



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Optically probing structure and organization : single-molecule spectroscopy on polyethylene films and a resonance Raman study of a carotenoid

Wirtz, Alexander Carel

Citation

Wirtz, A. C. (2006, October 26). *Optically probing structure and organization : single-molecule spectroscopy on polyethylene films and a resonance Raman study of a carotenoid*. *Casimir PhD Series*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4928>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4928>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Optisch op Zoek naar Structuur en Organisatie

enkel-molecuul spectroscopie aan polyetheenfolies en een resonantie Raman studie van een carotenoïde

Het onderstaande is een vereenvoudigde samenvatting van dit proefschrift. Het is mijn bedoeling om ongeacht de achtergrond van de lezer te verduidelijken wat in de hoofdstukken staat beschreven. Door per onderwerp stapsgewijs het begrip van de besproken stof op te bouwen, hoop ik te voorkomen dat grote stukken van de tekst niet te volgen zijn voor mensen zonder natuurwetenschappelijke achtergrond. In wezen komen in dit proefschrift twee onderzoeksgebieden aan de orde. Ik zal beide gebieden eerst inleiden alvorens uit te leggen welke vraagstukken ik heb aangepakt. Daarbij maakt ik gebruik van de steekwoorden in de titel. Deze vertegenwoordigen immers de belangrijkste onderwerpen van de verschillende hoofdstukken.

Spectroscopie aan individuele moleculen

De hoofdstukken 2, 3 en 4 gaan over het afzonderlijk detecteren van individuele moleculen met behulp van licht. In deze drie hoofdstukken is het ons niet om de moleculen zelf te doen, als wel om hun directe omgeving. We bestuderen namelijk het plastic polyetheen, waarin zij zich bevinden. Aangezien de moleculen hier sterk door worden beïnvloed, dienen zij als ‘correspondenten ter plaatse’, en voorzien zij ons van cruciale informatie over de aard van hun lokale omgeving en wat hier gebeurt.

Allereerst een korte uitleg van de term enkel-molekuul spectroscopie. Een molecuul is het eenvoudigste deeltje waaruit een bepaalde stof kan worden opgebouwd. Als we heel veel van deze moleculen samen nemen, krijgt de stof zoals we hem waarnemen zijn eigenschappen. Zelf bestaan moleculen weer uit atomen, welke in een specifieke configuratie aan elkaar zijn verbonden. De atomen bevatten elk een positief geladen kern omgeven door negatief geladen electronen. Atomen danken hun karakter aan het aantal positief geladen deeltjes in hun kern en de daarbij behorende hoeveelheid electronen om het geheel

electrisch neutraal te houden. Naast positief geladen protonen bevatten de atoomkernen ook ongeladen neutronen, welke ongeveer net zwaar zijn als de protonen. Van de electronen zijn de buitenste vooral interessant voor chemici. Zij zitten het meest los en daarom zijn zij het ook die worden uitgewisseld bij een chemische reactie tussen atomen of moleculen. Tevens vormen zij de lijm waarmee het molecuul aan elkaar blijft hangen. Daarmee zijn we aangeland bij het eerste begrip van het woord structuur: de manier waarop de atomen van een molecuul zijn gerangschikt. We zullen hier nog op terugkomen bij de uitleg van het tweede deel van de ondertitel.

De meeste moleculen zijn erg klein. De eenvoudige moleculen van water (H_2O) of koolstofdioxide (CO_2) zijn ongeveer een tiende van een nanometer lang, en ingewikkelde eiwitmoleculen tientallen nanometers. Een nanometer (nm) is een miljardste meter, oftewel één millimeter in een miljoen stukjes gedeeld. Kleine objecten als atomen en moleculen worden het beste beschreven door de quantummechanica, een theoretisch kader dat onder andere stelt dat energie in ondeelbare hoeveelheden (quanta) voorkomt. Zo spreekt men bijvoorbeeld van fotonen. Dat zijn lichtquanta of lichtdeeltjes en onze moleculen kunnen hiermee een wisselwerking vertonen. Hoewel licht dus gequantiseerd is, bestaat het tegelijkertijd ook uit golven. De golflengte van het licht hangt af van de energie van de fotonen. De kleur van licht wordt ook bepaald door de grootte van de energiepakketjes. Zo is dus een bepaalde hoeveelheid energie te koppelen aan een kleur en een golflengte. Als we spreken van licht hebben we het over het algemeen over zichtbaar licht, wat zich bevindt tussen diep rood (golflengte 700 nm) en violet (golflengte 400 nm). Eigenlijk is zichtbaar licht slechts een klein deel van het elektromagnetisch spectrum, maar dat is nu niet van belang. De verschillende atomen waaruit een molecuul is opgebouwd staan nooit stil: ze trillen voortdurend. Afhankelijk van de hoeveelheid energie die een molecuul bevat, kunnen de moleculen meer of minder gaan vibreren. Ook deze trillingsenergie is gequantiseerd. Ook daarop komen we nog terug bij de uitleg van de tweede helft van de ondertitel.

Zoals gezegd waren juist de ‘loszittende’ electronen interessant voor ons. Onder bepaalde omstandigheden is het namelijk mogelijk dat een molecuul een foton absorbeert, waarbij een electron wordt gepromoveerd naar een hoger energieniveau. Dit gebeurt bijvoorbeeld als het molecuul wordt belicht met een intense lichtbundel van precies de juiste kleur. De aangeslagen toestand is niet stabiel en het molecuul raakt de extra energie vaak kwijt door deze om te zetten in trillingsenergie (warmte) en die via botsingen over te dragen aan zijn omgeving. Het kan ook gebeuren dat het molecuul een deel van de energie kwijtraakt door deze uit te zenden in de vorm van een foton. Dat noemen we luminescentie en deze moleculen heten ook wel chromoforen. Luminescen-

tie is weer onder te verdelen in fluorescentie en fosforescentie. In de optische spectroscopie bestudeert men de klasse van moleculen die interactie vertonen met licht, door het te absorberen, verstrooien etc.. Aangezien alle moleculen een iets ander deel van het lichtspectrum absorberen of uitzenden, afhankelijk van hun elektronische structuur, kan men ze bijvoorbeeld identificeren of beter begrijpen aan de hand van hun interactie met licht. Er bestaan chromoforen die zeer goed fluoresceren. We bedoelen dat ze voor bijna elk foton dat ze absorberen, weer een ander foton (van lagere energie) uitzenden. Als we zo'n molecuul belichten met een zeer intense bundel licht van precies de juiste golflengte, een laserbundel, kunnen we voldoende fluorescentiefotonen genereren om waar te nemen. We zien op die manier indirect het molecuul zelf. Dat is wat we doen in de enkel-molecuul spectroscopie.

Hoe meer moleculen in ons monster tegelijkertijd fluoresceren, hoe meer fotonen we waarnemen en hoe makkelijker het experiment. Waarom zouden we het onszelf dan moeilijk willen maken door individuele chromoforen te bestuderen via hun fluorescentie? De reden hiervoor is dat een meting aan een groot aantal moleculen, ook wel ensemble genoemd, altijd een gemiddeld resultaat oplevert, waarbij aardig wat informatie verloren gaat. Hoewel alle moleculen in principe hetzelfde zijn, bevinden ze zich allemaal in iets andere omstandigheden. Dat betekent dat de energieovergangen en ook veranderingen daarin met de tijd, allemaal net anders zijn. Uit een ensemblemeting valt dit niet te herleiden. Andersom moeten natuurlijk de gegevens van veel individuele chromoforen samen wel weer hetzelfde opleveren als de ensembledata. Informatie als hoeveel energie het molecuul opneemt, hoe het is georiënteerd, waar het zich precies bevindt, welke dynamische processen zich afspelen in de directe nabijheid etc., kan met enkel-molecuul spectroscopie worden achterhaald.

Dunne polyetheenfolies

Polyetheen (PE) is het best bekende en meest gebruikte plastic of polymeer ter wereld. We maken er onder andere boodschappentassen en keukenfolie van. Net als alle andere plastics bestaat PE uit een speciaal soort moleculen. Deze moleculen zijn extreem lang en dun en bestaan uit eindeloze herhalingen van dezelfde stukjes (monomeren). Vandaar dat de polymeermoleculen ook wel ketens worden genoemd. Ondanks het feit dat PE zoveel voorkomt is het toch een bijzonder plastic. De meeste plastics zien er op kleine schaal uit als een soort gekookte spaghetti. Hierin zitten de ketens als slierten zonder enige orde door elkaar heen. De structuur van plastics wordt ook wel amorf genoemd. Plastics danken hieraan hun plastisch karakter en—uiteraard—hun naam. Aangezien er geen orde bestaat in een hoop spaghetti, maakt

het niet veel uit of we de vorm van de kluwen iets veranderen. Als we de portie met een hamer te lijf gaan, zien wij vervolgens wellicht weinig verschil. Zouden wij dit echter doen met ongekookte spaghetti, die netjes geordend in het pak zitten, dan eindigen wij met een heleboel kleine stukjes. Dat is een totaal andere situatie. De geordende structuur van ongekookte spaghetti is te vergelijken met die van een (moleculair) kristal. In een kristal zitten de moleculen regelmatig geordend op hun plaats. Het gevolg hiervan is dat het kristal niet flexibel is, maar broos. Het verplaatsen van enkele moleculen brengt namelijk de hele structuur uit balans. PE is een bijzonder plastic, vanwege het feit dat het deels amorf en deels kristallijn is. In het linker deel van Figuur 4.7 heb ik geprobeerd schematisch weer te geven hoe dat eruit ziet.

In mijn onderzoek heb ik mij bezig gehouden met de vraag hoe PE nu precies georganiseerd en geordend is op zeer kleine schaal. Zoals eerder vermeld heb ik dat gedaan door individuele chromoforen te gebruiken om informatie te verkrijgen over hun directe omgeving. PE moleculen vertonen zelf nauwelijks wisselwerking met zichtbaar licht. Door een zeer lage concentratie van de sterk fluorescerende stof DBATT te mengen met het plastic, en van ieder afzonderlijk DBATT molecuul de positie en oriëntatie te bepalen, kan men een soort landkaart van PE opbouwen. Met behulp van een laser die een nauwkeurig bepaalde kleur heeft, spreekt men de chromoforen afzonderlijk aan bij hun eigen overgangsenergie. Daarbij zorgt een ingewikkelde microscoop ervoor dat het licht van de laser op een extreem klein gebied gefocusseerd wordt, waardoor weer minder DBATT moleculen tegelijkertijd bestraald worden. Uiteindelijk gebeurt dat alles ook nog eens bij 1.8 K. Dat is maar liefst -271°C . Omdat we ervan uitgaan dat de chromoforen zich richten langs de polymeerketens waar zij tegen aanzitten, zien we nu indirect hoe de PE moleculen ter plaatste georiënteerd zijn. In de amorfe gebieden hebben de verslaggevers geen voorkeursrichting, terwijl ze dat wel hebben in de kristallijne regio's. Vanwege de geringe grootte van een DBATT chromofoor (enkele tienden van een nanometer) kunnen we het polymeer op zeer kleine schaal bestuderen. Nu hebben we het tweede begrip van het woord structuur gehad: de structuur van de omgeving. Deze levert weer een beeld op van de organisatiegraad van het PE monster.

Om dit onderzoek mogelijk te maken was het nodig om zeer heldere en dunne plastic folies te maken, om ervoor te zorgen dat we zo precies mogelijk zowel de positie als de oriëntatie van ieder chromofoor konden bepalen. Met name voor zuiver PE is dat geen sinecure. Keukenfolie mag dan zowel helder als dun zijn, dat is het bij gratie van allerlei toevoegingen. Daarom hebben we een techniek ontwikkeld om zulke folies zelf te maken. We doen dat door een hete oplossing (120°C) van zuiver PE op een snel draaiend glazen plaatje

te druppelen bij 100 °C. Uiteindelijk ontstaat een folie van perfecte helderheid en een uniforme ‘dikte’ van ongeveer 200 nm. Dit proces, als ook het bewijs dat het mogelijk is hierin nauwkeurig de positie en oriëntatie te bepalen van de DBATT moleculen, staat beschreven in hoofdstuk 2.

Tijdens het daarop volgende onderzoek, beschreven in hoofdstuk 3, is gebleken dat in dunne PE folies van lage dichtheid en lage kristalliniteit, de DBATT moleculen geen duidelijke voorkeursrichting aannemen. In hoge dichtheid PE (HDPE) echter, vonden wij dat de DBATT chromoforen over een lengte van ten minste 2 mm ongeveer dezelfde twee, onderling loodrechte, voorkeursrichtingen vasthouden. Er is dus sprake van een macroscopische ordening. Wat de aanleiding is van deze unieke richtingen is niet duidelijk. Het feit dat het twee onderling loodrechte richtingen betreft, duidt erop dat onze HDPE folies een ‘shish-kebab’ kristalstructuur hebben in plaats van een spherulitische. Gewoonlijk vertonen PE folies deze laatste morfologie hetgeen onze folies uniek maakt. Dit laatste lijkt het gevolg te zijn van de geringe dikte. Overigens is gebleken dat na ongeveer een jaar, de folies hun macroscopische ordening hebben verloren. Bij het afkoelen van onze HDPE monsters naar -271 °C lijken ze beschadigd te raken, waardoor de macroscopische ordening ook verloren gaat.

Verstreckte polyetheenfolies

We hebben dezelfde techniek als hiervoor beschreven tevens toegepast om een andere vraagstelling aan te pakken. Deze draait om het verstrekken van polyetheenfolies. Het is bekend dat de ketens zich langs de strekrichting oriënteren, als we PE monsters uitrekken. Figuur 4.7 laat schematisch zien hoe dit gebeurt. Dit fenomeen wordt al sinds de jaren zestig gebruikt om moleculen die zijn ingebracht in een PE folie allemaal dezelfde richting op te laten wijzen. Op die manier is het bijvoorbeeld mogelijk om zoveel mogelijk lichtabsorberende moleculen één richting op te zetten. Dat is handig omdat deze moleculen dan alleen licht absorberen langs deze richting. We zeggen dat ze alleen licht met een bepaalde polarisatierichting absorberen. Een dergelijk principe ligt bijvoorbeeld ten grondslag aan polaroid zonnebrillen.

Er is al veel onderzoek gedaan naar hoe het oriëntatieproces precies verloopt. Voor de eerste keer hebben wij dit gedaan door één voor één, per molecuul, te bepalen hoe het wordt gericht, in plaats van een ensemblemeting te doen. Op deze manier kunnen we bijvoorbeeld bepalen van welke van de volgende twee scenario's sprake is. Door de folies verder te strekken, neemt de mate van oriëntatie in de PE folie toe. Dit kan betekenen dat (1) de ingebrachte chromoforen zich alle geleidelijk steeds beter langs de strekrichting oriënteren of juist dat (2) steeds meer moleculen langs deze richting wijzen, terwijl de kwaliteit

van hun oriëntatie niet toeneemt. Beide gevallen kunnen dezelfde gemiddelde oriëntatie opleveren voor de chromoforen en daarom is het niet mogelijk om ze te onderscheiden met behulp van een ensemblemeting. Bovendien leeft in de wetenschappelijke literatuur de discussie of de ingebrachte moleculen worden georiënteerd door de zich richtende amorfe PE gebieden of juist door de kristallijne gebieden. Onze metingen aan individuele chromoforen in gestrekte PE folies hebben ook hierover uitsluitsel gegeven.

Hoofdstuk 4 behandelt het hierboven beschreven onderwerp. Voor de chromoforen is enkel de oriëntatie en niet de lokatie bepaald. Dat laatste was niet mogelijk omdat het hier geen dunne, heldere PE folies betrof, maar veel dikkere folies die gestrekt konden worden. In onze resultaten zijn de gedetecteerde moleculen te verdelen in twee fracties. De eerste bestaat uit chromoforen die georiënteerd zijn langs de strekrichting en de tweede uit willekeurig georiënteerde moleculen. De verhouding tussen de eerste en tweede fractie wordt steeds groter naarmate de folies verder verstrekt worden. De oriëntatiespreiding van de DBATT moleculen blijkt echter volstrekt ongevoelig voor de verstrekkingsgraad. Het verstrekkingsproces blijkt zich inhomogeen te voltrekken. Op nanometerschaal strekt het monster nu weer op de ene plek en vervolgens weer op een andere. Dit betekent dat iedere DBATT chromofoor zich in een willekeurig gerichte toestand bevindt, totdat plotseling heel lokaal de omgeving zich oriënteert door het verstrekken van de folie en het DBATT molecuul meeneemt. Door verder te strekken zijn we vervolgens niet in staat om dat molecuul en zijn omgeving beter langs de strekrichting te laten wijzen. We noemen dit een ‘alles of niets’ scenario. Het molecuul is of willekeurig gericht, of zo goed als mogelijk langs de strekrichting. De overgang van de ene naar de andere toestand is plotseling. Met behulp van een kwalitatief model hebben wij bepaald welke factoren van invloed zijn op de oriëntatiespreiding, die een maat is voor hoe goed de chromoforen langs de verstrekkingsrichting wijzen. Zo zijn wij in staat geweest om aan te tonen dat zich lokaal vormende kristallijne gebieden verantwoordelijk zijn voor de kwaliteit waarmee de chromoforen in één richting wijzen na verstrekking. Bepalend voor de kwaliteit van oriëntatie is de wisselwerking tussen ieder molecuul en het kristalvlak waar het op geadsorbeerd is. De amorfe gebieden hebben geen meetbare invloed op het oriënteren van de DBATT moleculen.

Resonantie Raman en DFT studie

Hoofdstuk 5 draait ten dele ook om het bestuderen van moleculen met behulp van licht. In dit geval staan de zogenaamde sferoïdeen moleculen zelf echter wel centraal. Bovendien wordt een zeer groot aantal moleculen tegelijkertijd onderzocht: het gaat om een ensemble-experiment. We zijn geïnteresseerd in de precieze driedimensionale bouw van deze moleculen, welke zich bevinden in een bacterieel eiwit. Dit eiwit is deel van een complex waarmee de bacterie *Rhodobacter sphaeroides* licht omzet in bruikbare biochemische energie (fotosynthese). Om te bepalen wat de structuur is van de sferoïdeen moleculen, en om de metingen beter te kunnen begrijpen, maken we gebruik van berekeningen met computers. Als we in staat zijn de theoretische uitkomsten overeen te laten komen met de experimentele resultaten, weten we dat we het vraagstuk hebben opgelost.

De experimentele techniek die is gebruikt heet resonantie Raman spectroscopie. In plaats van te kijken naar de fluorescentie van moleculen, wordt bij deze techniek gebruik gemaakt van de quantisatie van de trillingsenergie van moleculen. De bindingen tussen de atomen kan men vergelijken met veren. Elke binding heeft een bepaalde trilling, afhankelijk van de massa's van de verbonden atomen en de stijfheid van de veer¹. De individuele trillingen van deze bindingen samen, tellen op tot over het hele molecuul verdeelde vibraties. Deze molecuul-brede vibraties worden ook wel normaaltrillingen of normaalmoden genoemd. Iedere normaalmode vereist een bepaalde hoeveelheid energie. Deze is afhankelijk van het type van vervorming (strekken of buigen bijvoorbeeld), welke atomen (lichte waterstof- of zwaardere koolstofatomen) en wat voor soort bindingen bij een trilling betrokken zijn. De trillingsenergie hangt dus nauw samen met welke bindingen betrokken zijn en daarom met de moleculaire structuur. Daar kunnen we gebruik van maken.

Aangezien de moleculaire vibraties gequantiseerd zijn, kan slechts een bepaalde hoeveelheid energie, of een veelvoud daarvan, worden toegevoegd of afgehaald. De energieniveaus van de moleculaire normaaltrillingen liggen dicht bij elkaar dan die van de elektronenconfiguraties. We hebben dus geen zichtbaar licht nodig om een molecuul harder te laten vibreren. Wel kan men in principe infrarood (lager in energie dan rood) licht gebruiken. Bij Raman spectroscopie wordt echter iets anders gedaan. Hierbij wordt intens, zichtbaar monochromatisch (letterlijk: één kleur) laserlicht verstrooid door de moleculen. Daarbij worden de fotonen in de lichtbundel als het ware weerkaatst. Af en toe komt

¹Vreemd genoeg is het zo dat een molecuul nooit helemaal ophoudt met vibreren: er is altijd beweging in het molecuul. Dat is één van de vreemde uitkomsten van de quantummechanica.

het voor dat daarbij een beetje energie van het foton wordt overgedragen op het molecuul, wat daarbij gaat trillen. We zeggen dat een foton inelastisch weerkaatst is. Door het verschil te meten in energie tussen de fotonen vóór het verstrooien, en daarna, kunnen we iets leren over de energie van de betreffende trilling. Niet alle vibraties zijn op deze manier te zien. Vanwege het feit dat normaaltrillingen en structuur zijn verbonden, kunnen we toch veel leren over de moleculen. Wij hebben gebruik gemaakt van *resonantie* Raman spectroscopie, waarbij bepaalde vibraties maar liefst 10000 tot 100000 keer sterker naar voren komen in het experiment dan bij gewone Raman spectroscopie. Het voert nu te ver om uit te leggen wat hiervan de oorzaak is. Laat het volstaan om duidelijk te maken dat alleen trillingen zichtbaar worden van dat gedeelte van de sferoïdeen moleculen waarin we geïnteresseerd zijn. Bedenk dat sferoïdeen onderdeel uitmaakt van een reusachtig eiwit, waarvan we het liefst niet alle trillingen willen detecteren om alles niet teveel te compliceren. Al met al een enorme winst dus. Ondanks de toename van de gevoeligheid van deze techniek, zijn resonantie Raman metingen in principe altijd ensemblemetingen, om genoeg inelastisch verstrooide fotonen te verzamelen.

Aan het vraagstuk in hoofdstuk 5 over de structuur van sferoïdeen is in onze groep al ongeveer tien jaar gewerkt. Eerder heeft men vooral resonantie Raman experimenten gedaan aan sferoïdeen in het reactiecentrum van *Rhodobacter sphaeroides*. Daarbij is steeds een licht aangepaste versie van het sferoïdeen molecuul, een zogenaamde isotopomeer, ingebracht in de reactiecentra. De aanpassingen betreffen één of meerdere atomen in het molecuul, we spreken van isotoops substituties. Verschillende isotopen hebben een verschillend aantal neutronen (maar hetzelfde aantal protonen) in hun kern en zijn daardoor zwaarder of lichter, terwijl ze dezelfde chemische eigenschappen hebben. Bij isotoops substitutie wordt de natuurlijk meest voorkomende isotoop vervangen door een in de natuur weinig voorkomend isotoop. Als we dat voor sferoïdeen doen, zijn we in staat de lokale trillingen van deze isotopen in de moleculen te veranderen. Zwaardere atomen trillen namelijk minder snel dan lichtere atomen. Door steeds op een andere positie in het molecuul een isotoops substitutie te doen en het resonantie Raman spectrum te meten van dat molecuul in het bacterieel reactiecentrum, kunnen we begrijpen welke delen van het molecuul aan welke normaaltrillingen bijdragen. Het spectrum verandert namelijk steeds voor die normaalmoden die een lokale trilling bevatten van het gesubstitueerde isotoop. Dit onderzoek aan de structuur van sferoïdeen is uniek, aangezien het voor de gebruikte methode een behoorlijk groot en ingewikkeld molecuul betreft.

Mijn bijdrage aan dit project omvat de theoretische analyse en is beschreven in hoofdstuk 5. Hierbij wordt in feite hetzelfde recept herhaald als voor de

experimenten, alleen volstaat een druk op de knop voor de isotoopsubstitutie. De computer rekent eerst de optimale structuur uit van het spheroiden molecuul en vervolgens de normaalmoden voor dezelfde isotopomeren als in onze experimenten zijn gebruikt. Pas als de berekeningen precies dezelfde veranderingen laten zien als de experimentele spectra, weten we zeker dat de moleculaire structuur klopt. Bovendien weten we nu precies hoe de normaaltrillingen die leiden tot piekjes in onze spectra eruit zien. Zie bijvoorbeeld Figuren 5.2, 5.4 en 5.3 voor respectievelijk voorbeelden van zulke spectra en de composities van normaalmoden. De moeilijkheid zit hem in het berekenen van de optimale moleculaire structuur. We gebruiken voor onze berekeningen de zogenaamde Density Functional Theorie (DFT). Hiermee zijn we in staat quantumchemische berekeningen te doen aan grotere moleculen, door gebruik te maken van een vereenvoudiging. Ondanks dat zijn we niet in staat om in onze berekeningen expliciet ook het eiwit mee te nemen: de berekening zou te groot worden en te lang duren met de huidige stand van de techniek. We moeten dus trucjes verzinnen om spheroiden toch een geometrie te laten aannemen die overeenkomt met de werkelijkheid.

Onze analyse heeft iets zeer onverwachts aan het licht gebracht. Het blijkt dat spheroiden tenminste twee verschillende structuren kan hebben in het reactiecentrum. De eerste is een 15,15'-cis structuur (zie Figuur 5.5(a)), zoals reeds werd vermoed. Op basis van de theoretische analyse zijn wij voor het eerst in staat geweest om aan deze structuur definitief een kenmerkende normaalmode voor spheroiden in het reactiecentrum van *Rhodobacter sphaeroides* toe te kennen. De tweede conformatie die spheroiden kan aannemen in het reactiecentrum is waarschijnlijk de 13,14-cis structuur (Figuur 5.5(b)). Dit laatste is echter nog niet onomstotelijk vastgesteld.

