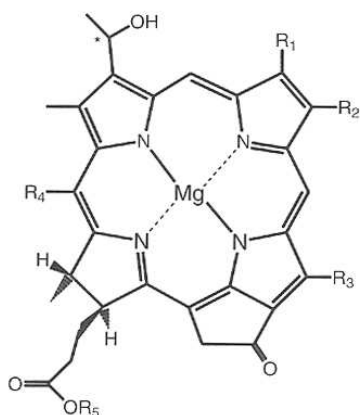
A.3 Bakteriochlorofyly - Schematicky zakreslené struktury



bakteriochlorofyl a

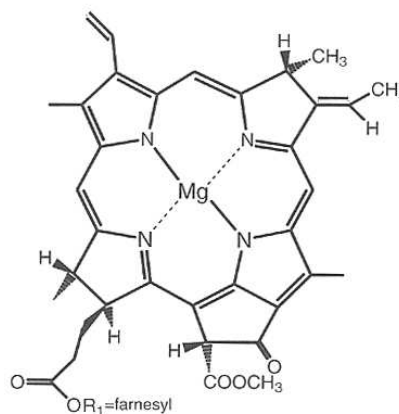


bakteriochlorofyl b



Bchl c R₁=Me; R₂=Et, R₃=Me, R₄=Me; R₅= farnesyl
 Bchl d R₁=Me; R₂=Et, R₃=Me, R₄=H; R₅=farnesyl
 Bchl e R₁=CHO; R₂=Et, R₃=Et; R₄=Me; R₅=farnesyl

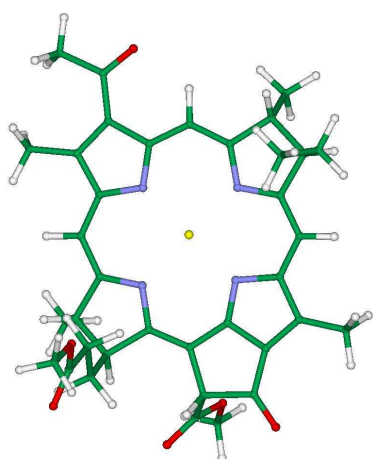
bakteriochlorofyl c, d, e



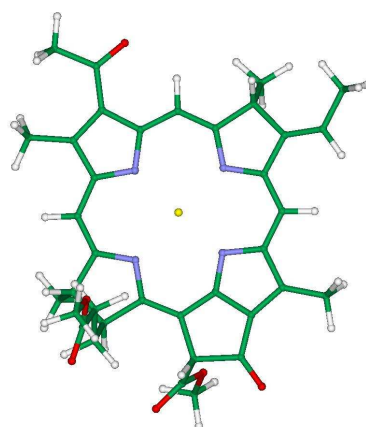
bakteriochlorofyl g

Obr. A3: Schematické znázornění struktur bakteriochlorofylů.

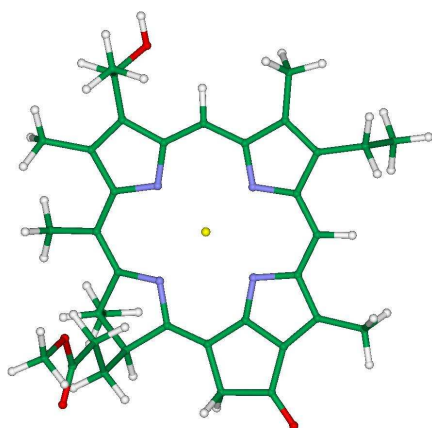
A.4 Bakteriochlorofyly – molekulové struktury



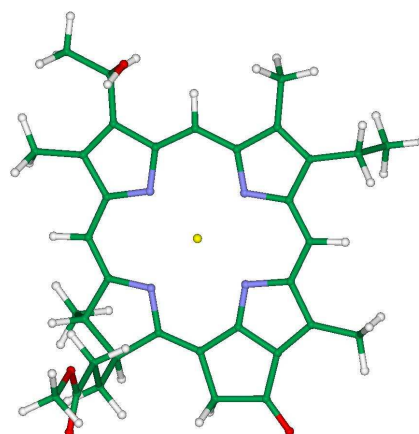
bakteriochlorofyl *a*



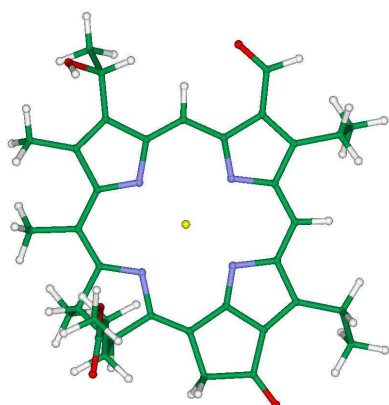
bakteriochlorofyl *b*



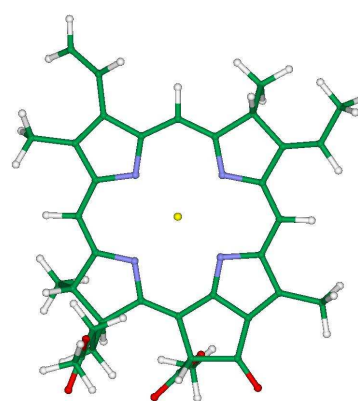
bakteriochlorofyl *c*



bakteriochlorofyl *d*



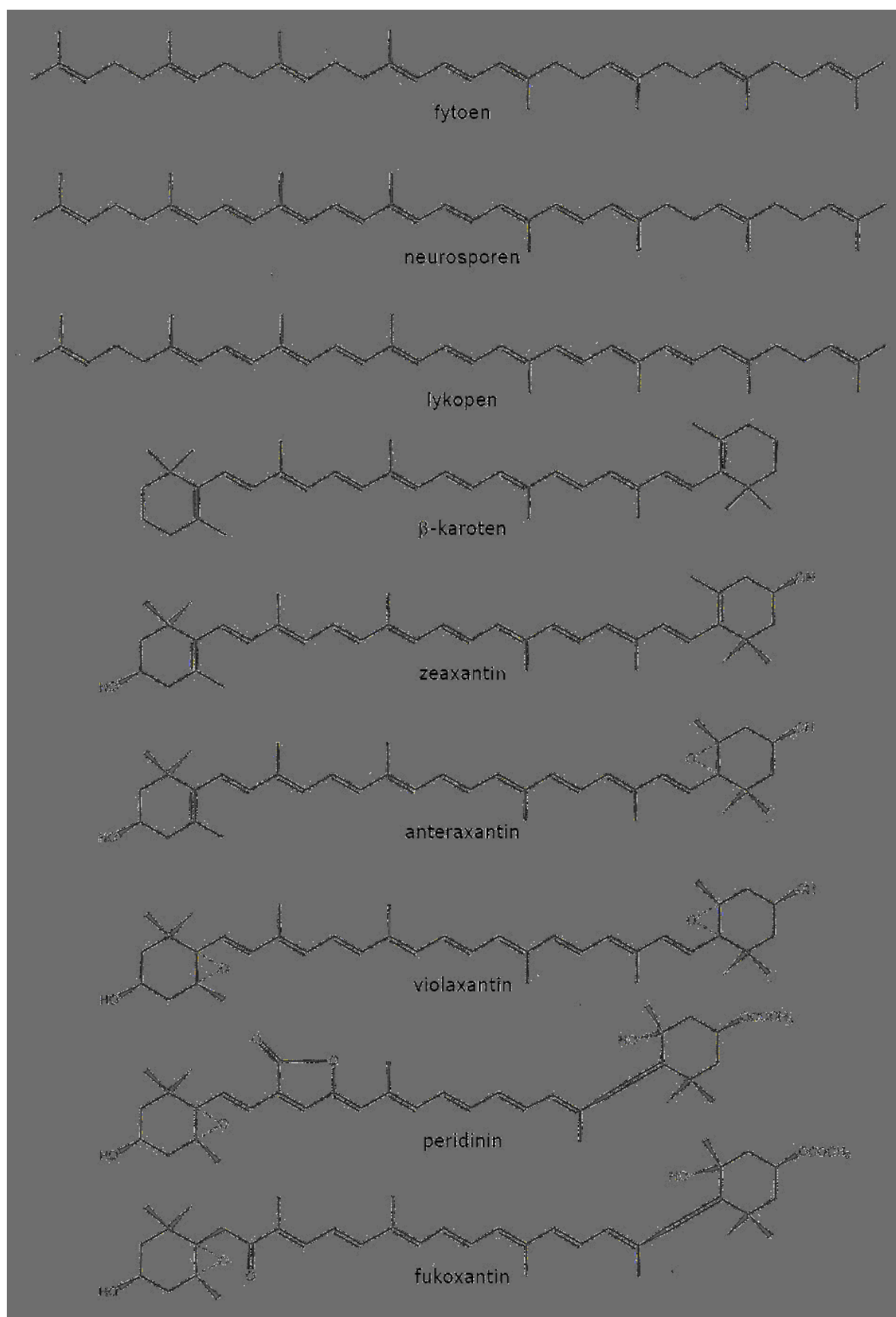
bakteriochlorofyl *e*



bakteriochlorofyl *g*

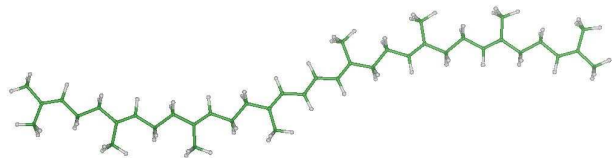
Obr. A4: Použité struktury molekul bakteriochlorofylů.

A.5 Karotenoidy - Schematicky zakreslené struktury

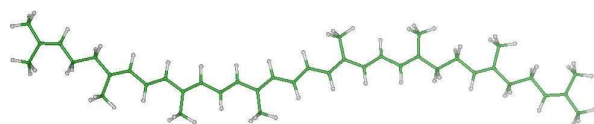


Obr. A5: Schematické znázornění struktur karotenoidů.

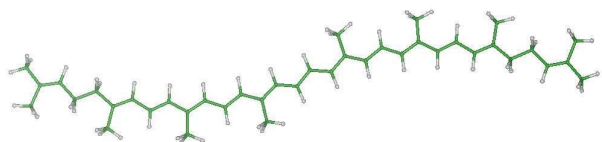
A.6 Karotenoidy – molekulové struktury



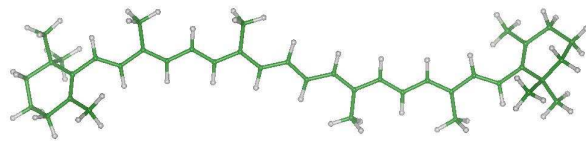
fytoen



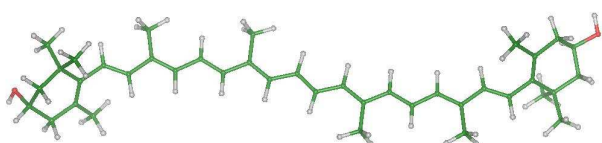
neurosporen



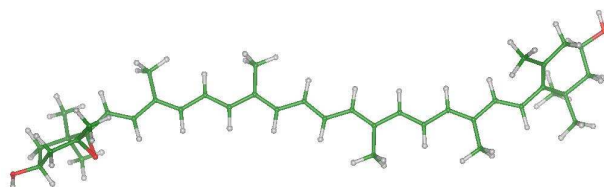
lykopen



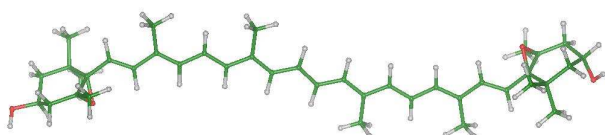
β -karoten



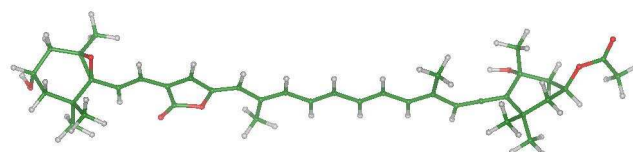
zeaxantin



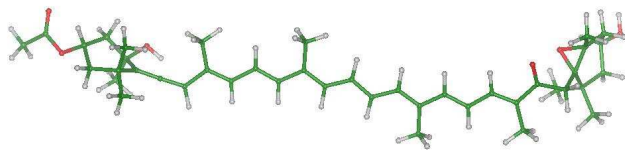
anteraxantin



violaxantin



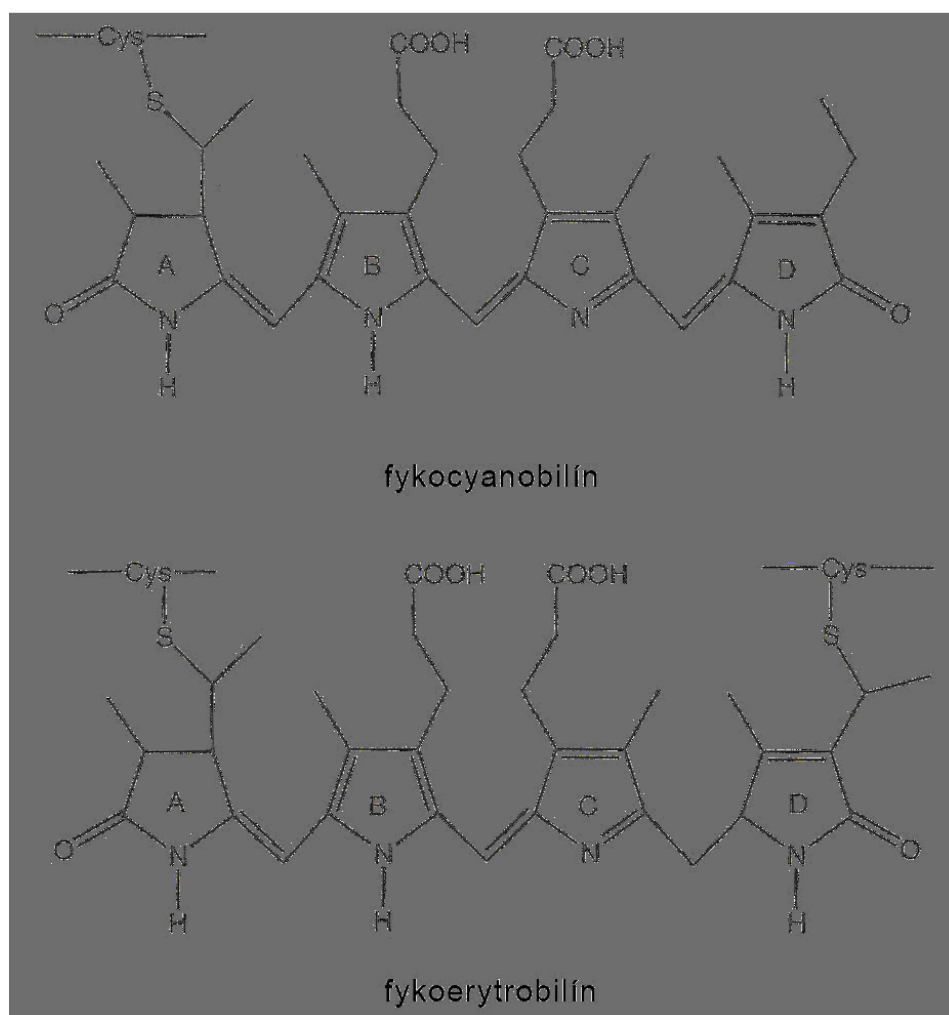
peridinin



fukoxantin

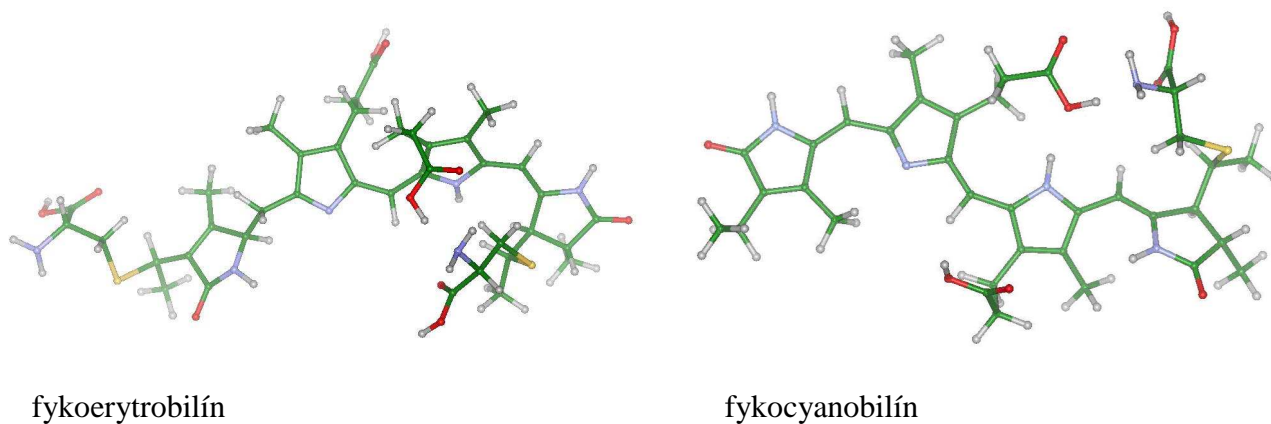
Obr. A6: Použité struktury molekul karotenoidů.

A.7 Fykobilíny - Schematicky zakreslené struktury



Obr. A7: Schematické znázornění struktur fykobilínů.

A.8 Fykobilíny - molekulové struktury



Obr. A8: Použité struktury molekul fykobilínů.

Computational Study on Spectral Properties of the Selected Pigments from Various Photosystems: Structure–Transition Energy Relationship

Zuzana Vokáčová and Jaroslav V. Burda*

Department of Chemical Physics and Optics, Faculty of Mathematics and Physics, Charles University, Ke Karlovu 3, 121 16 Prague 2, Czech Republic

Received: February 28, 2007; In Final Form: April 21, 2007

In this study, the most important kinds of pigments (chlorophylls, bacteriochlorophylls, phycobilins, and carotenoids) from various photosystems were explored. For the most stable conformations, electronic transitions were determined at the TDDFT/6-31+G(d) level with the B3PW91 functional and compared to measured spectra. The group of carotenoids was also investigated at the TDA/TDDFT level with the BLYP functional. The energies of Q_y transitions are systematically blue-shifted by about 50–100 nm in the case of (bacterio)chlorophyll and pheophytin molecules. Nevertheless, the correct relative order of the Q lines among various chlorophyll types was obtained through comparison with experimental results. Much better agreement was obtained for the Soret band, for which the differences between calculated and measured transitions were at most 35 nm. In the case of phycobilins, the first transition line was estimated to be at lower frequencies (around 500 nm) with a very similar blue shift of about 100 nm from experimental values. The influence of anchoring cysteine side chain(s) was found to be marginal. A dominant effect of the linear polyene chain on the determined spectral lines was found in the case of carotenoids. Nevertheless, the impact of β -cycles and epoxy and keto groups is clearly visible as well. The high intensity of the first allowed transition matches different characters of the HOMO and LUMO. In the case of fucoxanthin, the TDA method also predicts the B_u^- state to lie below the $1B_u^+$ state. Because the shift of electron transitions is approximately proportional to the size of the π -conjugated system, the shift of the calculated transitions compared to experimental values is practically constant for the same excitations of (bacterio)chlorophyll and phycobilin molecules. However, this is not true for carotenoids, for which both the transition energy and the shift of the transition vary with the number of conjugated double bonds.

Introduction

Photosynthetic pigments represent the lifeblood of all photoautotrophic organisms. There are basically three classes of photosynthetic pigments: (bacterio)chlorophylls, carotenoids, and the smaller but still important phycobilins.¹ These pigments have been studied for many years, and several investigators have been recognized with Nobel Prizes in the distant and even recent past for elucidating the importance of the subject. Despite the great effort devoted to this subject, there is still much room for further exploration. We decided to examine the electron transition spectra of individual structures and the relationship between structure and transition energy in the above-mentioned pigment classes.

Experimental electronic spectra of these compounds can be found in many papers, monographs,² and spectral encyclopedias.³ Because this work has a computational character, we concentrate here mainly on the theoretical studies dealing with spectra predictions (or estimations) performed on the chosen pigments and their models, using measured spectra for comparison and approximate error estimation.

For (bacterio)chlorophylls, the very first calculations were performed by Gouterman and co-workers^{4–6} on the porphyrin ring, introducing the four-orbital model. Following these initial efforts, many other researchers have performed calculations at various levels using different models frequently based on free-

base porphyrin; see, for instance, refs 7–24. These calculations are usually used for method-testing purposes, and up to now, they have usually been too demanding for larger pigment molecules or their aggregates. The electronic spectra of chlorophyll *a* have been explored in many studies, including those of Hasegawa et al.,²⁵ who used the relatively high-accuracy SAC-CI (symmetry-adapted cluster-configuration interaction) method, and Parusel and Grime,²⁶ who compared chlorophyll *a* and pheophytin. The orientation of two porphyrin rings in a dimeric arrangement was investigated and compared with experimental data (Raman spectroscopy) by Jeong et al.²⁷

Spectroscopic properties of some bacteriochlorophylls (*a*, *b*, *c*1–3, and *d*) were studied using a semiempirical approach by Linnato et al.^{28,29} Later, they extended the explored systems to self-organized aggregates of bacteriochlorophylls³⁰ and the LH II antenna structure.³¹ Cory et al.³² determined semiempirically electronic excitations in larger aggregates of bacteriochlorophylls. Accurate TDDFT (time-dependent density functional theory) calculations of chlorophyll *a* and bacteriochlorophyll *b* spectra have been published by Sundholm.^{33,34}

In the case of (bacterio)chlorophyll molecules, for a comparison with experimental data, we used measurements of absorption spectra,^{35,36} circular dichroism,³⁷ and fluorescence and absorption spectra.^{38,39}

Phycobilins belong to the second group of pigments that are present in photosynthetic complexes. Phycobilins are linear open-chain tetrapyrrole systems anchored in proteins. An

* Corresponding author. E-mail: burda@karlov.mff.cuni.cz.

interesting recent study⁴⁰ addressed the spectral characterization of phycoerythrin in combination with quantum chemical calculations. Another study investigated regulation of the absorbed excitation energy by chlorophyll and phycobilin. Their models are based on X-ray structures of PS I, PS II, and allophycocyanin.⁴¹

Carotenoids are the last family of photosynthetic pigments that we examine in this study. Molecular structures of selected carotenoids were previously calculated semiempirically (AM1) by Hashimoto et al.⁴² The obtained structures were compared with geometries from X-ray crystallography. Similarly, in the work of Wang et al.,⁴³ structural characteristics and (stacking) stabilization energies were explored using the MP2 approach. The role of beta-carotene in the quenching of singlet oxygen was examined in a study⁴⁴ using the DFT method. Great effort has also been devoted to calculations of electronic spectra. In the study of He et al.,⁴⁵ the complete active space SCF (CASSCF) technique was employed on the low-lying excited states of the carotenoid rhodopin glucoside (RG). The results showed that the lowest triplet state energy of the RG is below 0.78 eV. The authors also found a significant blue shift of the energy of the second excited singlet state (S2) in this carotenoid under the influence of bacteriochlorophylls. In another work,⁴⁶ theoretical and experimental approaches were combined to demonstrate some correlations between AM1 calculations and NMR spectroscopy. A large number of studies on carotenoid spectra have been published by the Fleming group,^{47–61} who used both experimental and theoretical tools. Their quantum chemical calculations were done in collaboration with the group of Head-Gordon.^{62–64} In one recent studies,⁶⁰ TDDFT and TDA/TDDFT (Tamm–Dancoff approximation)⁶⁵ calculations were used for the exploration of the energy transfer from the S1 state of peridinin to chlorophyll in photosystem (PS) I.

Although the TDA cannot generally be considered superior to the full TDDFT method, in carotenoids, it performs better because of the fact that full TDDFT overestimates the interactions of close-lying states, as pointed in a study by Hirata and Head-Gordon.⁶⁵

Failures of the TDDFT method applied to dimers of pigments from photosystems and their models have been published, e.g., by Dreuw et al.⁶⁶ The problem results from unphysical charge transfer, which generates low-lying “ghost states”. A remedy was recently suggested by Cai et al.⁶⁷

In the present study, a systematic determination of TDDFT electronic spectra was performed for the most common (bacterio)chlorophylls, phycobilins, and carotenoids. The main goal of this study was a comparison of pure electron transition energies of isolated (optimal gas-phase) structures without any influence of neighboring peptide molecules, other pigments, or solvation effects using the same method and basis set. In this way, all undesired shifts can be suppressed, and genuine characteristics of individual structures can be elucidated.

Computational Details

First, several conformers of each pigment were chosen to find a global minimum. A structural database [Protein Data Bank⁶⁸ (pdb)] was used to obtain appropriate initial structures.

This selection was important in the case of the various conformers of chlorophyll (types *a*, *b*, *c*1–3, *d*) and bacteriochlorophyll (types *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *g*), whose structures are presented in Figures 1 and 2, respectively. Usually, several arrangements were possible, and it was not completely clear which could be excluded based on an exploration of the structural database because the described conformations usually depend strongly

on the corresponding biological environment. Also, several structures of a given (bacterio)chlorophyll type were found to have similar total energies. One of the rare exceptions, for which several high-resolution X-ray structures are available, is the molecule of chlorophyll *a*. Our model structures were adopted from 1DOP pdb structure. In all investigated (bacterio)chlorophyll conformers, the phytol chain was excluded from consideration. Instead, the methyl ester anchoring group was used in the models. This can be assumed to be a reasonable approximation, as it follows from our preliminary calculations as well as from other studies (e.g., ref 69). For the other chlorophyll types, the original chlorophyll *a* ligands were replaced by appropriate substituents to create the required models. In the determination of pheophytin *a*, the structure of chlorophyll *a* was taken as a starting point, with the Mg²⁺ cation substituted by two protons.

In the case of the phycobilin group, two representatives were considered, as shown in Figure 3. The initial structures were obtained from the Protein Data Bank.⁶⁸ Because phycobilins can adopt many spatial conformations, the crystallographic structure of phycocyanobilin was chosen as a starting point to preserve the biologically relevant arrangement of the pigment. The models of phycoerythrobilin originate from the same starting structure with replacement of the different substituents and reduction of the double bond between the C and D pyrrole rings. In the case of phycoerythrobilin, two forms were considered: anchored through a single covalent bond to the sulfur atom of cysteine side chain and/or with a pair of covalent bonds as depicted in Figure 3.

In the case of carotenoids, nine pigments were chosen; they are displayed in Figure 4. Selection of these pigments allows for clarification of the influence of different structural elements on spectral characteristics. The all-trans conformation was used for linear carbon chains. The other substituents (e.g., xanthophyll and β -cycles) were constructed according to the basic “hybridization” rules, and the lowest-energy conformers were chosen for subsequent analysis.

Because all of the conformers represent quite an extended set of large molecules, several subsequent geometry optimizations were performed, making the selected set of conformers gradually smaller. The lowest-energy structures were finally reoptimized at the B3PW91/6-31G(d) level of theory. For these molecules, absorption spectra were determined with time-dependent density functional theory (TDDFT) using the same functional and the 6-31+G(d) basis set. The B3PW91 functional and basis set were chosen on the basis of our previous calculations on free-based porphine systems.^{70,71} The diffuse functions were found to be of key importance for the determination of electron transitions, as described in many other studies (e.g., refs 72 and 73).

All calculations were performed using the Gaussian 03 program package.

Pigment Isomers/Conformers. Many relevant structures were considered in the first optimization step (HF/3-21G). In the next step, reduced sets of conformers (usually fewer than five) were considered, and the lowest-energy structures were reoptimized at the B3PW91/6-31G(d) level.

In the case of chlorophyll *b*, a pair of conformers with *cis* and *trans* orientations of the C7=O carbonyl bond in the formaldehyde group with respect to the C8 site (for the atom numbering, see Figure 5) exhibits a small energy difference (about 1 kcal/mol). Global minimum of chlorophyll *b* represents conformer with the oxygen from the –COH group in a *trans* arrangement with respect to the C8 atom. In this orientation,

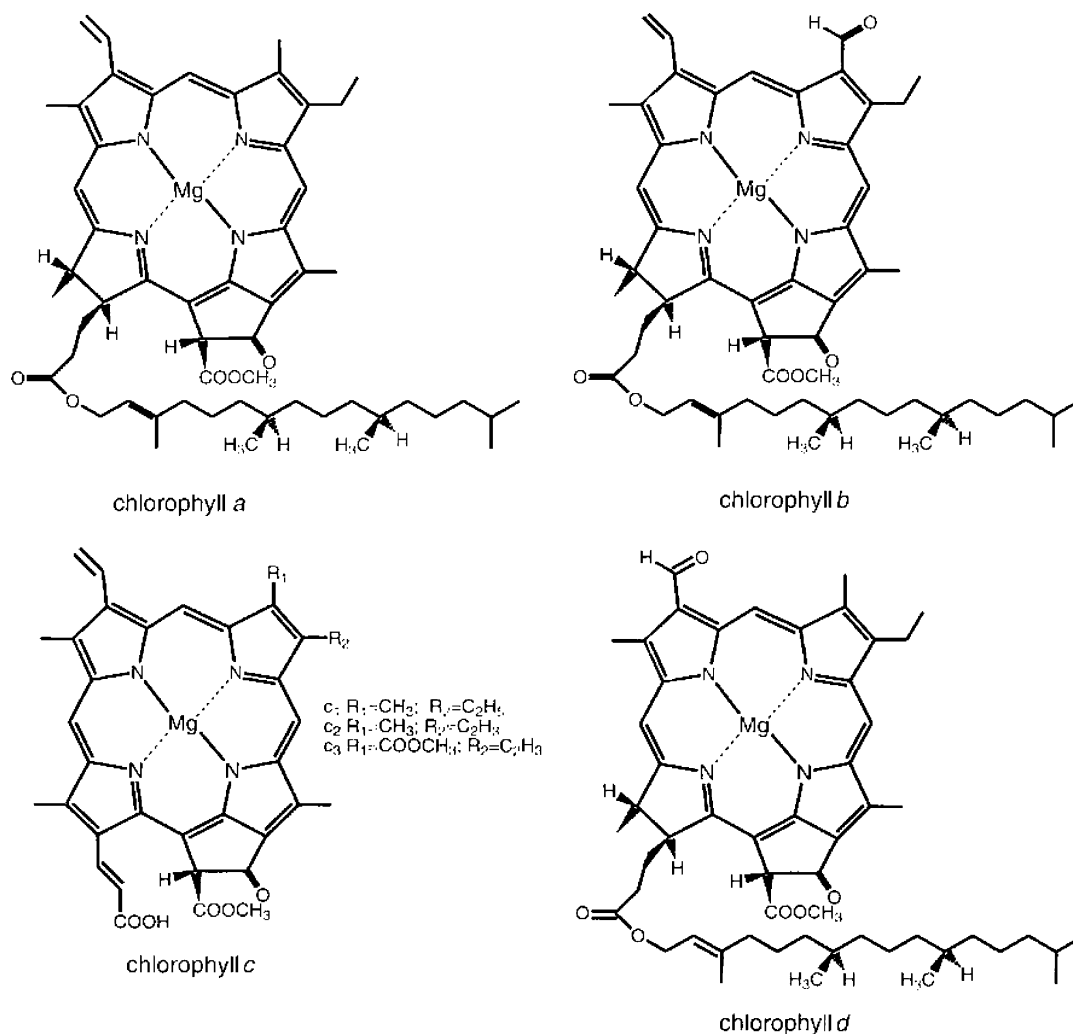


Figure 1. Structural formulas of the selected types of chlorophyll molecules.

the COH group is slightly less repelled by the surrounding protons and is better “incorporated” into the π -electron-conjugated system of the porphyrin ring. All lines in the spectrum of the cis conformer are mildly blue-shifted in comparison to those in the spectrum of the trans conformer (see Figure 6).

Electron Transition Spectra. For the global minima of the selected pigments, six electron singlet–singlet transitions were computed with the TDDFT method. In the discussion, usually three lines corresponding to visible (allowed) transitions are compared with experimental data. The full sets of transition lines are drawn in Figures 7–11 for chlorophyll molecules, bacteriochlorophylls, pheophytin, bilins, and carotenoids, respectively. Numerical values together with intensities and experimental data are collected in Tables 1–4. In the case of carotenoids, it is known from many studies (for instance, refs 54, 63, 74, and 75) that the TDDFT approach does not give the correct order for the S1 and S2 states. Therefore, TDA methods (as implemented in Q-Chem 3.0⁷⁶) were used with the same basis set and the non-hybrid functional BLYP.

Spectral characteristics

Chlorophylls. The spectra of chlorophyll molecules consist of two basic absorption bands. A most complex band, located in the blue region, is called the Soret band and is composed of several electron transitions. The other(s), called Q band(s), can usually be found in the red region. Their typical positions and intensities can be seen in the experimental spectra in Figure

12a. Such a distribution of electron transitions is responsible for the typical green or blue-green color of most chlorophyll pigments.

The calculated values of spectral lines are systematically blue-shifted in comparison to the experimental values by about 60–80 nm for the band Q_y and about 20–30 nm for the Q_x and Soret bands. Nevertheless, it is clear that a fairly good qualitative agreement with experimentally measured spectral lines has been obtained. In particular, the relative positions of spectral lines depending on various structural parameters (ligands) are in a very good accord with measured data for all chlorophyll types (both Chl and BChl).

Chlorophyll *a* is the most common chlorophyll pigment, and its spectrum is well established. The calculated values of the Q_y , Q_x , and B lines (B lines represent an edge of the Soret band) lie at 583, 539, and 398 nm, respectively. The measured intensity of the Q_y band (about 0.23) is in good accord with our results. However, we failed to reproduce the intensity of the Soret band of about 1.1 (similarly to some other researchers, e.g., ref 69). Nevertheless, in another measured spectrum (cf. Figure 12a), the intensities of both the Q_y and Soret bands are much closer to each other, in accord with our calculations.

From an analysis of molecular orbitals (MOs) and individual transitions it follows that the four-orbital model of Gouterman and co-workers can be still recognized as a reasonable approximation even within the TDDFT model. The first two transitions of chlorophylls (and also of bacteriochlorophylls and

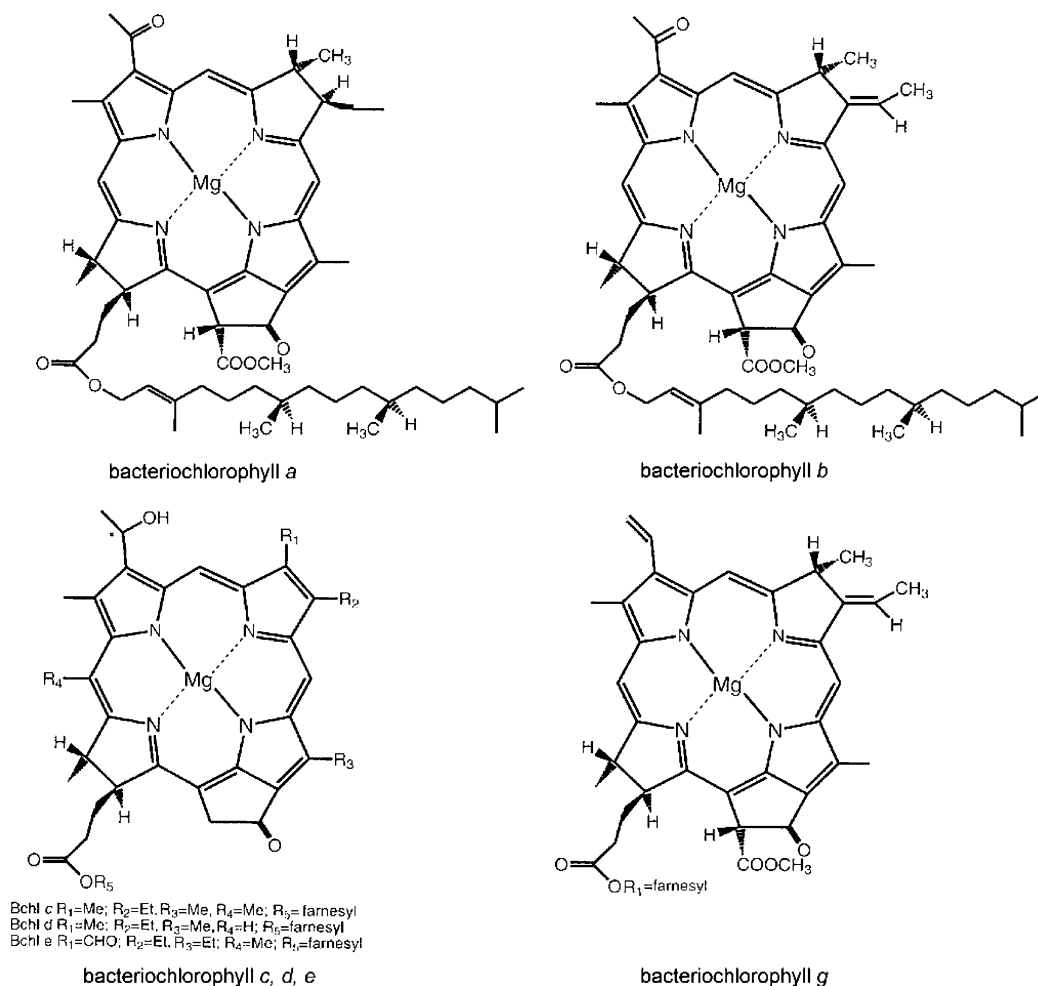


Figure 2. Structural formulas of the selected types of bacteriochlorophyll molecules.

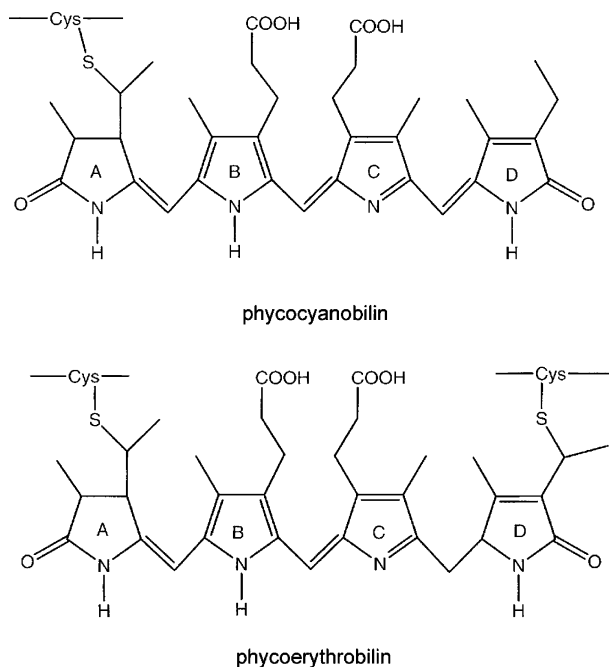


Figure 3. Structural formulas of the investigated phycobilins.

pheophytins) are always based primarily on these four MOs. The individual electron transitions can be compared with spectra of the Mg-porphin molecule.^{70,71} It can be noticed that HOMO has features of the a_{1u} HOMO - 1 orbital in symmetrical Mg-porphin and, inversely, HOMO - 1 has the character of a_{2u} of

the Mg-porphin HOMO (for the shapes of frontier orbitals, see Figure 13a-d). This can be generalized for all chlorophylls and bacteriochlorophylls with the exception of the Chl c family, in which the same order of frontier MOs as in Mg-porphin was found. However, these three systems have closer structural relationships to Mg-porphin than to the chlorin molecule (see below). Also, the near-degeneracy of the Mg-porphin HOMO and HOMO - 1 can be traced in the smallest energy difference of the HOMO and HOMO - 1 orbitals (less than 0.1 eV) in the case of chlorophyll c. The other frontier orbitals preserve the same character in all of the kinds of chlorophyll molecules considered herein. In structures without the D_{4h} symmetry of Mg-porphin, the LUMO and LUMO + 1 are no longer degenerate. This is in accord with the older theory, according to which such an MO crossing results from the removal of symmetry in passing from porphin to chlorin and bacteriochlorin models, as depicted in Figure 14. However, such a simple theory is not able to explain in detail the differences between individual types of chlorophylls and bacteriochlorophylls that are known from measured spectra and are computationally reproduced here.

Chlorophyll b differs from chlorophyll a in the C7 substituent group, where the methyl group of chlorophyll a is replaced by the formyl group.

In comparison with Chl a, a ligand variation causes a blue shift of the Q_y band of about 10 nm and a red shift of the Soret band of about 25 nm. From the orbital energies, it can be seen that the formyl group with the C=O double bond affects the conjugated system of chlorophyll b, decreasing the HOMO eigenvalue by about 0.3 eV. Otherwise, its character remains

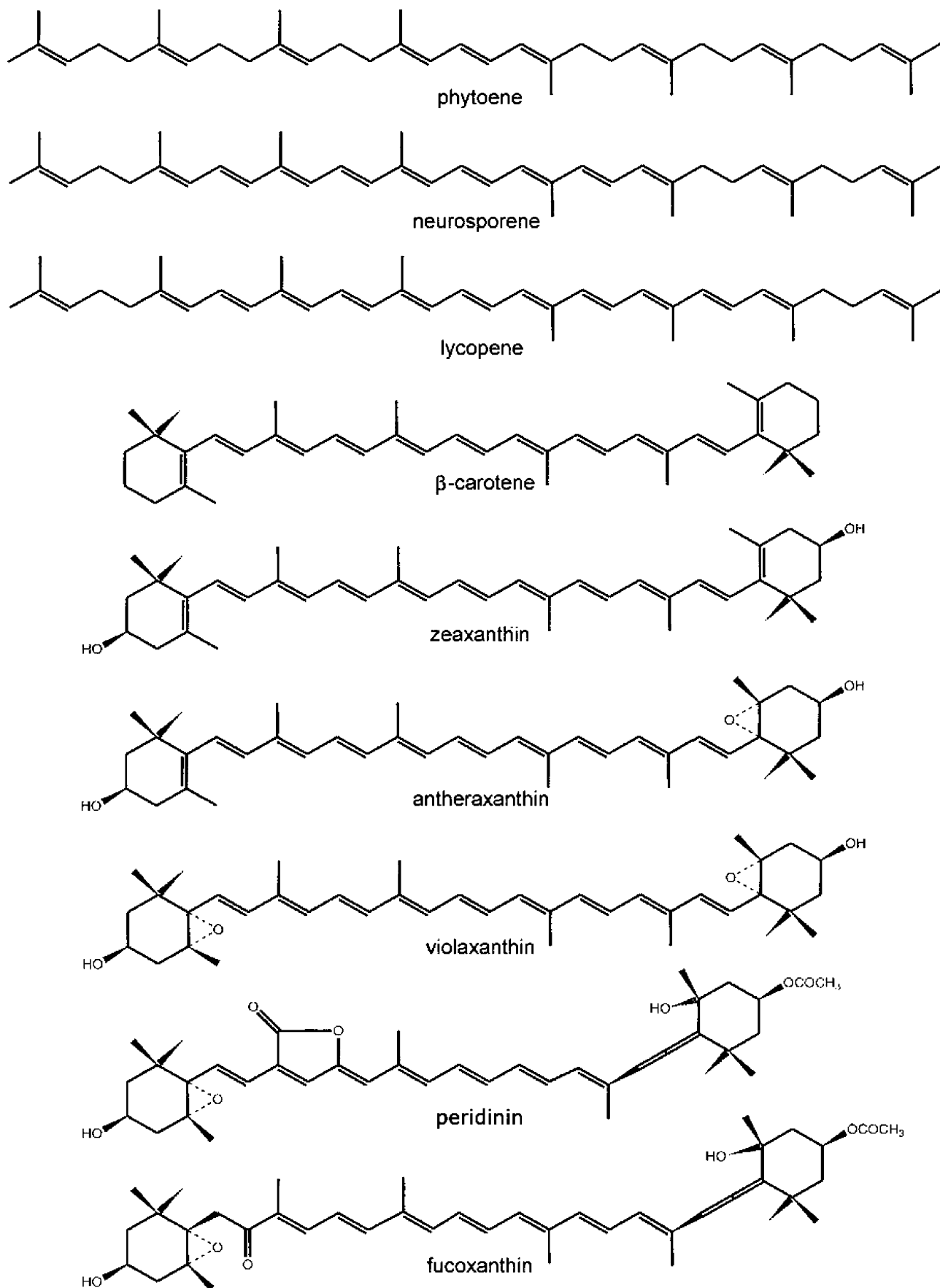


Figure 4. Structural formulas of the investigated carotenoids.

the same as in the Chl a molecule. However, the elongation of the π -conjugated system in the presence of the formyl group influences not only one MO. The $-\text{CHO}$ group causes an energy

shift of both the occupied and virtual frontier orbitals toward lower values, resulting in an actual blue shift of the first Q_y line with a reduced intensity. The red-shifted transitions in the

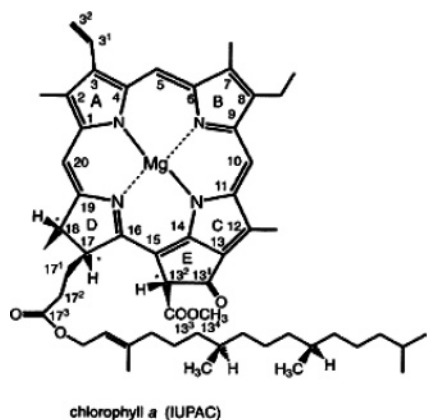


Figure 5. Chlorophyll *a*: atom numbering according to IUPAC conventions.

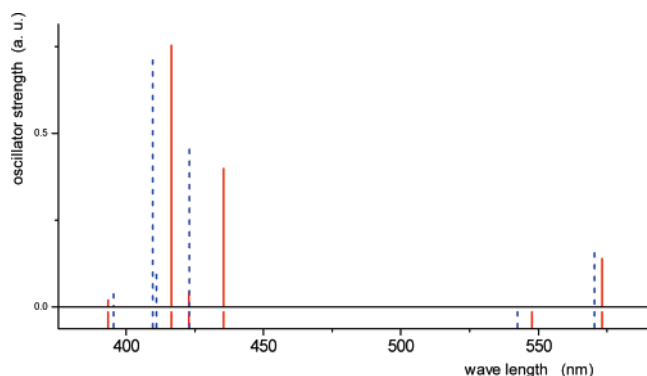


Figure 6. Lines of electron transitions of the chlorophyll *b* model molecules: positions of the COH group for the trans conformer (solid lines) and the cis conformer (dashed lines).

Soret band exhibit practically doubled intensities. The ratio of oscillator strengths of the Q_y band to the Soret band is markedly smaller for chlorophyll *b* than for chlorophyll *a*. This result is in very good agreement with the experimental data.⁷⁷ The analogous $-CHO$ group is also present in bacteriochlorophyll *e*, displaying a similar blue shift of the Q_y band within the BChl *c-e* family.

Chlorophyll *c* molecules exhibit larger variability than the other chlorophylls. The isoprene tail, which is usually used for anchoring in the protein matrix, is not present. The pyrrole D ring is not reduced and thus the chlorophylls *c* more closely resemble the porphyrin system of the Mg-porphin molecule, whereas the other chlorophylls are derived from the chlorin system instead. This higher symmetry of the π -electron system explains why the spectral properties of chlorophylls *c* deviate from those of the other chlorophyll types. Also, as mentioned above, the order of the HOMO and HOMO $- 1$ corresponds to the electronic structure of Mg-porphin. These modifications of chlorophylls *c* substantially influence the spectral transitions. They are responsible for stronger absorption in the Soret band (390–440 nm) and a reduction of the two Q bands in the visible region above 500 nm. The Q_y band is substantially reduced, and its intensity is almost eliminated.

Mutual differences between chlorophylls *c* correspond to different substituents on carbons C7 and C8, as can be seen from Figure 1. Whereas types *c1* and *c2* exhibit the most blue-shifted Q_y band of all of the chlorophyll systems, both ligands of chlorophyll *c3* have double bonds that interact with the π -electron system of the porphyrin ring, causing a visible red shift of the Q_y transition (by about 13 nm) in comparison to that of the *c1* and *c2* molecules. The energy of this spectral

line is very similar to that of the Q_y line of chlorophyll *a*. The Q_x transition lies relatively very close to the Q_y band for all three structures, less than 10 nm. This is again a consequence of the higher symmetry of the porphyrin ring.

Chlorophyll *d* differs from chlorophyll *a* in the C3 position, where the formyl group is present instead of the vinyl group. In this way, chlorophyll *d* can be considered as an intermediate between chlorophyll *a* and bacteriochlorophyll *a* (in terms of both spectral transitions and structure). The Q absorption lines exhibit a larger red shift than in any other chlorophyll. This is the only chlorophyll with a calculated Q_y transition over 600 nm. The explanation lies in the fact that the formyl group influences all frontier orbitals (both occupied and virtual), shifting their orbital energies to lower values. In particular, the eigenvalue of the LUMO displays the lowest energy among the whole set of examined chlorophylls. The π orbital of the formyl group is incorporated into the π -conjugated system of the porphyrin (or chlorin) ring where an elongation of the appropriate lobe is clearly visible (cf. Figure 13e). The same effect of the formyl group can be also seen in the case of bacteriochlorophylls *a* and *b*.

Bacteriochlorophylls. The electronic spectra of the bacteriochlorophylls are depicted in Figure 8 and in Table 2. The basic structural difference between chlorophyll and bacteriochlorophyll groups lies in the reduced B and D pyrrole rings (whereas in chlorophylls, only the D ring is reduced). Therefore, bacteriochlorophylls have a more perturbed π -electron system than chlorophylls. This should seemingly lead to the absorption of light with shorter wavelengths. However, this conclusion is not completely correct because the consequences of the perturbed conjugated ring are not so simple and straightforward. Moreover, the shortening of wavelengths can be observed only in the case of the Soret band. In contrast, the Q_y band displays a red shift in accordance with the experimental spectrum (cf. Figure 12b). The explanation of this red shift can be sought in the fact that, in the HOMO $- 1$ (with a_{1u} character) of Mg-porphin, the p_z atomic orbitals (AOs) of carbons C7, C8, C17, and C18 (for atom numbering, see Figure 5) are involved. A reduction of these C7–C8 and C17–C18 bonds causes this MO to become increasingly less stable in passing to chlorin (or chlorophylls) and bacteriochlorin (or bacteriochlorophylls) (see Figure 14). Because the original HOMO (a_{2u}) of Mg-porphin is not affected by the reduction of the C–C bonds, the order of the HOMO and HOMO $- 1$ is exchanged in chlorophyll and bacteriochlorophyll molecules. Similarly, only one of the original e_g virtual orbitals contains the p_z AO of the same carbon atoms (C7, C8, C17, C18). Thus, only this virtual orbital is destabilized in an analogous manner. Therefore, the LUMO is practically unaffected, whereas the energy of the LUMO $+ 1$ increases when a reduction of these two carbon bonds occurs (cf. Figure 14). This means that the gap between the HOMO and LUMO is actually smaller in bacteriochlorophyll than in chlorophyll systems, leading to Q_y absorption at longer wavelengths in bacteriochlorophylls.

It is interesting to notice that the position of the Q_x band is fairly stable, between 530 and 560 nm, regardless of whether chlorophylls, bacteriochlorophylls, or pheophytins are considered. Only the intensity is noticeably higher in the case of bacteriochlorophylls *a* and *b*.

All of the spectra of the bacteriochlorophylls calculated at the TD-B3PW91/6-31+G(d) level are collected in Figure 8. Generally, the computed transitions are blue-shifted from the measured absorption spectra, with an average shift of about 80 nm.

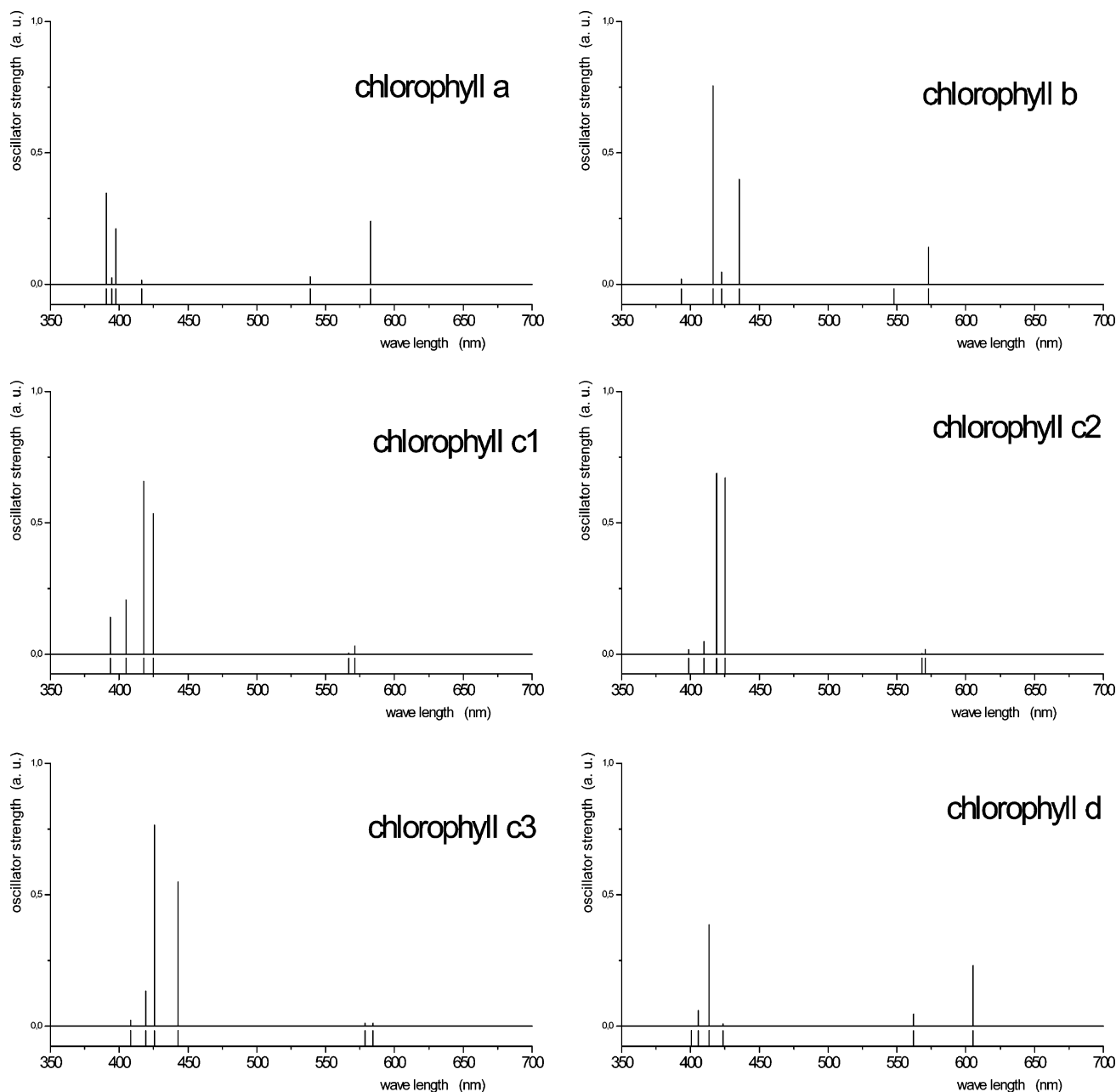


Figure 7. Computed (TDDFT) electron transitions of chlorophyll molecules.

Bacteriochlorophyll *a* is the most abundant chlorophyll-type pigment in the majority of anoxygenic photosynthetic bacteria and its spectrum is well-known (see Figure 12b). The increase of the intensity of the Q bands relative to the Soret band in comparison to the chlorophyll spectrum can be seen in both the measured (Figure 12) and calculated spectra (Figures 7 and 8).

A red shift of the Q_y band of more than 80 nm can be seen when transition energies are compared to the analogous spectra of chlorophyll *a*. Nevertheless, the position of the Soret band is practically the same (or slightly more blue-shifted). In accord with the four-orbital model, the calculated Q band is constituted predominately only by the HOMO \rightarrow LUMO transition; the contribution from the HOMO $- 1 \rightarrow$ LUMO $+ 1$ transition is markedly reduced (to the value of about 0.2) in comparison to that in chlorophylls (where this contribution is usually about 0.4). This is due to the increased gap of the unaffected orbital with a_{1u} character and the destabilized (because of the reduced C17–C18 bond) LUMO $+ 1$ with e_{gy} character. A similar

destabilization can also be observed in the HOMO with a_{2u} character (compare the energies of the HOMO at -0.188 au for BChl *a* vs -0.195 au for Chl *a*). Moreover, the LUMO with e_{gx} character is further stabilized by the presence of the formyl group, as also mentioned in the case of chlorophyll *d*. That is why the Q_y band is so strongly red-shifted.

Bacteriochlorophyll *b* contains an ethylidene ($=CH-CH_3$) group at the C8 site, which further extends the π -conjugated system (the HOMO energy is further decreased slightly to -0.185 au, preserving the eigenvalues of the other frontier orbitals), resulting in an additional red shift of the Q_y band. This pigment absorbs at the longest wavelength of any known chlorophyll type, i.e., according to our results, at about 700 nm (the experimental value is 794 nm). In comparison to BChl *a*, the Soret band is accordingly also red-shifted (the edge starts at about 400 nm). The B line is constituted mainly by the HOMO \rightarrow LUMO $+ 1$ electron transition.

Bacteriochlorophylls *c–e* form an “exceptional” group similar to chlorophylls *c*. The porphyrin ring is reduced only partially

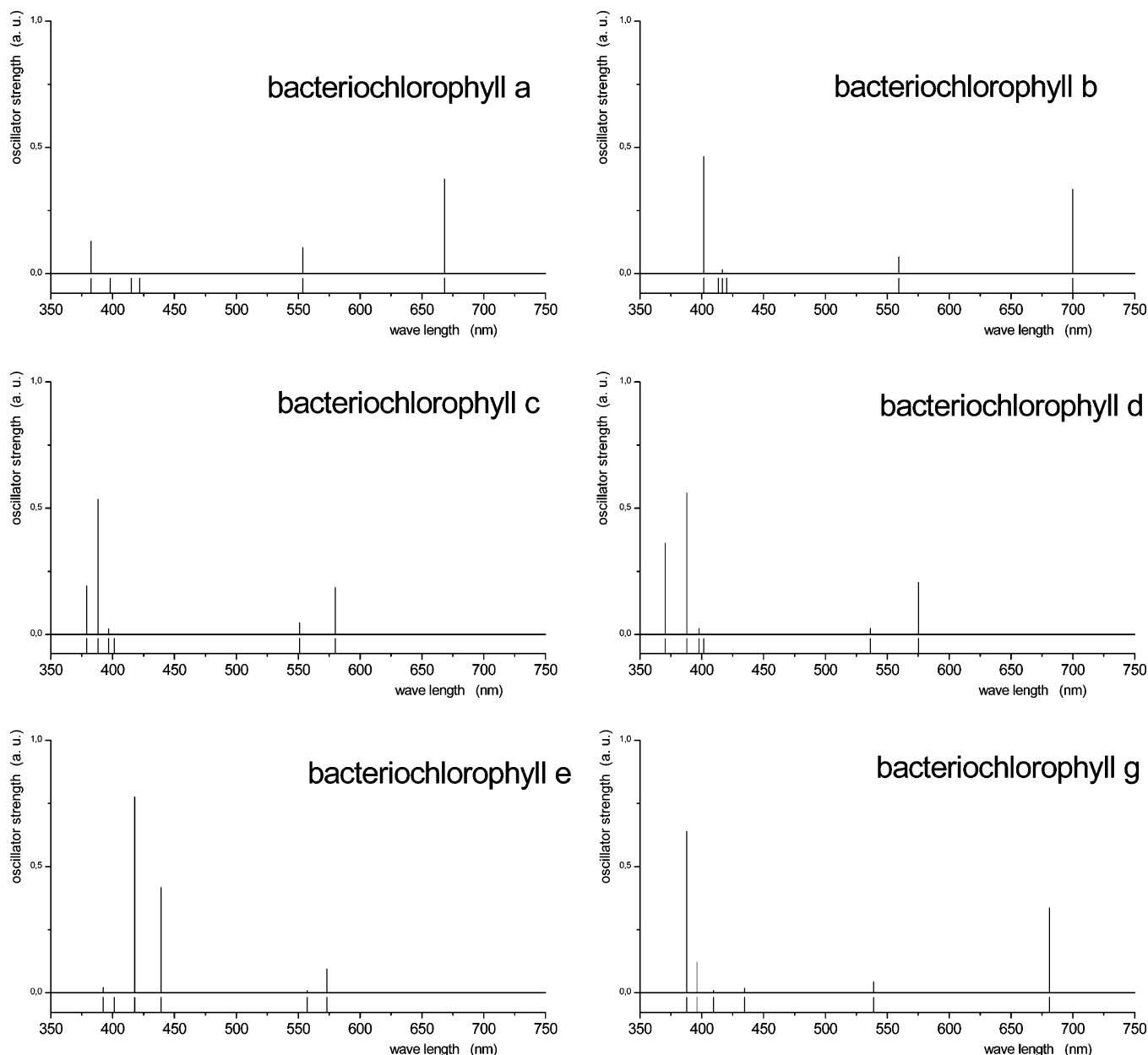


Figure 8. Computed (TDDFT) electron transitions of bacteriochlorophylls.

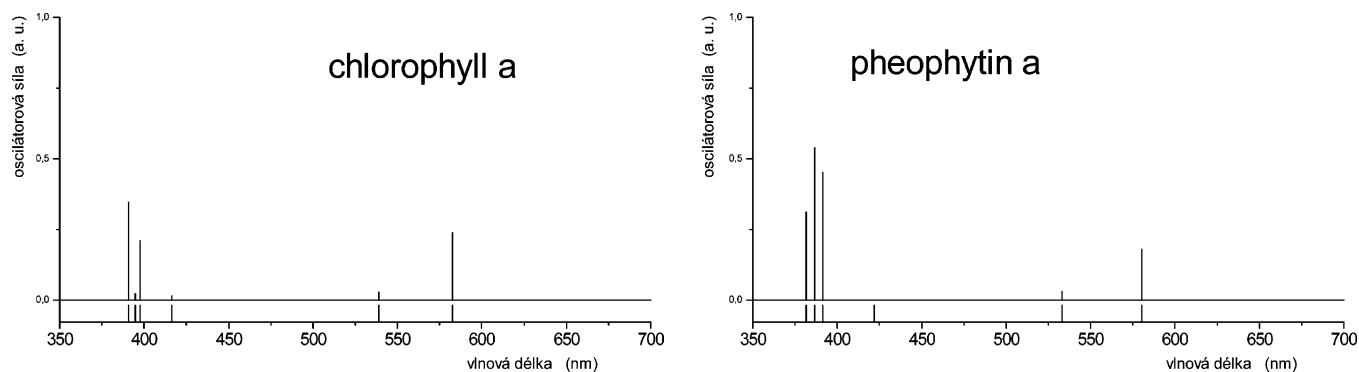


Figure 9. Comparison of calculated electron transitions of chlorophyll *a* and pheophytin *a*.

(C7–C8 bond), in the same way as in chlorophyll systems. Therefore, the structural and spectroscopic characteristics of these bacteriochlorophylls also resemble those of chlorophylls more closely. The Q_y band is positioned just below 580 nm and is composed of both the HOMO → LUMO and HOMO – 1 → LUMO + 1 transitions with weights very similar to those

in the electron spectra of chlorophylls. Also, the intensities of the Q bands in relation to the Soret band are substantially lower.

The role of the formyl group in the case of BChl *e* can be clearly recognized from even more reduced Q_y intensity because the p_z AO of the formyl carbon is visibly present in the HOMO and LUMO + 1 but not the HOMO – 1 and LUMO. Thus, the

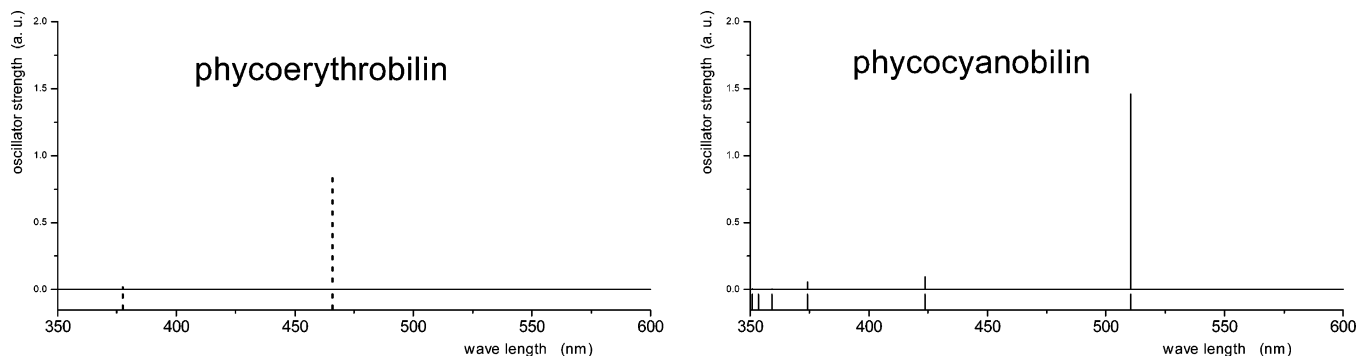


Figure 10. Computed (TDDFT) electron transitions of selected phycobilins. Phycoerythrobilin: dotted lines for the complex with one cysteine molecule and solid lines for the pigment with two cysteine molecules.

overlap of the relevant orbitals in the transition dipole moment formula is decreased. The additional small blue shift of the first transition line is related to a larger stabilization of the HOMO again as a consequence of the incorporation of the formyl p_z AO into the π -conjugated system.

Some changes also occur in the Soret band, which is formed predominately by the HOMO \rightarrow LUMO + 1 transition. Because the formyl p_z AO is involved in both of these MOs, the intensity of this band is increased accordingly. An apparent shift toward longer wavelength can be noticed. Moreover, at the edge of the Soret band, another transition appears in which the HOMO - 1 \rightarrow LUMO + 1 transition dominates (its character is based on an inverse combination of the excitation weights of the Q_y line). All of the energies and intensities are in agreement with the experimental data obtained for all three bacteriochlorophylls.⁷⁷

Bacteriochlorophyll *g* has a vinyl group located at the C3 position as in chlorophyll *a*. Moreover, an ethylidene group is present at the C8 site. Bacteriochlorophyll *g* was found to be relatively unstable; it can be easily reduced by saturation of the ethylidene double bond and converted into chlorophyll *a*. In its spectrum, the Q_y band is positioned at about 680 nm with a prevailing HOMO \rightarrow LUMO transition similar to Q_y of bacteriochlorophyll *a*. Comparing Q_y with the analogous band of chlorophyll *a*, a red shift of about 98 nm can be noticed, in accord with an analogous experimental difference of ca. 105 nm. The edge of the Soret band is also made up of two transitions. In addition to the usual HOMO - 1 \rightarrow LUMO line (at 388 nm), another less intense line at 396 nm can be observed.

Pheophytin *a*. All chlorophylls and bacteriochlorophylls have their own pheophytin or bacteriopheophytin variants. Structurally, the only difference lies in the absence of the magnesium cation in the center of the porphyrin ring. In this study, the electron spectrum of only the pheophytin *a* molecule was explored for the purpose of comparison with the most common chlorophyll *a*. In Figure 9 and Table 1, the spectrum of pheophytin *a* is presented. The spectra of chlorophyll *a* and pheophytin *a* exhibit prominent similarities. Small but significant differences are in good agreement with analogous differences found in the measured spectra in Figure 12a. The Q transitions are more intense in chlorophyll than in pheophytin. The oscillator strengths for the first and second transitions of chlorophyll are more than 30% larger. Similar results were also published by Hasegawa et al.,²⁵ Parusel and Grime,²⁶ and Sundholm.³³ Because the AOs of the magnesium cation are not involved in any of the frontier MOs of the π -conjugated system, the small differences between the chlorophyll and pheophytin spectra can be readily understood. Also, an approximately 2 times larger intensity of the Soret band with respect to the Q_y band was obtained for pheophytin, which is in agreement with

the experimental spectra in Figure 12a. Our calculations failed to describe the relative difference of the Q_x position compared to the Q_y band, which is about 30 nm in the measured spectra but less than 10 nm in the TDDFT results (see Table 1).

Phycobilins. These pigments can be characterized by open-chain tetrapyrrole structures covalently bound to proteins (cf. Figure 3). Their structures are very flexible, giving fairly different spectral bands. This feature is partially described in several textbooks, such as ref 78. Therefore, the relevant “biological structures” were taken from the Protein Data Bank.

Phycoerythrobilin and phycocyanobilin were chosen for a study of the influence of structure on spectral properties. The basic difference between these two molecules lies in the chromophore length. Whereas phycoerythrobilin has one saturated bridge ($-\text{CH}_2-$) and two unsaturated bridges ($-\text{CH}=\text{}$), phycocyanobilin has all bridges unsaturated. A longer conjugated chromophore chain in phycocyanobilin is clearly visible in the spectral differences between the two molecules (cf. Figure 10 and Table 3), in accordance with the experimental results depicted in Figure 15. However, the unsaturated chromophore chain is far from being planar, and thus, the π -conjugated system is severely perturbed, as can be seen in Figure 16 where the optimized structure of phycoerythrobilin is shown. From Figure 3, another difference can be noticed, namely, the number of bonds to proteins. Whereas phycocyanobilin is attached to the peptide through a single covalent bond, in the case of phycoerythrobilin, both ends are fixed in the protein matrix. However, this fact has no substantial effect on the electronic spectra. We also examined the single-anchoring phycoerythrobilin. It was confirmed that the number of anchoring bonds has no substantial influence on the transition spectrum, as can be seen in Figure 10 and Table 3. The predicted spectral lines are in good agreement with the measured data. The estimated position of the first line is blue-shifted by about 100 nm from the experimental values. Comparing the two phycobilins, the relative positions of spectral lines also agree well with experiment. The first spectral line in phycoerythrobilin is blue-shifted by about 44 nm from the corresponding line of phycocyanobilin, in fairly good accord with the experimental shift of 53 nm. The intensities of these lines are not of great concern because they depend strongly on the structure. Moreover, the effect of the environment is also more important in these molecular systems.

Carotenoids. The common feature of carotenoids is a linear chain with a varying length of unsaturated conjugation. Carotenoids have relatively simple absorption spectra. They usually have three absorption bands corresponding to transfers from the lowest vibration level of the ground state to the three lowest vibration levels of the first excited state.⁷⁹ Because the vibration problem was not considered in our study, only the position of the first spectral line can be compared to experimental data.

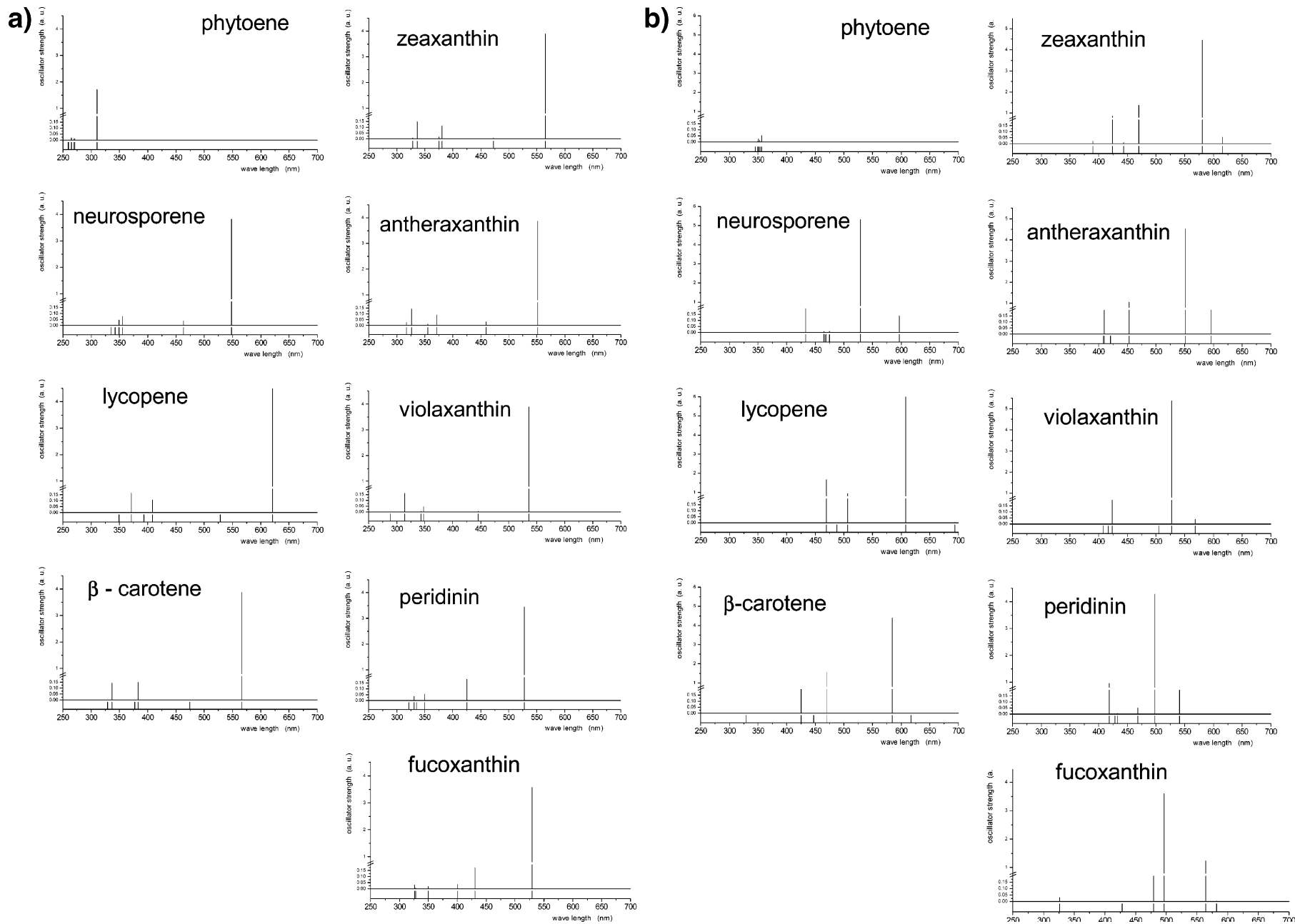


Figure 11. (a) TDDFT and (b) TDA electron transitions of the most frequent carotenoids.

TABLE 1: Experimental Data and Computed (TDDFT) Electron Transitions for Chosen Chlorophyll Structures^a

Chl a	λ [nm] in diethyl ether	662	578	430			
	λ [nm]	583	539	416	398	395	391
	oscillator strength	0.24	0.03	0.02	0.21	0.03	0.35
Chl b	λ [nm] in diethyl ether	644	549	455			
	λ [nm]	573	548	436	423	417	393
	oscillator strength	0.14	0.	0.40	0.05	0.75	0.02
Chl c1	λ [nm] in diethyl ether	628	578	444			
	λ [nm]	571	567	425	418	405	394
	oscillator strength	0.03	0.	0.54	0.66	0.21	0.14
Chl c2	λ [nm] in diethyl ether	628	579	448			
	λ [nm]	571	568	425	419	410	399
	oscillator strength	0.02	0.	0.67	0.69	0.05	0.02
Chl c3	λ [nm] in diethyl ether	626	586	452			
	λ [nm]	584	579	443	426	419	408
	oscillator strength	0.01	0.01	0.55	0.77	0.13	0.02
Chl d	λ [nm] in diethyl ether	668	-	447			
	λ [nm]	605	562	424	413	406	401
	oscillator strength	0.23	0.05	0.01	0.38	0.06	0.
Pheo a	λ [nm] in diethyl ether	672	540	416			
	λ [nm]	580	533	422	391	387	381
	oscillator strength	0.18	0.03	0.	0.45	0.54	0.31

^a Experimental data on gray background taken from Scheer.²

TABLE 2: Experimental Data and Computed (TDDFT) Electron Transitions for Bacteriochlorophyll Molecules^a

BChl a	λ [nm] in diethyl ether	773	577	358			
	λ [nm]	668	554	422	415	398	383
	oscillator strength	0.37	0.10	0.	0.	0.	0.13
BChl b	λ [nm] in diethyl ether	794	578	368			
	λ [nm]	700	559	420	417	414	402
	oscillator strength	0.33	0.07	0.	0.02	0.	0.46
BChl c	λ [nm] in diethyl ether	659	-	429			
	λ [nm]	580	551	401	397	388	379
	oscillator strength	0.19	0.05	0.	0.02	0.54	0.19
BChl d	λ [nm] in diethyl ether	651	-	423			
	λ [nm]	575	536	402	398	388	370
	oscillator strength	0.21	0.02	0.	0.03	0.56	0.36
BChl e	λ [nm] in diethyl ether	647	-	458			
	λ [nm]	573	557	439	418	401	392
	oscillator strength	0.09	0.01	0.42	0.78	0.	0.02
BChl g	λ [nm] in diethyl ether	767	565	404			
	λ [nm]	681	539	435	409	396	388
	oscillator strength	0.34	0.04	0.02	0.01	0.12	0.64

^a Experimental results on gray background taken from Scheer.²

TABLE 3: Experimental Data^a and TDDFT Computed Electron Transitions for Phycobilins

phycoyanobilin	water	617	555				
	λ [nm]	510	424	374	359	354	351
	oscillator strength	1.46	0.10	0.06	0.	0.	0.
phycoerythrobilin (1AA)	water	565	495				
	λ [nm]	466	390	377	348	333	326
	oscillator strength	0.86	0.	0.02	0.01	0.01	0.01
phycoerythrobilin (2AA)	λ [nm]	466	378	349	333	332	326
	oscillator strength	0.83	0.02	0.	0.02	0.	0.05

^a Results on gray background were taken from the Prozyme *Phycobiliproteins* Web page.⁸¹

In the computational model, only all-trans isomers were considered. All obtained spectra exhibit a systematic red shift relative to the experimental data that is roughly proportional to the number of unsaturated double bonds. For the reddest line, the shift varies from 13 nm, for phytoene with three double bonds, to 119 nm, for lycopene with a π-conjugated system formed by 11 double bonds. The average shift is about 70 nm. This variation is an unpleasant property and makes the spectral

TABLE 4: Experimental Data^a and Computed Electron Transitions at the TDA/TDDFT(BLYP)/6-31+G* and TDDFT(B3PW91)/6-31+G* Levels for Carotenoids

phytoene	λ [nm] in hexan	297	286	276		
	λ [nm]	356	354	352	350	349
	oscillator strength	0.05	0.	0.02	0.02	0.
full	λ [nm]	310	271	269	265	260
	oscillator strength	1.71	0.01	0.01	0.02	0.
	neurosporene	λ [nm] in hexan	468	440	415	
TDA	λ [nm]	597	529	475	468	465
	oscillator strength	0.14	5.31	0.01	0.	0.01
	full	λ [nm]	548	463	355	349
oscillator strength	3.83	0.04	0.08	0.05	0.	
lycopene	λ [nm] in hexan	502	470	444		
	λ [nm]	694	608	506	488	488
	oscillator strength	0.01	6.07	0.94	0.	0.
full	λ [nm]	621	528	409	393	371
	oscillator strength	4.50	0.	0.11	0.	0.16
	β-carotene	λ [nm] in hexan	478	450	425	
TDA	λ [nm]	617	585	470	447	425
	oscillator strength	0.	4.38	1.54	0.	0.79
	full	λ [nm]	566	474	383	377
oscillator strength	3.87	0.	0.15	0.	0.14	
zeaxanthin	λ [nm] in ethanol	478	450	425		
	λ [nm]	615	581	470	444	424
	oscillator strength	0.05	4.46	1.37	0.01	0.85
full	λ [nm]	565	473	381	375	336
	oscillator strength	3.89	0.	0.11	0.02	0.15
	antheraxanthin	λ [nm] in ethanol	474	445	422	
TDA	λ [nm]	596	552	453	421	410
	oscillator strength	0.33	4.52	1.06	0.	0.25
	full	λ [nm]	551	459	371	355
oscillator strength	3.85	0.08	0.09	0.01	0.14	
violaxanthin	λ [nm] in ethanol	470	440	419		
	λ [nm]	568	526	505	424	417
	oscillator strength	0.08	5.37	0.	0.53	0.
full	λ [nm]	536	445	348	343	314
	oscillator strength	3.89	0.01	0.05	0.	0.16
	fucoxanthin	λ [nm] in ethanol	475	449	426	
λ [nm]		582	565	496	479	428
oscillator strength		0.	1.24	3.59	0.71	0.
full	λ [nm]	529	431	400	350	328
	oscillator strength	3.57	0.17	0.04	0.02	0.
	peridinin	λ [nm] in hexan	485	455		
λ [nm]		541	498	468	433	429
oscillator strength		0.55	4.28	0.05	0.	0.
full	λ [nm]	528	426	350	335	331
	oscillator strength	3.45	0.18	0.05	0.	0.04

^a Results on gray background were taken from Carotenoids.⁷⁹

analysis somewhat more complicated than in the previous case of tetrapyrrole systems. Nevertheless, comparing the relative positions of the spectral lines, acceptable agreement with the measured spectra is achieved. The electron transition lines for the complete set of chosen carotenoids are presented in Figure 11 and Table 4. In the TDA spectrum of phytoene, the molecule with the shortest π-conjugated system, some problems can be noticed. Whereas a pronounced intensity for the excitation to S₂ state can be seen in the full TDDFT(B3PW91) results, in the results obtained by the TDA method, the intensity of this transition is too low. However, a very similar spectrum was also obtained at the TDDFT(BLYP) level, demonstrating that this particular problem is instead related to the BLYP functional.

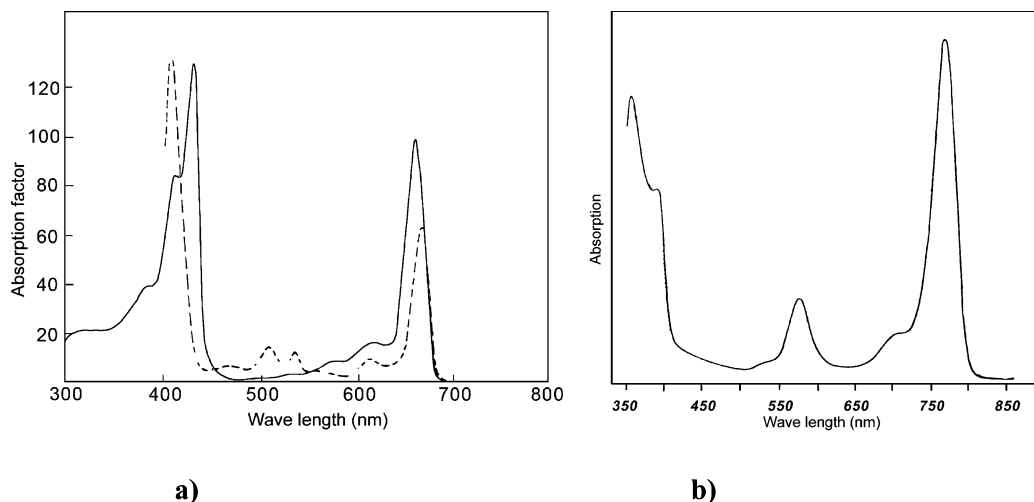


Figure 12. Experimental absorption spectra of (a) chlorophyll *a* (—) and pheophytin *a* (---) and (b) bacteriochlorophyll *a*. All spectra measured in diethyl ether.²

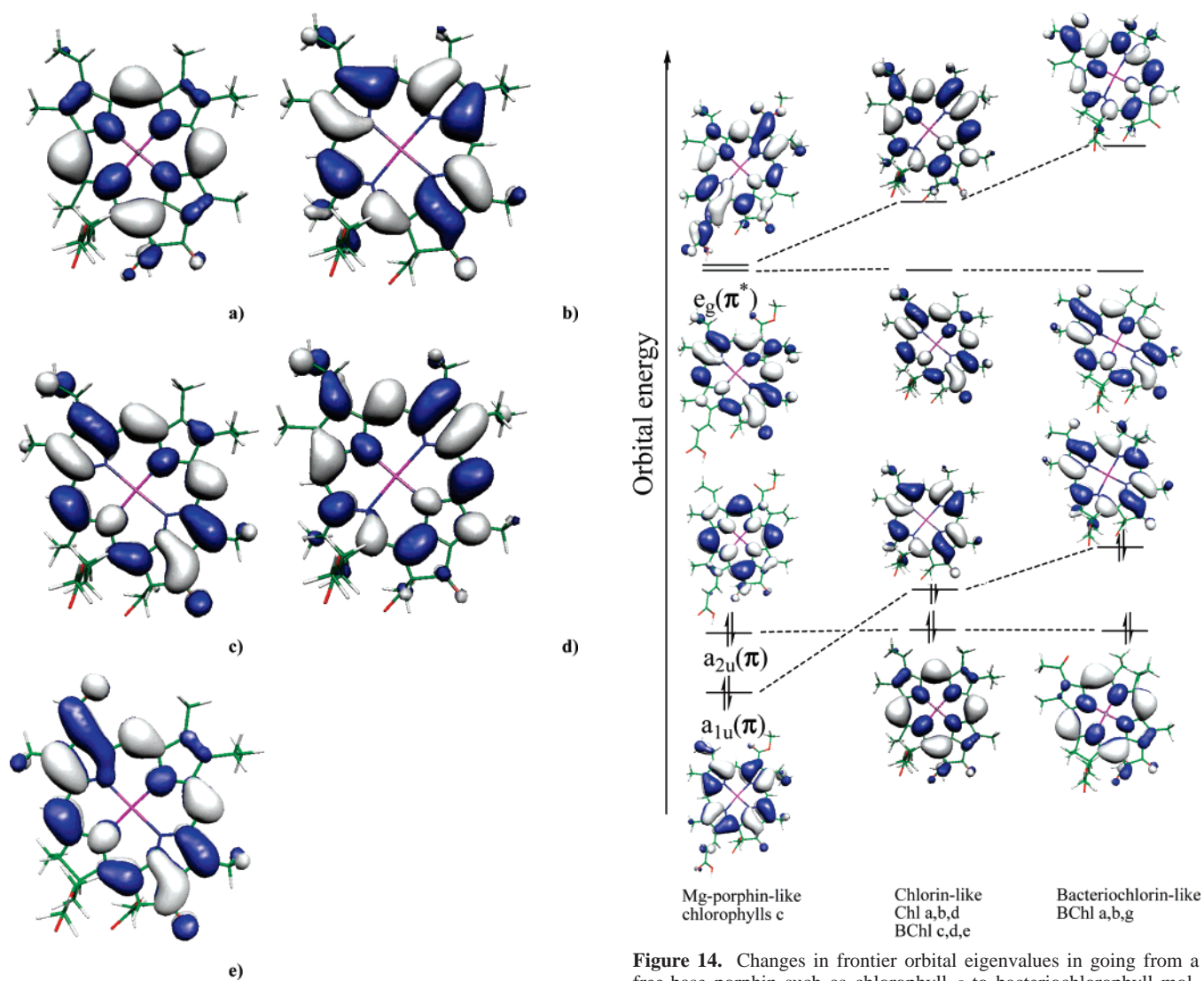


Figure 13. (a–d) Frontier MOs of chlorophyll *a*: MOs from 165 to 168; the 166th MO is the HOMO. (e) LUMO of chlorophyll *d*.

S1 and S2 States. In all determined spectra, a remarkably strong absorption (with high intensity) of the first visible transition was found. This line is related to the excitation from the HOMO to the LUMO, which have opposite symmetry according to the classification of unsaturated chains within

Figure 14. Changes in frontier orbital eigenvalues in going from a free-base porphin such as chlorophyll *c* to bacteriochlorophyll molecules.

Hückel theory. According to this concept, “gerade” and “ungerade” MOs alternate regularly. This feature is largely preserved in more accurate calculations as well. Therefore, large transition dipole moments can be expected for the excitation between the HOMO and LUMO, resulting in a high intensity

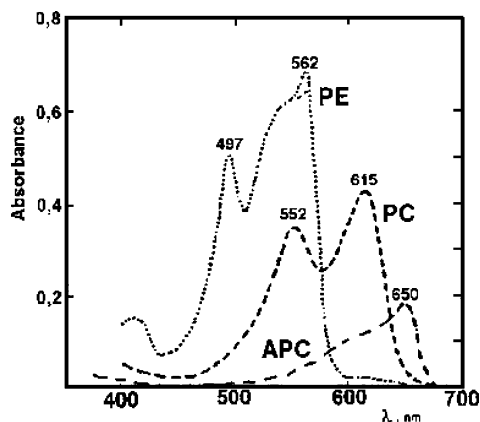


Figure 15. Absorption spectra of phycoerythrin (PE), phycocyanin (PC), and allophycocyanin (APC).

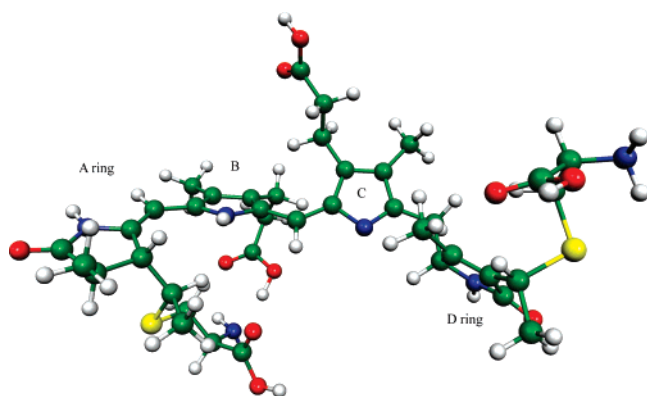


Figure 16. B3PW91/6-31G(d)-optimized structure of phycoerythrin anchored to two cysteine molecules.

of this transition. The second singlet ${}^1B_u^+$ excitation is predicted as the first one at the TDDFT level, whereas the TDA approach correctly inverts the order of the excited states, placing the $S1(2{}^1A_g^-)$ excitation at longer wavelengths. The A_g^- line is associated with an electron transition from the HOMO - 1 to the LUMO with some admixture of the HOMO \rightarrow LUMO + 1 transition. This excitation has a very low intensity (invisible in spectra), which again follows from simple Hückel theory. Because the two MOs have the same gerade symmetry, there is always a very small transition dipole moment between such orbitals. When the character of the unsaturated π -conjugated system is substantially perturbed, as in peridinin, fucoxanthin, and antheraxanthin, an increase in the intensity of this spectral line can be noticed.

Effect of the Chromophore Chain Length. As the chromophore chain elongates, electrons are increasingly delocalized, decreasing the excitation energy. Therefore, the increasing length of the conjugated chain strongly correlates with a longer wavelength for electron transitions in the following order: phytoene, neurosporene, and lycopene, i.e., in carotenoids without any other structural features such as β -cycles. In the case of phytoene, only three conjugated double bonds are present (with the first absorption at about 310 nm at the TDDFT level); neurosporene has nine (about 550 nm) and lycopene has 11 conjugated double bonds (with excitation energy of about 620 nm). Also, the intensity of the line increases with the elongation of the chromophore chain. The extension of the π -conjugated chain by two double bonds causes an increase in the wavelength of about 80 nm. This is slightly larger than the corresponding experimental shift (62 nm). As mentioned above, the length of

the conjugated system influences the size of the deviation between the computational and experimental values.

Effect of β -Cycles. Lycopene and β -carotene contain π -conjugated systems of the same length. However, in the carotene molecule, two additional β -cycles are present on the two ends of the linear chain where the edge double bond is incorporated. Comparing the two carotenoids, the effect of the β -cycle can be elucidated. It causes a blue shift of the S2 transition lines from 608 (621) nm according to the TDA (TDDFT) method for lycopene to 585 (566) nm for β -carotene. Similar shifts can be seen for other spectral lines of β -carotene as well. A smaller oscillator strength of this transition is visible in for this molecule. The experimentally observed difference between lycopene and β -carotene in the first absorption peak is practically the same (24 nm) as predicted by the TDA methods. On the other hand, the question of whether β -carotene should still be considered as a system with 11 conjugated double bonds remains in dispute because two of the bonds (one at each end) are involved in β -cycles. Because these cycles deviate from the plane of the π system, they represent a perturbation of the conjugation. Moreover, the spectrum of β -carotene is closer to the spectrum of neurosporene, in terms of not only the frequencies of the lines but also the intensity of the first visible transition.

Effect of the C3 Hydroxyl Group. Another comparison involves zeaxanthin and β -carotene. The zeaxanthin molecule is a derivative of β -carotene in which two hydroxyl groups are located on the C3 carbons of the β -cycles. The experimental spectra of these two pigments are practically identical. This means that hydroxyl groups have no substantial effect on the spectrum. This can be explained by the fact that a hydroxyl group cannot be incorporated into π -electron conjugation. This was also confirmed by the analysis of frontier MOs. Practically no expansion coefficients for the AOs of oxygen were detected within the five highest-occupied and four lowest-energy virtual MOs. The estimated electron transitions are in fairly good accord with the experimental spectra.

Effect of Epoxy Groups and Xanthophyll Cycles. The formation of xanthophyll cycles is an important feature present in regulation processes that control the wavelength of light absorption (rather than the intensity). In Figure 11, the blue shift of the S2 transition is visible passing from zeaxanthin through antheraxanthin to violaxanthin. The shift is nearly equidistant in both the experimental and calculated values and originates from the replacement of the double bond present in the β -cycle by an oxygen insertion to form an epoxy group. This causes a shortening of the π -conjugated system by one double bond on each side of the chain. Nevertheless, the change in energy of the first allowed transition (S2), about 25 (15) nm by TDA (TDDFT), is not fully comparable to the above-discussed effect of the length of the chromophore chain because these double bonds are already involved in β -cycles. Nevertheless, the computed energy differences for transition to the S2 state between the three xanthines are still substantially larger than the corresponding experimental values as a consequence of the overestimated dependence of the transition lines on the length of the π -conjugated system (as mentioned above). The intensity of the S2 transition increases during the epoxidation from zeaxanthin to violaxanthin at the TDA level, in contrast to the TDDFT results, according to which the intensity remains practically constant. The red shift of the S2 spectral line, going from violaxanthin to zeaxanthin, could be related to the possibility of starting a nonphotochemical quenching (NPQ) mechanism, expecting that the de-epoxidized zeaxanthin forms an "energy sink" as suggested in ref 1. However, another

possibility of NPQ should be stressed. The TDA results exhibit a larger difference between the S1 and S2 states in the violaxanthin spectrum (about 60 nm) than in the zeaxanthin spectrum, where only a 40 nm gap was found. This means that, in zeaxanthin, the S1 and S2 energy levels are substantially closer, which can clearly play a key role in NPQ mechanism.

Effect of Other Groups. Peridinin and fucoxanthin can be used to elucidate another structural feature of carotenoids. Both contain the allenic group ($-\text{CH}=\text{C}=\text{CH}-$). The presence of this group plays an important role in plants such as algae that do not contain chlorophyll *b* in their antenna complexes. In addition, fucoxanthin contains one carbonyl group at the C8 position, and peridinin contains a lactone group near the C8 position, which makes the analysis of various structural groups more complicated. The carbonyl group together with the allenic moiety makes the spectrum slightly red-shifted compared to the spectrum of violaxanthin. From Table 4, it can be seen that the experimental red shift of 5 nm qualitatively differs from the computed blue shift of 7 nm (using the TDDFT method) or 30 nm (at the TDA level). However, it can be guessed that the relative error in the estimation of spectral lines is more than 10 nm. In the TDA-predicted spectra, another state (1^1B_u^-) was localized between 1^1B_u^+ and 2^1A_g^- . This state is mainly made up of the HOMO $- 2 \rightarrow$ LUMO transition and lies slightly higher in other carotenoids.

The experimental spectral bands of peridinin are slightly red-shifted in comparison to the corresponding bands of fucoxanthin (by about 10 nm). The calculated results obtained by TDA match this trend well. From the comparison of the similar spectra of fucoxanthin and peridinin, the superior performance of TDA over the full TDDFT method is apparent in this particular case of carotenoids. Some additional support for the better performance of TDA can be also seen in the work of Dreuw et al. on increasing the length of polyene chains, in which results from more sophisticated ADC(2) (algebraic diagrammatic constructions to the second order) are compared.⁷⁴ The TDDFT results do not reproduce the relative positions of peridinin spectral lines, whereas the TDA approach fits the experimental values substantially better.

Error Estimation of the Electron Transitions. The predicted first spectral lines of (bacterio)chlorophyll and phycobilin molecules are usually shifted by up to 100 nm toward longer wavelengths in comparison to the experimental results. Smaller differences can be seen for higher excitation energies. In the blue region, the error usually drops to below 40 nm. The differences between measured and computed lines vary for every group of pigments. However, the effect caused by various ligands within a group of pigments is easily visible. It can be mentioned that the error in the spectral line determination is inherent in the chosen method, basis set, and system (here, π -conjugated systems of tetrapyrrole structures with similar sizes) and is therefore practically constant for these particular pigment groups. Another source of deviations between experimental spectra and calculated lines is related to different environments or surrounding molecules. Our calculations at this stage were performed for the in vacuo model. Considering these aspects, a very good accuracy (small relative error for the each given spectral line) with experimental data was achieved for the TDDFT(B3LYP) method and the chosen basis set.

In contrast to chlorophyll/phycobilin systems, the determination of the electron absorption spectra of carotenoids is related to a fundamental problem. That is, the error in spectra determination is dependent on the examined systems and exhibits a dependence on the size of the π -conjugated system,

as mentioned above. Therefore, it is more difficult to estimate even relative positions of various spectral lines.

Conclusion

In this study, various pigments from photosystems were explored. The most stable conformations were chosen based on a database search, with subsequent geometry optimization performed in several steps at different computational levels.

For the global minima, electronic excitations were determined using the TDDFT method at the B3PW91/6-31+G(d) level. For the group of carotenoids, the TDA approach with the non-hybrid BLYP functional and the same basis set was compared.

In the spectra of chlorophylls and pheophytin transition lines, lower intensities were determined for the Q bands than for the Soret band. Spectral energies of the Q_y lines were systematically blue-shifted by about 50–80 nm. Nevertheless, the correct order of these Q lines among various chlorophyll types can be noticed from a comparison with experimental results. A much better agreement was obtained for the edge of the Soret band represented by B transitions, for which the difference was at most 35 nm in the case of chlorophyll *d*.

Similar conclusions also hold for bacteriochlorophylls. The Q_y line is slightly more shifted, on average, in comparison to the experimental transition—by about 85 nm. For the bacteriochlorophylls, a correct higher intensity of the Q_y band compared to the Soret band was obtained.

In the case of phycobilins, the large flexibility of the open tetrapyrrole system can lead to quite artificial electron transitions. Therefore, obtaining the proper molecular conformation from the structural database was very important. The first transition line of phycobilins occurs at substantially lower wavelengths (by around 500 nm) and has a dominant character (high intensity). The influence of anchoring a cysteine side chain was found to be relatively small.

Spectral lines of carotenoids are based on linear polyene chains, which have a dominant influence on the spectra. Nevertheless, other structural elements such as β -cycles and epoxy, carbonyl, and allenic groups were also investigated. It was found that the first allowed excitation to the S2(1^1B_u^+) state has a very high intensity because of the different characters of the HOMO and LUMO. According to simple Hückel theory, the even and odd characters of the MOs alternate. Therefore, a large transition dipole moment can be expected for this spectral line. In contrast, the transition to S1(2^1A_g^-) is, according to the same arguments, forbidden. Because simple Hückel theory is not completely valid (carotenoids do not exhibit the symmetry of the simplified polyene model), some small intensities can be noticed. The largest values appear in the cases of peridinin, fucoxanthin, and antheraxanthin, where the influence of allenic and xanthophyll groups is notable.

In the case of fucoxanthin, the 1^1B_u^- state was found to lie between the 2^1A_g and 1^1B_u^+ states; it usually lies above this state in the other investigated carotenoids.

In contrast to the first visible transition lines of chlorophyll molecules, in the case of carotenoids, the S2 transition lines are overestimated (red-shifted) by about 70 nm on average. Nevertheless, because various groups influence the electron transitions to different extents, the error in spectral determination is relatively larger, and so, this red shift varies markedly between individual carotenoid molecules. Recently, an experimental study on the solvent effects of carotenoid spectra was reported in which shorter wavelengths should be expected for transitions in environment with dielectric constant $\epsilon = 1$.⁸⁰

Acknowledgment. This study was supported by grant MSM 0021620835. The Charles University Meta-Centrum in Prague, Czech Republic, is acknowledged for access to its excellent supercomputer facilities. The authors are very grateful to Prof. Tomáš Polívka from South Bohemian University and Profs. Jan Hála and Jakub Pšenčík from our department for very fruitful discussions.

References and Notes

- Blankenship, R. E. *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*; Blackwell Science Ltd.: Oxford, U.K., 2002.
- Scheer, H. *Chlorophylls*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991.
- The Porphyrin Handbook*; Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, R., Eds.; Academic Press: New York, 2003.
- Gouterman, M. *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 1139.
- Gouterman, M.; Wagniere, G. H. *J. Mol. Spectrosc.* **1963**, *11*, 108.
- Zerner, M.; Gouterman, M. *Theor. Chim. Acta* **1966**, *4*, 44.
- Almlof, J.; Fischer, T. H.; Gassman, P. G.; Ghosh, A.; Haser, M. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 10964.
- Baraldi, I.; Carnevali, A.; Ponterini, G.; Vanossi, D. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **1995**, *333*, 121.
- Cortina, H.; Senent, M. L.; Smeyers, Y. G. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 8968.
- Gwaltney, S. R.; Bartlett, R. J. *J. Chem. Phys.* **1998**, *108*, 6790.
- Hasegawa, J.; Ohkawa, K.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 10410.
- Hashimoto, T.; Choe, E.; Nakano, H.; Hirao, K. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 1894.
- Kitao, O.; Ushiyama, H.; Miura, N. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 2936.
- Lamoan, D.; Parrinello, M. *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *248*, 309.
- Merchan, M.; Orti, E.; Roos, B. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *221*, 136.
- Merchan, M.; Orti, E.; Roos, B. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *226*, 27.
- Serrano-Andres, L.; Merchan, M.; Rubio, M.; Roos, B. O. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *295*, 195.
- Nagashima, U.; Takada, T.; Ohno, K. *J. Chem. Phys.* **1986**, *85*, 4524.
- Nakatsuji, H.; Hasegawa, J.-Y.; Hada, M. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 2321.
- Parusel, A.; Grime, S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 225.
- Rubio, M.; Roos, B.; Serrano-Andres, L.; Merchan, M. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 7202.
- Tokita, Y.; Hasegawa, J.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1843.
- Sundholm, D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 2275.
- Sundholm, D. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *317*, 392.
- Hasegawa, J.; Ozeki, Y.; Ohkawa, K.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 1320.
- Parusel, A. B. J.; Grimme, S. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 5395.
- Jeong, D. H.; Jang, S. M.; Hwang, I.-W.; Kim, D.; Yoshida, N.; Osuka, A. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11054.
- Linnanto, J.; Korppi-Tommola, J. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *105*, 3855.
- Linnanto, J.; Korppi-Tommola, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 4962.
- Linnanto, J.; Oksanen, J. A. I.; Korppi-Tommola, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 3061.
- Linnanto, J.; Korppi-Tommola, J. E. I. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 3453.
- Cory, M. G.; Zerner, M. C.; Hu, X.; Schulten, K. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 7640.
- Sundholm, D. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *302*, 480.
- Sundholm, D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 4265.
- Edwards, L.; Dolphin, D. H.; Gouterman, M. *J. Mol. Spectrosc.* **1970**, *35*, 90.
- Edwards, L.; Dolphin, D. H.; Gouterman, M.; Adler, A. D. *J. Mol. Spectrosc.* **1971**, *38*, 16.
- Houssier, Sauer. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 779.
- Konermann, L.; Gatzert, G.; Holzwarth, A. R. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 2933.
- Konermann, L.; Holzwarth, A. R. *Biochemistry* **1996**, *35*, 829.
- Doust, A. B.; Marai, C. N. J.; Harrop, S. J.; Wilk, K. E.; Curmi, P. M. G.; Scholes, G. D. *J. Mol. Biol.* **2004**, *344*, 135.
- McConnell, M. D.; Koop, R.; Vasil'ev, S.; Bruce, D. *Plant Physiol.* **2002**, *130*, 1201.
- Hashimoto, H.; Yoda, T.; Kobayashi, T.; Young, A. J. *J. Mol. Struct.* **2002**, *604*, 125.
- Wang, Y. L.; Mao, L. S.; Hu, X. C. *Biophys. J.* **2004**, *86*, 3097.
- Garavelli, M.; Bernardi, F.; Olivucci, M.; Robb, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10210.
- He, Z.; Sundstrom, V.; Pullerits, T. *Chem. Phys. Lett.* **2001**, *334*, 159.
- Qian, P.; Mizoguchi, T.; Fujii, R.; Hara, K. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 1311.
- Scholes, G. D.; Harcourt, R. D.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 7302.
- Krueger, B. P.; Scholes, G. D.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 5378.
- Krueger, B. P.; Scholes, G. D.; Yu, J. Y.; Fleming, G. R. *Acta Phys. Pol. A* **1999**, *95*, 63.
- Krueger, B. P.; Yom, J.; Walla, P. J.; Fleming, G. R. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *310*, 57.
- Scholes, G. D.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 1854.
- Walla, P. J.; Yom, J.; Krueger, B. P.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 4799.
- Gradinaru, C. C.; Kennis, J. T. M.; Papagiannakis, E.; van Stokkum, I. H. M.; Cogdell, R. J.; Fleming, G. R.; Niederman, R. A.; van Grondelle, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 2364.
- Hsu, C. P.; Walla, P. J.; Head-Gordon, M.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 11016.
- Kennis, J. T. M.; Gobets, B.; van Stokkum, I. H. M.; Dekker, J. P.; van Grondelle, R.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 4485.
- Walla, P. J.; Linden, P. A.; Ohta, K.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 1909.
- Zimmermann, J.; Linden, P. A.; Vaswani, H. M.; Hiller, R. G.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 9418.
- Holt, N. E.; Kennis, J. T. M.; Dall'Osto, L.; Bassi, R.; Fleming, G. R. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *379*, 305.
- Ma, Y. Z.; Holt, N. E.; Li, X. P.; Niyogi, K. K.; Fleming, G. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 4377.
- Vaswani, H. M.; Holt, N. E.; Fleming, G. R. *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 925.
- You, Z. Q.; Hsu, C. P.; Fleming, G. R. *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 044506.
- Hsu, C. P.; Head-Gordon, M.; Fleming, G. R. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **2000**, *219*, U329.
- Dreuw, A.; Fleming, G. R.; Head-Gordon, M. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 6500.
- Dreuw, A.; Fleming, G. R.; Head-Gordon, M. *Biochem. Soc. Trans.* **2005**, *33*, 858.
- Hirata, S.; Head-Gordon, M. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *314*, 291.
- Dreuw, A.; Head-Gordon, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4007.
- Cai, Z.-L.; Crossley, M. J.; Reimers, J. R.; Kobayashi, R.; Amos, R. D. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 15624.
- Protein Data Bank*; Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB); Piscataway, NJ; <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.
- Sundholm, D. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *317*, 545.
- Šeda, J.; Burda, J. V.; Leszczynski, J. *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 294.
- Burda, J. V.; Šeda, J.; Brázdová, V.; Kapsa, V. *Int. J. Mol. Sci.* **2004**, *5*, 196.
- Chiang, S.-Y.; Lin, I.-F. *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 094301.
- Chong, D. P.; Takahata, Y. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *418*, 286.
- Starcke, J. H.; Wormit, M.; Schirmer, J.; Dreuw, A. *Chem. Phys.* **2006**, *329*, 39.
- Dreuw, A. *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 2259.
- Shao, Y.; Fusti-Molnar, L.; Jung, Y.; Kussmann, J.; Ochsenfeld, C.; Brown, S. T.; Gilbert, A. T. B.; Slipchenko, L. V.; Levchenko, S. V.; O'Neill, D. P.; Distasio, R. A., Jr.; Lochan, R. C.; Wang, T.; Beran, G. J. O.; Besley, N. A.; Herbert, J. M.; Lin, C. Y.; Van Voorhis, T.; Chien, S. H.; Sodt, A.; Steele, R. P.; Rassolov, V. A.; Maslen, P. E.; Korambath, P. P.; Adamson, R. D.; Austin, B.; Baker, J.; Byrd, E. F. C.; Dachselt, H.; Doerksen, R. J.; Dreuw, A.; Dunietz, B. D.; Dutoi, A. D.; Furlani, T. R.; Gwaltney, S. R.; Heyden, A.; Hirata, S.; Hsu, C.-P.; Kedziora, G.; Khalliulin, R. Z.; Klunzinger, P.; Lee, A. M.; Lee, M. S.; Liang, W.; Lotan, I.; Nair, N.; Peters, B.; Proynov, E. I.; Pieniazek, P. A.; Rhee, Y. M.; Ritchie, J.; Rosta, E.; Sherrill, C. D.; Simmonett, A. C.; Subotnik, J. E.; Woodcock, H. L., III; Zhang, W.; Bell, A. T.; Chakraborty, A. K.; Chipman, D. M.; Keil, F. J.; Warshel, A.; Hehre, W. J.; Schaefer, H. F., III; Kong, J.; Krylov, A. I.; Gill, P. M. W.; Head-Gordon, M. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3172.
- Hoff, A. J.; Amesz, J. Visible Absorption Spectroscopy of Chlorophylls. In *Chlorophylls*; Scheer, H., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991; pp 723–738.
- Hála, J.; Šetlík, J. *Biofyzika Fotosyntézy (Scriptum)*; Carolinum Press: Prague, 1999.
- Kohler, E. B. *Carotenoids*; Birkhäuser Verlag: Basel, Switzerland, 1995; Vol. 1B: Spectroscopy.
- Chen, Z.; Lee, C.; Lenzer, T.; Oum, K. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 11291.
- Phycobiliproteins*; Prozyme: San Leandro, CA, 1999; <http://www.prozyme.com/technical/pbvrwdata.html>.