# SZEMCSÉS ÉS RÉTEGES NANOSZERKEZETEK KISSZÖGŰ RÖNTGENSZÓRÁSA

MTA DOKTORA DISSZERTÁCIÓS DOLGOZAT

BÓTA ATTILA

MTA-TERMÉSZETTUDOMÁNYI KUTATÓKÖZPONT MOLEKULÁRIS FARMAKOLÓGIAI INTÉZET

2012.

# 1 Tartalom

1	ТА	TARTALOM				
2	BEVEZETÉS					
z						
Ĵ	2 4					
	3.1 2	A KISS	20GU RONIGENSZORAS	/ 7		
	ן. א	1.1	A Kisszogu Tonigenszorus ultululos isinertetese Az elektromágneses sugárzás szóródása elektronon	/ ي		
	э. З	1 3	A szórás általános táravalása	0		
	ן. א	1.5	rányrendezett (anizotron) rendszerek kisszögű szórása	11		
	32	Δ \//75		18		
	J.2 2	2 1	Aktivezén	10		
	ן. א	2.1	Ranev-tínusú nikkel katalizátor	10		
	э. З	2.2	Nemionos tenzid Synneronic A7–víz rendszer	29		
	3	2.5	Vezikulák	25		
	5.	3.2.4.	1 Lipidek önszerveződése és a kialakult szerkezetek iellemzői	33		
		3.2.4.	2 Vezikulák, mint modellmembrán rendszerek	42		
		3.2.4.	3 Vezikulák, mint nanohordozók	44		
		3.2.4.	4 Vezikulák, mint nanoreaktorok	46		
Δ	V	IZSGÁI	ATI MÓDSZEREK, BERENDEZÉSEK	48		
7	v			40		
	4.1	Kisszö	ĠĞŰ BERENDEZÉSEK	48		
	4.	1.1	Laboratóriumi berendezések	48		
	4.	1.2	A Kompakt Kratky kamera kollimációs blokkjának fejlesztése	49		
	4.	1.3	Pordiffrakciós berendezések fejlesztése kisszögű szórás mérésére	52		
	4.	1.4	Szinkrotron állomásoknál használt kisszögű berendezések	58		
	4.2	NAGY	SZÖGŰ RÖNTGENSZÓRÁS ÉS BERENDEZÉS	60		
	4.3	Fagya	NSZTVATÖRÉS	60		
	4.4	Kalof	RIMETRIKUS VIZSGÁLATOK	61		
	4.5	Tová	3BI FELHASZNÁLT BERENDEZÉSEK	62		
	4.6	Egyéb	FELHASZNÁLT MÓDSZEREK, ANYAGOK	64		
	4.	6.1	Módszerek a minták előállítására	64		
	4.	6.2	Anyagok	66		
		4.6.2.	1 Aktívszén	66		
		4.6.2.	2 Nikkel katalizátor	66		
		4.6.2.	3 Nemionos tenzia	60		
		4.0.2.4	4 FOSZTOIIPIGER	00		
	47	MÉRÉ	SI ΔΟΔΤΩΚ ΕΓΙ DOI GOZÁSA	67		
	4.	7.1	Szinkrotron mérések kivitelezése.	67		
	4.	7.2	A mérési adatok számítóaépes feldolaozása	68		
-			́муги	70		
Э	Cr	KEDIVIE	:NYEK	70		
	5.1	SZEMO	CSÉS RENDSZEREK	70		
	5.	1.1	Aktívszenek vázszerkezetének összehasonlító vizsgálata	70		
	5.	1.2	Nem piroforos Raney-nikkel katalizátor szemcsék nanorészecskéinek szerkezeti jellemzése	82		
	5.2	RÉTEG	ES LIOTRÓP RENDSZEREK	88		
	5.	2.1	Synperonic A /-viz rendszer "in situ" tanulmányozása	88		
	5.	2.2	Vezikulak kisszögű röntgendiffrakciójának számítása héjmodell alapján	93		
	5.	2.3	A DPPC/viz alapú vezikulák előátmenetének sajátságai és következményei	99		
		5.2.3.	1 I ermikus eloelet, memoria ettektus	99		
	r	5.2.3. 2 1	A 2,4-uikiomenoi natasa a DPPC-viz renuszer eloatmenetere	104		
	5.	2.4	A 2,4-uikioi jenoi-DPPC-viz tenuszei szerkezetenek tununnunyozusu, juzisuluyfamjanak ározása	100		
	111 E	2 E	Antimikrohiálic szerek hatása foszfolinid alanú modollmomhrán rondszerekro	111		
	э.	2.5	Antimiki obiulis szerek hutusu joszjoliplu ulupu modelimethbrun tenaszerekte	. 114		

	5.2.	5.1 Szulfadiazin hatása DPPE (DPPG)-víz alapú rendszerekre	114
	5.2.	5.2 Aminoglikozidok hatása foszfolipid-víz alapú modellmembránokra	117
	5.2.6	Salmonella minnesota (R595) lipopoliszacharid hatása modellmembrán rendszerekre	122
	5.2.0	5.1 A felhasznált hidratált lipidkeverékek általános tulajdonságai	122
	5.2.0	5.2 Lipopoliszacharid jelenlétében kialakult nanoszerkezetek	123
	5.2.7	Polialmasav tartalmú egyrétegű vezikula jellemzése	129
5	5.3 NAN	OREAKTOR	137
	5.3.1	Cu <sup>2+</sup> ion tartalmú domének formálódása DPPC-víz rendszerben	137
	5.3.3	L.1 Cu <sup>2+</sup> ionok hatása a liposzóma rétegrendszerére	137
	5.3.3	L.2 CuO nanorészecskék formálódása DPPC-víz alapú liposzómákban	141
	5.3.2	CdS nanorészecskék előállítása DPPC-víz alapú liposzómákban	143
	5.3.3	CdS nanorészecskék előállítása Synperonic A7–víz rendszerben	147
	5.3.4	Rúd alakú CdS nanorészecskék előállítása Synperonic A7–víz rendszerben	151
6	ÖSSZE	FOGLALÁS	154
7	IRODA	LOMJEGYZÉK	158
8	FELHA	SZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	170
9	9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS		
10	FÜGGE	LÉK	172
1	LO.1 A	NKISSZÖGŰ RÖNTGENSZÓRÁS ELMÉLETI ALAPJA	172
1	0.2 0	GAUSS ELEKTRONSŰRŰSÉGŰ HÉJ FORMAFAKTORA	174
1	0.3 A	LOGNORMÁL ELOSZLÁS HATÁRA	175
-			

### 2 Bevezetés

Száz éve, 1912-ben vetette papírra W. H. Bragg és W. L. Bragg a röntgensugárzással történő szerkezetvizsgálatok alapösszefüggését [1,2]. A röntgendiffrakció elméletének és gyakorlatának (technikájának) fejlődése összekapcsolódott a szén különböző módosulatainak tanulmányozásával. A M. von Laue által készített röntgenfényképek alapján a gyémánt és a grafit atomos szerkezetét P. P. Ewald különböztette meg (1914). A grafit rétegeinek távolságát W. H. Bragg és W. L. Bragg határozta meg (1914). Az első munka az amorf szénről P. Debye és P. Scherrer jóvoltából 1917-ben készült. Ugyanígy a szén, annak amorf módosulata volt az első anyag, amelyen a kisszögű szórás jelenségét első ízben, P. Krishnamurti 1930-ban megfigyelte. Engem is a szén – annak aktivált formája – irányított a kisszögű röntgenszórás módszerének és technikájának megismerése felé. Munkámat a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME) egykori Alkalmazott Kémia Tanszékén kezdtem. Aktívszenek szerkezeti és adszorpciós tulajdonságainak összefüggéseit tanulmányoztam (Aktívszén Szerkezetének Diplomamunka, Vizsgálata; Aktívszén Szerkezetének Módosítása Hőkezeléssel; Műszaki Doktori Értekezés, Módosított Szerkezetű Aktívszenek Előállítása; Ph.D. Értekezés). Posztdoktori munkám során ismerkedtem meg a kisszögű röntgenszórási technika részleteivel, valamint a sejtmembránok biofizikai leírásában lényeges szerepet játszó modellmembrán rendszerekkel ("Kratky-Intézet" néven ismertté vált Biofizikai és Nanoszerkezetkutató Intézetben, Grazban). 1992-től a BME Fizikai Kémia Tanszékén folytatódó, az aktívszenek, katalizátorok szerkezeti és szorpciós vizsgálataihoz kapcsolódó munkám termotróp (folyadékkristályos anyagok) és liotróp (lipid-víz, tenzid-víz), kompozitok, valamint összetett, biológiai modell-membránok tanulmányozásával bővült (Dipalmitoil-lecitin/víz alapú liposzómák szerkezeti sajátságai; Ph.D. Értekezés, Kolloid rendszerek kisszögű röntgenszórása; Habilitáció).

Az általam vizsgált kolloid rendszerekben az építőegységek kiterjedése a nanoméretskálára esik, így azok szerkezetének tanulmányozására a kisszögű röntgenszórási technika hatékonyan alkalmazható. Disszertációmban a kisszögű röntgenszórással a szemcsés (elsősorban aktívszenek) és réteges (vezikulák, tenzid–víz rendszerek) valamint a nanorészecskék vizsgálatában elért eredményeket mutatom be. Először a kisszögű szórás elméleti alapjait foglalom össze, majd az egyes rendszerek bemutatására térek át. A rendszerek kisszögű szórásának szakirodalomból ismert jellemzőinek birtokában fogalmazom meg munkám célkitűzéseit. Bemutatom, hogy gömb alakú egységekből összetett, szemcsés, heterodiszperz rendszerek építhetők fel és a modellek számított szórási görbéi alapján

különböző kolloid rendszerek (nanorészecskék, katalizátor szemcsék), hierarchikus felépítésű pórusvázak (elszenesített anyagok, aktívszenek) írhatók le. A kisszögű röntgenszórás szempontjából egymáshoz hasonló, réteges felépítésű tenzid-víz és sejtmembrán modell-rendszerek (vezikulák) szerkezeti jellemzőit ismertetem. Rétegrendszerekben szintetizált részecskék és réteges szerkezeti típusok együttes előfordulására és azok szórásának elválasztására is példát adok. A kisszögű szórás technikájának és módszerének fejlesztése révén új tudományos eredményekhez jutottam, amelyeknek ismertetése is szerepel értekezésemben (a kis- és nagyszögű szórás/diffrakció egyidejű mérése, új "in situ" berendezések létrehozása, új típusú kollimációs rendszer építése). A kisszögű szórás információtartalma korlátozott, ezért egyéb módszereket, technikákat (fagyasztvatöréssel kombinált elektronmikroszkópia, kalorimetria) kellett alkalmaznom, hogy a vizsgált nanorendszerekről alkotott kép teljesebbé válhasson, ezért e módszerekkel nyert eredmények is disszertációm részét képezik.

Az értekezés az 1997 óta eltelt időszak munkáját foglalja össze, amelyhez 8 Ph.D. hallgató velem közös (laboratóriumi preparatív, műszeres, adatfeldolgozási) tevékenysége kapcsolódik.

*O. Kratky* professzor, a kisszögű szórás módszerének és technikájának, A. Guinier mellett a világon legelismertebb néhai szakértője, akadémiai székfoglalóját "Az elhanyagolt dimenziók világa" című előadásával tartotta 1978-ban. Azóta a világ gyökeresen megváltozott, minden a "nano" körül forog. Az tény, hogy a Kolloidika és a Biológia nanoméretű alkotókból áll. Az alkotók felépítésének megismerésében a jelen század nagy technikai vívmányai sokat segítenek. *P. Laggner professzor* (Graz) szavaival élve a szinkrotron a *XXI.* század "Aladdin" lámpása. Ezt a változást személyesen én is megtapasztaltam. Disszertációmban közölt munkák kezdetben hagyományos laboratóriumi eszközök, legújabban 3. generációs szinkrotron sugárzás felhasználásával készültek. Önmagában a technika nem minden, a feltett szerkezeti probléma és az arra adott válasz egyensúlya kell, hogy jellemezze a munkát. Ezt szeretném bemutatni.

# 3 Irodalmi összefoglaló

### 3.1 A kisszögű röntgenszórás

### 3.1.1 A kisszögű röntgenszórás általános ismertetése

A kisszögű szórás a mintán áthaladt primer röntgennyaláb szóródása, amely az áthaladt nyaláb közvetlen közelében detektálható (a kis- és nagyszögű szórás ill. diffrakció tartományait, valamint a mérési elrendezést az 1. ábra mutatja be). Kísérletileg először P. Krishnamurti figyelte meg a szén amorf módosulatán és méréseit 1930-ban publikálta [3]. Az első megfigyelők között volt B. E. Warren, aki kőszenek röntgendiffrakcióját tanulmányozta és az első elméleti leírást adta [4]. Érdemes idézni cikkének címét és tartalmát: "X-Ray Diffraction Study of Carbon Black, Small-angle scattering. Interpretation without any assumption as to crystallinity-but packing density variations.", mert először szerepel címben a kisszögű szórás fogalma és először utal arra, hogy a szórás oka a minta (elektron)sűrűségének inhomogenitása, amelynek méretskálája a kolloidrendszerek mérettartományában (1-1000 nm) van. Már a legkorábbi munkák sem zárják ki a szórócentrumok periodikus elhelyezkedését, ezért a közleményekben a szórást és diffrakciót nem választják élesen szét. Például, G. H. Vineyard 1951-ben cikkében "Concerning Certain Anomalous Small-Angle Diffraction Effects"-et említ [5]. A kisszögű röntgenszórás/diffrakció leírásának a mai napig elfogadott elméleti alapműve A. Guinier és G. Fournet tollából származik [6]. A szerzők könyvük első mondatában a Bragg egyenletet, mint az anyag periodicitása és a diffrakciós szög kapcsolatára való utalást idézték, és értelmezték a kisszögű röntgenszórást. Rámutatnak arra, hogy a szórási illetve diffrakciós mintázat különbsége nem optikai természetű, hanem a minta felépítésének kristályos vagy amorf jellegének függvénye. Megállapítható, hogy a kisszögű röntgenszórás (speciális esetben diffrakció) az atomok, ionok, molekulák halmazának szerkezeti leírására ad lehetőséget és a szerkezeti biokémia, kolloidika és polimerek kutatásának nélkülözhetetlen eszközévé vált. A következőkben a kisszögű röntgenszórás alapjait ismertetem, a disszertációban szereplő összefüggéseket, értelmezéseket foglalom össze.

Finom kolloidok (nanorendszerek) esetében – a szerkezeti egységek mérete, azok közötti távolságok következtében – a megfigyelt röntgenszórás jellemzően kisszögű szórás. Az esetek többségében a kisszögű szórás intenzitása a szög függvényében mérve monoton lecsengő görbe.

7



### 1. ábra A röntgenszórásos vizsgálat transzmissziós elrendezése

Ha a minta rendezett és 1 - 10 nm-es (vagy nagyobb) periódusú rács is jelen van, a görbére kisszögű diffrakciós csúcsok ülnek. Nanorétegek esetében több diffrakciós csúcs is megfigyelhető, ami a Bragg-összefüggés alapján értelmezhető ( $n\lambda = 2d \cdot sin\Theta_n$ , ahol  $\lambda$  a beeső monokromatikus röntgensugárzás hullámhossza, d a párhuzamos rácssíkok távolsága,  $\Theta_n$  a beeső sugárzásnak a síkokkal bezárt szöge, az ún. Bragg szög, ami a szórási szög fele; n pozitív egész szám, a szórás rendje). A kis szögek tartományában a Bragg-összefüggés átírt alakja ( $1/d = (2sin\Theta)/\lambda|_{n=1}$ ) mutatja meg a szórási szög és a szórási síkok periódustávolsága közötti reciprok kapcsolatot. A makroszkopikusan orientálatlan minta szórása (diffrakciója) körszimmetrikus. Ez tulajdonképpen a pordiffrakciónak felel meg a kisszögű tartományban. A szórási kép sugárirányú intenzitás-lefutása a szórási (diffrakciós) görbe.

A kisszögű szórás – egy átmeneti tartományt követően – a nagyszögű szórásban folytatódik. A tartományok határa nem éles, annak értéke a minta szerkezeti sajátságaitól függ. Technikai nehézségek miatt kevés olyan készülék van, amelyben a szórási görbe a "teljes" szórási tartományban (~0,01 - ~160°) mérhető lenne.

### 3.1.2 Az elektromágneses sugárzás szóródása elektronon

Töltött részecskék (elektron, pozitron, proton) gyorsításuk esetén sugárzást bocsátanak ki. Ha a gyorsítást elektromágneses hullám okozza, akkor az emissziót szórásnak nevezik, arra utalva, hogy a beérkező és a kibocsátott nyaláb iránya eltér. A szórás geometriáját a 2. ábra illusztrálja.



### 2. ábra A síkhullámmal gerjesztett elektron szórása (szürke gömb)

Az "*O*" pontban lévő, az "*X*" tengely mentén lineárisan polarizált  $E(t) = E_0 e^{i\omega t}$  elektromos tér síkhullámja által gerjesztett elektron azonos frekvenciájú, de a megfigyelési pont pozíciójától függő elektromos teret kelt [7].

$$E(\vec{r},t) = \frac{e^2}{mc^2} \frac{\sin\Psi}{r} \frac{\omega^2}{\omega_0^2 - \omega^2} E(t), \qquad (1)$$

ahol  $\Psi$  az "X" tengely és a megfigyelési irányvonal (az "O"-ból a detektálási/észlelési pontba mutató  $\vec{r}$  vektor iránya) közötti szög, *m* az elektron tömege, "*e*" az elektron töltése, " $\omega_0$ " a csillapítatlan oszcillátor sajátfrekvenciája, az elektron mozgását reprezentálva,  $\omega$  pedig a gerjesztő hullám frekvenciája. Az 1-es összefüggésben, a tagolásnak megfelelően három arányossági tényező szerepel. Az  $e^2/r = mc^2$ -nek megfelelően  $r_0 = e^2/mc^2 = 2.82 \times 10^{-15} m$ ("c"a fény sebessége vákuumban) a klasszikus elektronsugár. (A proton által keltett tér erőssége, annak tömegét figyelembe véve, lényegesen kisebb, az elektronéhoz képest elhanyagolható.) A második tényező (sin  $\Psi/r$ ) a geometriai faktor, a beérkező sík hullám elektromos terének vetülete (sin  $\Psi$ ) valamint a sík és a gömbhullám közötti átszámításból (1/r) származik. A harmadik tényező a frekvencia faktor. A szórási kísérletek atomokon történnek, amelyekben az elektronok energiája az UV és a Röntgen tartományba esik. Ezen energiáknak megfelelő frekvenciaérték (w0) határozottan nagyobb, mint például a látható fény, mint gerjesztő hullám átlagos frekvenciája ( $\omega \sim 600$  nm). Így a  $\omega^2 / (\omega_0^2 - \omega^2)$ , a  $\omega^2 / \omega_0^2$ formára egyszerűsödik. Az észlelési pontban, ahová  $\vec{r}$  mutat, a szórt hullám amplitúdója arányos  $\omega^2$ -el. A fényszórásnak ezen esete Rayleigh szórás néven ismert. Mivel ebben az energiatartományban a hullámhossz túl nagy, finomszerkezet vizsgálatára nem megfelelő, csak nagyméretű objektumok (kolloid részecskék, vírusok) méretmeghatározására alkalmas. A kisszögű technika ezen a területen kisszögű lézer fényszórásként jelenik meg és néhány µm kiterjedésű objektumok méret-meghatározására alkalmas. A röntgensugarak esetében a 0.1 nm hullámhossz a tipikus (azaz a sajátfrekvenciánál lényegesen nagyobb gerjesztési frekvencia viszony  $\omega_0 \ll \omega$  áll fenn), ezért a frekvencia faktor  $\omega^2 / (\omega_0^2 - \omega^2) \approx -1$ . Az

amplitúdó független a frekvenciától (szokás azt mondani, hogy a röntgensugarak világa színtelen, "szürke"), a szórt hullám fázisa a gerjesztő hulláméhoz képest  $\pi$ -vel eltolódik. Ez a Thomson szórás:

$$E(\vec{r},t) = -r_0 \frac{\sin \Psi}{r} E(t)$$
<sup>(2)</sup>

Amit a megfigyelő lát (detektál) az nem a szórt elektromágneses hullám amplitúdója, hanem az energiafluxus időátlaga, vagy ismert nevén az intenzitás (energia/(felület × idő)), ami a Poynting vektor ( $\vec{P}$ ) valós része ( $\vec{P} = \varepsilon_0 c^2 (\vec{E} \times \vec{B})/2$ , ahol  $\vec{B}$  a mágneses tér indukciós vektora). Figyelembe véve, hogy  $\vec{E} \cdot \vec{B} = 0$ , és  $|\vec{B}| = |\vec{E}|/c$ , az intenzitás időátlaga  $I = \langle |\vec{P}| \rangle_{id\delta} = 1/2 \cdot (\varepsilon_0 / \mu_0) \cdot E_0^2$  (ahol  $\varepsilon_0$  és  $\mu_0$  a vákuum dielektromos állandója és permittivitása). Az összefüggés kifejezi, hogy az intenzitás a hullám amplitúdójának négyzete. Nem polarizált fényre vonatkozóan a szórási centrumtól r távolságban, az egységnyi térszögben megfigyelt szórást a Thomson képlet írja le:

$$I(2\Theta) = r_0^2 \left(\frac{1+\cos^2(2\Theta)}{2}\right) \cdot \frac{1}{r^2} \cdot I_0 = konst \cdot \left(\frac{1+\cos^2(2\Theta)}{2}\right) \cdot \frac{1}{r^2} \cdot I_0,$$
(3)

ahol "2 $\Theta$ " a beérkező és szóródó nyaláb iránya közötti, ún. szórási szög. A távolság négyzetével (a felülettel) arányos az intenzitás-csökkenés. A kisszögű szórás esetében (nagyon jó közelítéssel, ha a 2 $\Theta$ <5°) a polarizációs faktor ((1+cos<sup>2</sup>(2 $\Theta$ ))/2) közelítőleg 1, tehát hatása elhanyagolható. Ebből az következik, hogy a (3)-ban szereplő "konst" arányossági tényező a differenciális hatáskeresztmetszettel<sup>1</sup> egyenlő:  $d\sigma/d\Omega = r_0^2$ . Értéke az egységnyi idő alatt egységnyi térszögbe szórt energia és az egységnyi felületen egységnyi idő alatt beeső energia (egyben intenzitások) arányát adja meg.

A szórási kép kialakulását a beérkező nyaláb hullámainak fázisviszonyai nagymértékben befolyásolják, ugyanis a hullámok közötti interferencia bekövetkezéséhez a nyalábnak a minta figyelembe vett teljes tartományában koherensnek kell lennie [8]. Kétfajta koherenciát, a longitudinális és a transzverzális koherenciát, ill. az ezeket jellemző koherencia távolságokat kell szem előtt tartani. A longitudinális (haladási irányba eső, vagy időbeli) koherencia hossz annak a " $\Lambda$ " távolságnak felel meg, amely két hullám ( $\lambda$  és  $\lambda$ + $\Delta\lambda$  hullámhosszakkal) teljes fáziskioltódását okozza. Másképpen fogalmazva, amikor a szórt hullámok kiindulási pontjai közötti távolság eléri, vagy meghaladja a koherencia hosszt, akkor az interferencia, és annak megfelelően a szórt intenzitás is, lecseng. Ezek alapján  $\Lambda = \lambda^2 / \Delta\lambda$ , ahol  $\lambda$  az átlagos

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> szórási hatáskeresztmetszet "σ" ℤ szemléletes megfogalmazással ℤ a fotonok mintán történő áthaladását blokkoló elektronok keresztmetszete

hullámhossz,  $\Delta\lambda$  a spektrális félértékszélesség. Figyelembe véve, hogy egy monokromátor tipikusan  $\Delta\lambda/\lambda = 2 \ 10^{-4}$  relatív félértékszélességet ad, továbbá Cu(K $\alpha$ ) sugárzást használunk, akkor a koherencia hossz 0.75 µm. A bemutatott rendszerek mindegyikében a "figyelembe vett" minta-méret, doméntávolság ( $d_{\text{max}} \propto 1/legkisebb \cdot szórási \cdot szög$ ) kisebb, mint 0,75 µm, tehát a szórt nyalábok koherensnek tekinthetők.

### 3.1.3 A szórás általános tárgyalása

A szórás általános elmélete Lauétól származik [9]. Eszerint a szóródás rácspontokon (általánosan mondva: pontszerű szórócentrumokon) történik. A geometriai viszonyokat a 3. ábra mutatja. Tekintsünk egy szórócentrumot (*1*-el jelölve), amelyre az  $\vec{r}_1$  vektor mutat a rögzített "0" pontból.



3. ábra Egy szórócentrum és a viszonyítási pontnak választott másik szórócentrum (0) pozíciója. Az úthosszkülönbség geometriája valamint a szórási vektor (s) értelmezése.

A forrástól a detektorig, a (0) ponton vezető út hossza R, a belépő és a kilépő nyalábok irányvektorai:  $\vec{S}_0$ , ill.  $\vec{S}$ . A kilépő és a belépő irányvektorok különbsége a szórási vektor ( $\vec{s}$ ), amelynek abszolút értéke  $|\vec{s}| = s = (2/\lambda) \cdot \sin(\Theta)$ , mivel az irányvektorok hosszát  $1/\lambda$  -nak választjuk. A hullámszám vektorok (az irányvektorok  $2\pi$  –szerese) különbségét is használják szórási változónak. Az irodalomban a  $\vec{q} = \vec{k} = \vec{h} = 2\pi \cdot \vec{s}$  jelölésekkel találkozunk. A Laueféle elmélet alapján egy centrumon szórt (sík)hullám amplitúdóját általánosan az  $A = A_0 \cdot \sin(\omega \cdot t - 2\pi x/\lambda)$ összefüggés írja le. Ennek megfelelően az (1)-es, és általánosan az (*i*)-edik szórócentrumon áthaladó sugár amplitúdója,

$$A(i=1) = A_0 \cdot \sin(\omega t - 2\pi R / \lambda + 2\pi \cdot \vec{r}_i \vec{s})_{i=1} = A_0 \cdot \sin(\omega t - 2\pi R / \lambda + 2\pi \cdot \vec{r}_1 (\vec{S} - \vec{S}_0))$$
(4)

A *K* szórócentrumból álló rendszer szórásának amplitúdója a szórócentrumok szórási amplitúdójának összege, komplex szám formájában van kifejezve<sup>2</sup>:

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> A komplex forma négyzete, az intenzitásnak megfelelően, valós szám.

$$A_{ered\delta}(\vec{s}) = A_0 \sum_{i}^{K} \sin(\omega t - 2\pi R / \lambda - 2\pi \cdot \vec{r}_i \vec{s} \propto A_0 \sum_{i=1}^{K} e^{-2\pi \cdot \vec{r}_i \vec{s}_i} .$$
(5)

A 2.1.2 pontban ismertetett összefüggések alapján az intenzitás egyenlő az amplitúdó négyzetével (komplex konjugáltjának szorzatával). Az intenzitás konstans szorzó erejéig mérhető (ebben az esetben relatív intenzitásról van szó, az  $A_0 = \sqrt{I_0} = \sqrt{I_{bees\delta}}$  szorzótényezőt 1nek vesszük). A beeső nyaláb intenzitásának pontos ismeretében a szórt intenzitás abszolút egységben kifejezhető, amire a szinkrotronos mérések adatkezelésénél térek ki. A szórócentrumok folytonos térbeli eloszlásának megfelelően integrálás szerepel, amelyben a sűrűségfüggvény az elektronsűrűség-függvény:

$$A(s) = \int_{V} \rho(\vec{r}) e^{-2\pi i \vec{r} \cdot \vec{s}} dv_r, \qquad (6)$$

A (6)-os összefüggés alapján a szórási amplitúdó a szóró anyag elektronsűrűség-eloszlásának Fourier transzformáltja. A kifejezés határozott integrál, a röntgensugár által bevilágított térfogatra vonatkozik. A kisszögű szórás nem hordoz információt az atomi szerkezetről, tehát a kisszögű szórást leírhatjuk atomokkal analóg, konstans elektronsűrűségű gömbök szórásaként. Így a nanoméretű szóróegységek mérete hozzávetőlegesen egy nagyságrenddel nagyobb, mint az atomok mérete. Ennek megfelelően az " $f_n$ " atomi szórási tényező analógiájára a gömb szórási tényezőjét (formafaktorát,  $F(\vec{s})$ -t) értelmezzük:

$$F(\vec{s}) = A_{gomb}(\vec{s}) = \int_{V} \rho_n(r) e^{-i2\pi \vec{s}\vec{r}} dv_r$$
<sup>(7)</sup>

Az "n" index azt jelzi, hogy a gömbök különböző elektronsűrűségűek lehetnek, a valós eseteknek megfelelően. Polár koordinátákra áttérve (gömbszimmetrikus eset, ezért a szórási vektor és a szóró objektum leírására szolgáló koordinátarendszer tengelyeinek beállása tetszőleges lehet) a sugár függvényében az amplitúdóra az alábbi (disszertációmban a vezikulák esetében sokszor felhasznált) összefüggés áll elő:

$$A(s) = 4\pi \cdot (\rho_1 - \rho_2) \int_0^R \frac{r \cdot (\sin 2\pi r)}{2\pi s} dr$$
(8)

r=R határral az "R" sugarú gömb amplitúdója az alábbi, kompakt nanorészecskék leírásában alapvető egyenlet következik [10]:

$$A(s) = 4\pi^{2} (\rho_{1} - \rho_{2}) \left[ \frac{\sin(2\pi sR) - 2\pi sR \cdot \cos(2\pi sR)}{(2\pi s)^{3}} \right]$$
(9)

ahol  $\rho_1$  a gömb,  $\rho_2$  pedig a közeg elektronsűrűsége. A gömb izotrop térformája miatt annak szórása irányfüggetlen, következésképpen a szórási változó abszolút értéke, (*s*) szerepel változóként. A szórási intenzitása a (9)-os kifejezés négyzete.

A szórási görbe kezdeti tartományában az intenzitás és a szórási változó közötti összefüggés egy egyszerű közelítő formára alakítható, amely alapján a szóró gömb mérete egyszerűen meghatározható:

$$I(s) = V_{gomb}^{2} \left(\rho_{1} - \rho_{2}\right)^{2} \exp\left\{\left(-4\pi^{2}R^{2}/5\right)s^{2}\right\}$$
(10)  
A (10)-as kifejezés *q*-ban kifejezve:

$$I(q) = V_{gomb}^{2} \left(\rho_{1} - \rho_{2}\right)^{2} \exp\left\{\left(-R_{G}^{2}/3\right)q^{2}\right\},$$
(11)

ahol  $R_G = \sqrt{3/5} R$ . A (11)-es összefüggés Guiniertől származik, ezért azt elterjedten *Guinier-közelítésnek* nevezik. A szórási görbének azt a szakaszát, amelyre a  $qR_G <<1$ , a közelítés által megszabott feltétel érvényes, Guinier-tartománynak hívják. A kifejezésből következik, hogy a szórási görbének a szórási változó "0" pontjára extrapolált értéke arányos a szóró egységek térfogatának négyzetével. A részecskeméretet az ún. Guinier-rádiusszal ( $R_G$ ) adják meg, ami a részecske inercia (tehetetlenségi) sugarával <sup>3</sup> egyenlő. (Az inercia-sugár definíciója:  $R_G^2 = \int r^2 dV/V$ ).

A kisszögű szórási görbe a nagyobb *s*-értékeknél, a "kifutó" szakaszban (az ún. "Porod" tartományban)  $1/s^4$ -nel lesz arányos, ami az intenzitás trigonometrikus azonosságok beírása után az alábbi formájú lesz [10,11]:

$$I(s) = \frac{1}{8\pi^3} \left( \frac{1}{\pi \cdot s^6} + \frac{4\pi R^2}{s^4} + \frac{4 \cdot R}{s^5} \sin(4\pi sR) + \left( \frac{4\pi R^2}{s^4} - \frac{1}{\pi \cdot s^6} \right) \cos(4\pi sR) \right)$$
(12)

A (12)-es kifejezésben a  $4\pi R^2/s^4$  tag a meghatározó, mert az *s*-nek 4-nél nagyobb hatványait tartalmazó tagjai az  $s \rightarrow \infty$  határátmenetben elhanyagolhatók. Szerepel egy másik  $4\pi R^2/s^4$  tag is cos( $4\pi s R$ ) szorzóval, ezért a szórási görbe periodikus jellegű viselkedést mutat. Logaritmikus ábrázolásban, az  $I(s) = 1/4\pi^3 \cdot 4\pi R^2 \cdot 1/s^4$  összefüggésnek megfelelően, a maximumok sorozatára egyenest illesztve, *s*-ben (és q-ban is) -4-es meredekségű egyenest nyerünk. Az R=10 nm sugarú gömb szórási görbéjét az alábbi 4. ábrán mutatom be. A szórási görbén megfigyelhető lokális maximumok helye nem periodikus.

<sup>3</sup>  $R_G^2 = \frac{\int \rho(\vec{r}) \cdot \vec{r}^2 d^3 \vec{r}}{\int \rho(\vec{r}) \cdot d^3 \vec{r}}$ , két fázisú rendszer esetében az összefüggés egyszerűsödik:  $R_G^2 = \frac{\int R^2 d^3 \vec{r}}{V}$ 





4. ábra A  $R_0=10$  nm sugarú gömb számított kisszögű szórásgörbéje. A betétábra a Guinierféle közelítést, az ábrán az illesztett egyenes a Porod-féle "törvényt" illusztrálja. Laboratóriumunkban előállított szilika nanorészecske SAXS göbéjén csak az első lokális maximum figyelhető meg (alsó, baloldali kép), amelynek oka a részecskék heterodiszperz méreteloszlása, amelyet magának a görbének az illesztése alapján ill. transzmissziós elektronmikroszkópban, mint független technikával határoztunk meg (alsó, jobboldali kép) [12].

Azonos méretű részecskék (gömbök) sokaságából álló rendszer amplitúdója az egyedi részecskék amplitúdójának összege: (a továbbiakban, a  $2\pi$  elhagyása céljából,  $\vec{q}$  szerepel változóként):

$$A(\vec{q}) = \sum_{n=1}^{N} F(\vec{q}) e^{-i\vec{q}\vec{r}_{n}},$$
(13)

ahol N, a részecskék száma,  $\vec{r}_n$ , a gömbök középpontjainak távolsága. A kifejezés négyzete az intenzitás:

$$I(\vec{q}) = F(\vec{q})^{2} \left[ N + \sum_{m \neq n}^{N} \sum_{n}^{N} e^{i\vec{q}(r_{n} - r_{m})} \right],$$
(14)

ahol az  $r_n=r_m$  eset N-szer fordul elő. A zárójelben az első tag egyedi részecskékre, a második tag a részecskék közötti korrelációra vonatkozik. Amennyiben a részecskék elhelyezkedése nem mutat szabályszerűséget<sup>4</sup>, a második tag elhanyagolhatóan kicsiny lesz, azaz a

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> "gázszerű", oldatban diszpergált nanorészecskék

részecskék közötti korreláció nem ad szórási járulékot és a szórási kép körszimmetrikus lesz. Ebben az esetben a szórási intenzitás egyszerűen a formafaktor négyzetének és a részecskeszámnak a szorzata.

Reális, gömb alakú rendszerek polidiszperz méreteloszlásúak, amelyeknek intenzitását leíró kifejezés, az összegzés helyett, (a részecskék méreteloszlásának leírására szolgáló sűrűségfüggvényt tartalmazó) integrál:

$$I(q) = \int_{0}^{\infty} P(R) 16\pi^{2} (\rho_{1} - \rho_{2})^{2} \left[ \frac{\sin(qR) - qR\cos(qR)}{q^{3}} \right]^{2} dR$$
(15)

A kifejezésben a konkrét P(R) sűrűségfüggvény általában normál, log-normál, vagy Maxwell típusú méreteloszlást jellemez.

### 3.1.4 Irányrendezett (anizotrop) rendszerek kisszögű szórása

A vizsgált rendszerek többsége anizotrop, a térbeli iránytól függő szerkezeti formájú, ami ennek megfelelően anizotrop szórási tulajdonságokat mutat, és így a kétdimenziós detektoron nem körszimmetrikus szórási kép jelentkezik. Függetlenül attól, hogy a szerkezeti egységek önmagukban izotrop (gömb) vagy anizotrop (például hosszú, pálcika) formájúak, a szóróegységek halmaza a térben valamilyen irányrendezett alakot vesz fel. Az intenzitás ebben az esetben a (13) összefüggés és annak komplex konjugáltjának szorzata, ami teljesen általános érvényű kifejezés (az *F* formafaktor komplex szám is lehet):

$$I(\vec{q}) = \sum_{m=1}^{N} \sum_{n=1}^{N} F_m^*(\vec{q}) F_n(\vec{q}) \cdot e^{-i\vec{q}(\vec{r}_n - \vec{r}_m)}$$
(16)

Az összefüggés felhasználásával tetszőleges formájú alakzat szórása leírható [13]. A térben orientált rendszer szórásának számítási lépéseit egy végletekig leegyszerűsített, két gömbből álló alakzat példáján mutatom be. A minta – detektor távolság, valamint a rögzített szórási/diffrakciós kép méretének ismerete egyenértékű a szórási szög ismeretével. Tehát a mintáról, különböző távolságokban rögzített szórási képek egymáshoz hasonlóak. A kisszögek tartományában a detektor síkja ráfekszik az Ewald gömb síkjára. A detektor középpontjából (a mintán áthaladt nyaláb és a detektor síkjának döféspontja) a detektor egy tetszőleges pontjába húzott szakasz hossza arányos a szórási változó abszolút értékével (a  $|\vec{q}| - val$ ). A geometriai viszonyokat az 5. ábra mutatja. A szórási szög kis értékéből következik, hogy  $|\vec{q}| = 2\pi |\vec{s}| = (4\pi/\lambda) \sin \Theta \approx (4\pi/\lambda) tg\Theta \approx (2\pi)m/l$ , ahol *m* a detektor középpontja és annak egy pontja közötti távolság, *l*, a minta és a detektor távolsága ( $\vec{q}$  iránya a középpontból az adott pontba mutató irány). Az 5. ábra segítségével két, R<sub>1</sub> és R<sub>2</sub> sugarú, térben rögzített gömböt ábrázoltam anizotrop minta bemutatására. (A gömb formafaktora a

(9)-es összefüggésben szerepel.) A röntgensugár irányában, a minta közepétől (M pont) "*l*" távolságra helyezzük el a detektort (annak síkja a beeső és áthaladt röntgennyalábra merőleges). További kikötés, hogy a minta – detektor "*l*" távolsága lényegesen nagyobb, mint a minta megvilágított részének kiterjedése. A detektor egy tetszőleges D pontjába érkező szórás számítása a (16)-os összefüggés alapján történik. Az M középpontú, MD sugarú gömb (a rajzon kör) sugara az O pontban metszi a nyalábot, ez a metszéspont  $|\vec{q}| = 0$ -nak felel meg. A  $\vec{q}$  iránya az  $\overrightarrow{OD}$  vektor iránya, nagysága csak *közelítőleg* (4 $\pi/\lambda$ )m/(2*l*), mert az áthaladt nyaláb és a detektor síkjának döféspontja nem az O pont! Az eltérés lényegesen nagyobb, ha nem a kisszögű tartományban vagyunk. Ezekben az esetekben a szórási változó nagyságát a  $|\vec{q}|$  -ra vonatkozó definíció alapján számítjuk. A gömbök középpontjaiba a választott koordinátarendszerben az  $\vec{r_1}$  és  $\vec{r_2}$  vektorok mutatnak. Kiszámítjuk az  $(\vec{r_i} - \vec{r_j})$  különbségvektor és az  $\vec{q}$  skalárszorzatát ( $\varphi$  az OD szakasz és a különbségvektor által bezárt szög), majd a (16)-os összefüggést felhasználva a D pontban mérhető intenzitás értékét nyerjük:

 $I(\vec{q}) = F(q, R_1)^2 + F(q, R_2)^2 + 2F(q, R_1)F(q, R_2)\cos(|\vec{q}||\vec{r}_{ij}|\cos\varphi)$ (17) ahol  $\vec{r}_{ij}$  a gömböket összekötő, az  $\vec{r}_i$  végpontjából az  $\vec{r}_j$  végpontjába mutató különbségvektor, valamint  $\vec{r}_{ij} = -\vec{r}_{ii}$ ).



5. ábra Egy anizotróp rendszerből (két gömbből álló forma) származó szórási kép egy pontjának meghatározása

Tetszőleges lépésközzel az egész detektor síkját bejárhatjuk és a kétdimenziós szórási (diffrakciós) képet kiszámíthatjuk. A vázolt számítási módnak makroszkopikusan irányrendezett szerkezetek kétdimenziós szórási képének kiszámításában van jelentősége, ami

a reális rendszereken mért szórásképek értelmezését, az irányrendezettség mértékének és szerkezeti okának megállapítását teszi lehetővé.

Két alapesetet szemléltetek a 6. ábrán. Először azt, amikor a beeső röntgennyaláb a két gömböt összekötő egyenessel nem párhuzamos, hanem – mint az az ábrán is látszik – derékszöget zár be. A két gömb, a beeső nyaláb geometriáját továbbá a számított szórási képet a 6. ábra mutatja. A kétdimenziós detektoron megjelenő mintázat a szórási tér és a valós tér közötti reciprok összefüggését jól példázza: abban az irányban ahol az objektum kiterjedése nagyobb a szórási kép összehúzódik: a horizontális és a vertikális irányú kiterjedés különböző. Ha a nyalábra merőleges síkban nincs anizotrópia (a röntgennyaláb párhuzamos a két gömböt összekötő egyenessel), a két gömbből álló rendszer szórási képe egy izotrop rendszer körszimmetrikus szórási mintázatát mutatja (6. ábra).



6. ábra A kétdimenziós szórási kép (detektorkép) kiszámítása a (17) összefüggés alapján készült.  $R_1=R_2=10$  nm, a röntgennyaláb hullámhossza,  $\lambda = 0,154$  nm, minta-detektor távolsága, l=1 m, a detektor mérete 256x256 pixel, a pixel mérete: 1000 µm [14].

Izotrop szórási kép származhat olyan mintáról is, amelyben az anizotrop szerkezeti egységek minden irányba orientálódhatnak, de az egységek sokasága irányfüggetlen (izotrop) tulajdonságot mutat (pl. rúd alakú részecskék folyadékban eloszlatva). Az előző példa esetében a két gömböt minden irányba forgatva és minden irány szórását összeadva (az irányokat kiátlagolva), a Debye formulához jutunk:

$$I(q) = \sum_{n=1}^{n=N} F_n^2(q) + \sum_{n=1}^{N} \sum_{n\neq m=1}^{N} F_n(q) F_m(q) \frac{\sin(\vec{q}\vec{r}_{nm})}{\vec{q}\vec{r}_{nm}}$$
(18)

A nagyszögű és a kisszögű szórás azonos formalizmusa a rácsszerűen pakolódott, néhány nanométer kiterjedésű karakterisztikus távolsággal ("rácsállandóval") kolloidrendszerek kisszögű diffrakciójára is alkalmazható, amelynek részletesebb ismertetésére a 2.2. fejezetben

térek ki. A nagyszögű diffrakcióhoz hasonlóan a kisszögű diffrakciónál is alapvető fontosságú a reciprok rács bevezetése a szórási kép értelmezésében. A síkok helyzetét a reciprok rácsban a Miller indexek adják [11,15]. A diffrakciós intenzitás maximumok geometriai feltételének grafikus bemutatására szolgál az Ewald-féle szerkesztés. A reciprok térben a beeső nyaláb  $\vec{S}_0$ irányvektora a reciprok rács origójába ( $\overline{000}$ ) mutat. (A reciprok rács a belépő nyalábhoz képest nem orientált, ezért  $\vec{S}_0$  nem feltétlenül párhuzamos a reciprok rács valamelyik ( $\bar{x}$ , vagy  $\overline{y}$ , vagy  $\overline{z}$ ) tengelyével. Ha valamely reciprok rácspont az  $|\vec{S}_0| = |\vec{S}| = 1/\lambda$  sugarú Ewald gömbnek a felületére esik, akkor a diffrakció feltétele (a Bragg egyenlet) teljesül. Ugyanez áll fenn a kisszögű diffrakció esetében is. A kis szórási (ebben az esetben, diffrakciós) szög miatt az Ewald gömb felszíne a  $(\overline{000})$  pont körül síknak tekinthető. A kolloid rendszerekben az egységes szerkezetű domének – mint a pormintában lévő kristályszemcsék – véletlenszerűen orientálódhatnak a tér minden irányába, ezért a (hkl) síkokból származó reciprokrács pontok a  $(\overline{000})$  középpont körül,  $|\vec{s}(hkl)|$  sugarú gömbhéjakon helyezkednek el. Ezen gömbök és az Ewald-gömb (a kisszögű tartományban, sík) metszése a diffrakció mértani helye, például hexagonális rétegszerkezetek (multirétegek) egydimenziós rácsának, nanocsövek elrendeződésének, vagy nanogömbök köbös térrácsának esetei (7. ábra).



7. ábra Egy kolloid rendszer térrácsát reprezentáló reciprokrács (minden gömböcske egy-egy síkot reprezentál a valós térben) és az Ewald gömb (ennek részlete halványan van feltüntetve) metszete. A piros nyilak a "kristálydarab"(001) síkrácsának diffrakciós pontjait, a piros körök az izotrop térbeállású "kristálydarabok" halmazának 1. és 2. rendű diffrakciós gyűrűit mutatják.

# 3.2 A vizsgált rendszerek szerkezeti és kisszögű szórási sajátosságainak ismertetése

### 3.2.1 Aktívszén

Aktívszénnek nevezünk általában minden olyan pórusos, amorf szénfajtát, amelynek jelentékeny adszorpciós kapacitása van [16,17]. Az aktívszén megjelenési formájára nézve

néhány mm kiterjedésű szabálytalan alakú szemcsés anyag vagy szabályos geometriai formájú granulátum (8. ábra). Alkalmazzák porrá őrölt (40 μm és 1 mm közötti szemcseméretű) kiszerelési formában is. Egyetlen szemcséjében szubmikroszkopikus (1 – 1000 nm közötti tartomány), többé-kevésbé összefüggő, pórusok járatrendszere van, míg szénvázát eltérő – a kisszögű és nagyszögű szórás/diffrakció által jellemezhető – szerkezeti formák alkotják.



8. ábra Csonthéjas magból(barackmaghéj) előállított aktívszén szemcséi (pásztázó elektronmikroszkópos felvétel)

Az aktívszén előállítása szerves eredetű természetes vagy mesterséges (polimer) anyagokból történik [18,19]. Az előállítás első lépésében a kiindulási anyagot levegő kizárásával, 600 - 700 C°-on pirolizálják (karbonizálják). A második lépésben, az ún. aktiválás során az elszenesített anyagot részben elgázosítják és nagy fajlagos felületű (~1000m<sup>2</sup>/g) pórusos mátrix marad vissza. Az aktívszén szénváza polikondenzált, zömében hat szénatomos gyűrűkből felépülő, a grafitsíkokhoz hasonló grafénnek nevezett rétegekből, mint elsődleges építőelemekből áll. Tanulmányozására – már a mérési technika kezdete óta – röntgenszórásos és röntgendiffrakciós módszereket használnak [20]. 2–5, szomszédos, közel párhuzamos réteg alkotja a krisztallitokat, amelyek a kisszögű szórás szempontjából, mint legkisebb szóró egységek szerepelnek. Ezeket a krisztallitokat, mint elsődleges kompakt egységeket gömb alakúnak lehet tekinteni. A heterodiszperz krisztallitok átlagos kiterjedése 1-2 nm. Az aktiválás folyamán egy részük kiég és így mikropórusok formálódnak (azok a pórusok, amelyek sugara  $\leq 2$  nm). Azokban a térrészekben, ahová az aktiváló ágens nem jutott el, a krisztallitok méretnövekedése, azok összeépülése következik be. Így alakulnak ki a krisztallithalmazok, amelyek mérete 4 nm körüli. Az aktiválási folyamat további szakaszában egész krisztallithalmazok is eltávoznak, és mezopórusok formálódnak (azok a pórusok amelyek sugara 2 és 4 nm közé esik). Az ennél nagyobb méretű, de még mindig a nanométeres nagyságrendbe eső szerkezeti formát a kiindulási anyag fajtája határozza meg. Az elmondottakat figyelembe véve várható, hogy az aktívszén szerkezetének anizotrop sajátságai valamilyen mértékben a kiindulási anyagéra fognak hasonlítani. A 9. ábra mutatja

az aktívszén váz felépítését, az eredetileg kőszenek jellemzésére használt, Hirsch által kidolgozott modell alapján [21]. A bemutatott séma jól illusztrálja az aktívszén tagoltságát, a váz sűrűségének inhomogenitását, ami az aktívszén felületi és tömegfraktál tulajdonságait döntő módon befolyásolja.



9. ábra Az aktívszén nanoszerkezete. A feltételezett szerkezet Hirsch eredetileg kőszenek szerkezetére vonatkozó elképzelése alapján [21]

Az aktívszenek pórusszerkezet-vizsgálatára különböző gőz- és folyadékadszorpciós módszerek ismeretesek [22]. Legelterjedtebben alacsony hőmérsékletű nitrogén-gőz adszorpciós izotermák adataiból, különböző adszorpciós modellek alapján fajlagos felületet, pórustérfogatot, valamint a pórustérfogat pórusméret szerinti eloszlását számítják ki. A fajlagos felület nagyságának és az aktívszén jellemző adszorpciós tulajdonságainak szempontjából a mikropórusokban lezajló folyamatok a meghatározók. Például olyan aktívszén esetében, amelyben a mikropórusok térfogata a teljes pórustérfogatnak csak 30% -át teszi ki, viszont ugyanezek a mikropórusok a fajlagos felület több mint 90%-át adják. Az aktívszenek mikropórusai kis relatív nyomásokon (p/p<sub>o</sub><0,2) telítődnek adszorptívummal. Nagyobb nyomásoknál a mezo- és makropórusokban lejátszódó ad- és deszorpciós jelenségek válnak meghatározóvá [22]. Utóbbi folyamatok eredményeként alakul ki az izotermákon jelentkező jellegzetes hiszterézishurok. A mikropórus-telítődést eredményező nyomásoknál (p/p<sub>o</sub><0,2) elhanyagolhatóan csekély a mezo- illetve makropórusok felületén adszorbeálódó gázmennyiség. Az izotermák kezdeti szakasza kielégítő pontossággal írható le a Langmuirtípusú izotermaegyenlettel. A fajlagos felület kiszámításához az izotermát leíró BET-egyenlet állandóira van szükség, amelyet több összetartozó relatív nyomás – adszorbeált anyagmennyiség adatpár ismeretében lehet meghatározni. Mivel a mikropórusos adszorbensek izotermái általában nem, vagy csak igen - igen szűk nyomástartományban adhatók meg a BET-egyenlettel, az egyenlet állandói és így a fajlagos felület is csak nagy bizonytalansággal határozható meg. Gyakran az ún. "egypontos BET-módszert" alkalmazzák,

mert a módszer csak egyetlen összetartozó nyomás-adszorbeált mennyiség adat-pár meghatározását kívánja meg (bár a BET egyenlet adott esetben megalapozatlan használata miatt a felület-meghatározás hibája igen nagy lehet).

Az aktívszenek mikropórusainak adszorpciós kapacitásának meghatározására korábban elterjedten alkalmazták a Dubinin és munkatársai [23-25] munkásságához kötődő, az ún. pórustelítődési elméletből következő, termodinamikai alapokon nyugvó, félempirikus izotermaegyenletet. Az izotermaegyenlet alapján ún. karakterisztikus energia (E), valamint póruseloszlás határozható meg [26]. A kísérleti adatok és a modell-leírás pontosabb illesztése indokolja a kéttagú Dubinin – Radushkevich egyenlet alkalmazását, amely alapján összetett, bimodális póruseloszlás írható le. A leírás szerint a mikropórusok tartományában az aktiválás kezdeti szakaszában egy jellemző pórusméret van adott eloszlástípussal [27]. Az aktiválás további szakaszában megjelenik egy másik, nagyobb jellemző méretű mikropórustartomány is (hasonló eloszlástípussal), ami a konverzió előrehaladtával egyre dominánsabb lesz. Tehát a bimodális összefüggés az aktívszén előállítása során változó, összetett mikropórusrendszerét általában megfelelően írja le [28–31]. Az elmúlt évtizedben új pórusmodellek és módszerek terjedtek el az irodalomban [32,33]. Ugyanakkor, ezek a modellek sem mutatnak túl azon a megállapításon, hogy az aktívszenek mikropórusrendszere összetett és az aktiválási idő növelése a jellemző pórusméretet növeli. Egyes aktívszén típusok pórusaiban, a gázmolekulák diffúziós dinamikájának méréséből (frekvencia-válasz vizsgálatok) nyert eredmények megerősítik azt a modell-feltételezést, hogy a póruseloszlások bimodális jellegűek.

Az aktívszenek adszorpciós tulajdonságait a műszaki gyakorlatban általában alkalmazott szabványos vizsgálattal, a jód- és a metilénkék-számmal minősítik (a mérőszámok dimenziói, amik jelentésüket is megvilágítják: jódszám [mg<sub>jód</sub>/g<sub>szén</sub>], metilénkék-szám [g<sub>metilénkék</sub>/g<sub>szén</sub>]) [34,35]. Az adszorptívumok eltérő molekulaméretéből következik, hogy a metilénkék-szám elsősorban a metilénkék nagyobb molekulái számára is hozzáférhető, mezo- <sup>5</sup> és makropórusokról adnak információt. A jódszám, a jódmolekula kisebb mérete miatt, a mikropórusokat tartalmazó aktívszén teljes fajlagos felületével arányos. A szokványos, nitrogénadszorpciós módszerrel meghatározott, m<sup>2</sup>/g-ban kifejezett fajlagos felület számértéke rendszerint nem, és ezzel összhangban a munkám során minősített mintáknál sem különbözik lényegesen a sokkal egyszerűbben meghatározható jódszámtól.

Az aktívszén szerkezetének jellemzésében a fejezet bevezető részében említett kisszögű röntgenszórásnak kitüntetett szerepe van. A kisszögű szórással meghatározható legfontosabb

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> azok a pórusok, amelynek sugara >2 nm, de <20 nm

szerkezeti jellemzők, paraméterek leírását Guinier-Fournet alapművében és S. Ergun összeállításaiban találjuk meg [6,11,36]. A Guinier-féle (10)-as összefüggés a girációs sugár ( $R_G$ ) használatával általános, bármilyen alakú szórási egységre alkalmazható. A Guinier-féle közelítés alkalmazásával Hosemann [37] valamint Shull és Roess [38,39] a szóróegységek adott méreteloszlású populációjának szórását vezették le, amelynek alakja az alábbi:

$$\log I(q) = c_2 - \frac{(n+4)}{2} \log(q^2 / 4\pi^2 + 3/r_0^2)$$
(19)

ahol *n* és  $r_0$  az egyenlet paraméterei. A log  $I - \log q^2$  ábrázolásban a jellemző tartományban az ábrázolt adatpárok függvényalakja negatív görbületet ír le, és az a kifejezésnek megfelelően egy transzformációval (az "x"-tengelyen egy konstans= $3/r_0^2$  hozzáadásával) lineárissá alakítható. Számítógépes illesztési eljárással  $3/r_0^2$ , valamint a kapott egyenes meredekségéből a másik paraméter, *n* meghatározható. Hosemann egy Maxwell típusú méreteloszlás függvény használatát javasolta, amelynek paraméterei  $r_0$  és *n*:

$$M(R_G) = \frac{2}{r_0^{n+1} \Gamma((n+1)/2)} r^n \exp(-R_G^2/r_0^2)$$
(20)

ahol  $M(R_G)$ , a Guinier sugárral jellemzett szóróegységek térfogat szerinti sűrűségfüggvénye,  $\Gamma(n)$  a gamma függvény. A szóróegységek alakját legegyszerűbb esetben gömbnek feltételezve, a szénváz ezen gömbök halmazából rakható ki, ahogy azt a 10. ábra mutatja.



10. ábra Az aktívszén szemcséje, mint a - körrel jelölt - szerkezeti építőelemek összekapcsolódó halmaza. A szerkezet ugyanaz, mint 9. ábrán, de finomfelbontás nélkül, a kisszögű szórással jellemezhető sokaságot vehetjük szemügyre.

Az aktívszén szerkezeti elemeiből álló sokaságát, mint összefüggő szénvázat (carbon skeleton) tekintve, annak jellemzésére a kisszögű szórásból két, momentum jellegű szerkezeti paramétert lehet meghatározni. Ezek a korrelációs hossz és az inhomogenitás távolság [40]. A korrelációs hossz azt a maximális távolságot adja meg, amelyen belül a szórt fotonok között fellép az interferencia. Következésképpen ez a távolság a szilárd váz homogén tartományainak átlagos kiterjedése, mely végtelen hosszú, elhanyagolhatóan vékony "vonalfókusz geometria" beeső nyalábra definiálva:

$$l_{c} = \frac{2 \cdot \int_{0 \approx q_{\min}}^{\infty \approx q_{\max}} I(q) dq}{\int_{0 \approx q_{\min}}^{\infty \approx q_{\max}} q \cdot I(q) dq}.$$
(21)

A számlálóban, a nulladik momentum meghatározása a többszörös szórás miatt nagy hibával jár, ezért a korrelációs hossznak az értékét csak becslésre használhatjuk<sup>6</sup> (l<sub>c</sub> értéke a nagy szögek tartományában, a pordiffrakciós módszernél használt, a reflexió kiszélesedésére alapozott Debye-Scherrer féle részecskemérettel kellene, hogy megegyezzen.). Az inhomogenitás távolság egy átlagos húr hossza. Azon húrok átlagos hossza, amelyeket a minta fázishatárai metszenek ki a mintán a tér minden irányából húzott egyenesekből. Definíciója (vonalfókusz geometriájú beeső nyalábra vonatkoztatva):

$$l = \frac{\int_{q_{\min}}^{q_{\max}} q \cdot I(q) dq}{\lim_{q \to \infty}} q^3 I(q)$$
(22)

A kisszögű szórás módszere mélyebb információkkal szolgál az aktívszén szerkezetéről, mint egyéb, például az adszorpciós módszerek. Az építőelemek határfelületének összege, a fajlagos felület az  $S_x[m^2/g] = 4 \times 10^3 (1-P)/(\rho_{sz enváz} \cdot l)$  összefüggés alapján számítható (P, a pórusok a minta egészének térfogatára viszonyított aránya, l (nm),  $\rho$  (g/cm<sup>3</sup>), a váz sűrűsége) [40]. A röntgenszórás alapján számított fajlagos felület általában lényegesen nagyobb, mint a gázadszorpcióval meghatározott érték. Ennek oka, hogy az utóbbi csak az adszorptívum számára elérhető nyitott pórusok felületét jellemzi, míg a röntgenmódszer az aktívszén egészének, a benne lévő diszkontinuitások határrétegeinek felületét érzékeli. Röntgenszórással az aktívszén előállítási lépéseinek mindegyikében nyomon követhető a szénváz alakulása. Az alkalmazás szempontjából az aktívszén adszorpciós és egyéb (mechanikai, összetételi, kiszerelési) tulajdonságai a döntők. Az optimális előállítási paraméterek ismerete szempontjából azok a munkák a fontosak, amelyekben az adszorpciós és a szerkezeti paraméterek kapcsolatát ismertetik. Dubinin és munkatársai mikropórusos aktívszenek – az adszorpciós módszer és a kisszögű szórás által meghatározható – jellemzőire, a minta adszorpciós karakterisztikus energiájának felhasználásával ( $E_0$ ) az alábbi összefüggést írták fel [41]:

 $E_0 \cdot R_G = 14.8 \pm 0.6 \quad [(kJ \cdot nm) / mol].$ <sup>(23)</sup>

Dubinin és munkatársai mellett Stoeckli aktívszenekkel kapcsolatos munkássága emelendő ki . H.F. Stoeckli és A. Jánosi szerzőpárosnak az "Aktívszenek gázadszorpciójának és kisszögű röntgenszórásának összehasonlítása" című tanulmánya volt számomra irányadó [40]. Munkájukban a pórusok térfogati arányának (P) ismeretében a szénváz ( $l_m=1/P$ ) és a

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Elegendően kicsiny szórási változó elérése a gyakorlatban nehézséget okoz.

pórusok  $(l_p = l/(1-P))$  kisszögű szórás alapján meghatározott átlagos inhomogenitás távolságát adták meg és hasonlították össze az adszorpciós jellemzőkkel, eltérő aktívszén típusokra vonatkozóan. A cikkben közöltek hatására, az általam 1980-tól a 2000-ig terjedő időszakban sokféle anyagból előállított, sokféle aktívszén és aktívszén-szerű anyag adszorpciós valamint kisszögű szórásos paramétereit határoztam meg, és hasonlítottam össze a Noszkó László által vezetett munkacsoportban [19,42-47], Megállapítottam, hogy a 23-as összefüggés nem tekinthető általános érvényűnek. Az aktívszenek bizonyos csoportjai nem hasonlíthatók össze, mert eredetük és összetételük jelentősen különbözik. Az adszorpciós és vázszerkezeti paraméterek összehasonlítása céljából nagy tisztaságú aktívszeneket állítottam elő az aktiválási idő (ezzel közel lineárisan nő a konverzió) és a hőmérséklet (növelése a grafitosodás mértékét növeli) szisztematikus változtatásával. Az aktiválási idő és a hőmérséklet kombinációjával az adszorpciós és a szerkezeti jellemzők kapcsolatának megismerésével az aktívszén szerkezetére vonatkozó elképzelést kiegészítettem. Az inhomogenitás távolságok alapján a 11. ábra segítségével bemutatott szerkezeti kép vázolható fel, amelyen a szerkezeti elemek halmaza és az azok között kialakuló pórusok láthatók. A sematikus ábra segítségével a pórusokra és a vázra vonatkozó inhomogenitás távolságokat szemléltetem.



11. ábra Az aktívszén vázának és pórusainak sematikus ábrázolása. A pórusok kiterjedésének és a szénváz vastagságának jellemzésére szolgáló inhomogenitás távolságok bemutatása.

Az aktívszén fraktál tulajdonságokat mutat, amelyek jellemzésére különböző módszerek (például különböző "próbamolekulákkal" végzett adszorpciós kísérletek) mellett a kisszögű szórás is lehetőséget ad [48–50]. Mind a tömeg, mind a felületi fraktál dimenzió közvetlenül meghatározható a kisszögű röntgenszórás alapján a következő összefüggésekkel: $D_m=|S_1|$  és  $D_s=6$ - $|S_2|$  ( $D_m$  ill.  $D_s$  a tömeg és a felületi fraktál dimenziókat,  $S_1$  ill.  $S_2$  a szórási görbék log(I) – log q formátumban történő ábrázolásánál, az átmeneti és a Porod-tartományban meghatározott meredekségei). Az előállított nagyszámú, eredetre nézve különböző aktívszén

típusok alkalmat adtak arra, hogy azok fraktál tulajdonságait összehasonlítsam, továbbá a fraktáltulajdonságok és az előzőekben bemutatott szerkezeti paraméterek közötti kapcsolatokat vizsgáljam. Kisszögű röntgenvizsgálatok alkalmával a méréseket finom, elporított mintákon, azaz apró aktívszén szemcsék sokaságán szükséges végezni. A mintában esetlegesen jelenlévő anizotrop tulajdonságok kiátlagolódnak és körszimmetrikus szórási képet nyerünk. Az egyedi aktívszén szemcséket szemügyre véve, láthatóan anizotrop tulajdonságúak. Hazai fafajtákból (fenyő, bükk, tölgy) általam előállított aktívszén darabjain például szabad szemmel is megfigyelhetők az edénynyalábok. Fából előállított aktívszén darabjaiból kivágott és a röntgennyalábban pozícionált szeleteket – kétdimenziós kisszögű detektor segítségével – először 1993-ben tanulmányoztam Grazban (Biofizikai és Nanoszerkezetkutató Intézet). Elszenesített fáról, annak anizotrop szórási tulajdonságairól legkorábban H. Lichtenegger és munkatársai, valamint H. Jakob és munkatársai számoltak be [51–53]. Magának a fa szerkezetének részletes tárgyalása például M.P. Sarén és R. Serimaa valamint munkatársainak cikkében található, amelynek ismerete hozzájárul az aktívszén formák szórási adatainak értelmezéséhez [54]. A szisztematikus vizsgálatsorozatot végeztünk, a növekvő konverzió következtében az eredeti nyersanyag textúrájából eredő anizotrópia elvesztését tanulmányoztuk. Az eredményeket a 5.1.1 fejezetben mutatom be.

### 3.2.2 Raney-típusú nikkel katalizátor

A Raney-típusú nikkel katalizátor széles körben használt hidrogénező és dehidrogénező folyamatokban [55,56]. Alkalmazásának hátránya pirofóros tulajdonságából következik. A veszélyforrás csökkentése céljából előállítására új eljárásokat dolgoztak ki. A pirofóros tulajdonság csökkentésének módja, hogy a felületén adszorbeálódó hidrogén nagy részét el kell távolítani. A korábbi, pirofórosság csökkentését célzó megoldások fizikai elveken (sima katalizátor felszín, magas üzemi hőmérséklet), és módosított kémiai módszereken (a hordozóban az alumínium cseréje cinkkel vagy szilíciummal) alapultak. Petró József (BME, Szerves Kémiai Intézet) új fajta Raney-típusú nikkel katalizátor szemcséinek felszíne tagolt (12. ábra), fajlagos felülete 14 – 17 m²/g között változik. Összehasonlításul, a referencia Raney-típusú nikkel katalizátor (Degussa BK 113 W) fajlagos felülete egy nagyságrenddel kisebb: 1.1 m²/g. Az előállított katalizátor gázadszorpciós módszerrel meghatározott átlagos pórussugara 3.04 – 3.2 nm, pórustérfogata ~0.03 cm³/g. A kémiai összetétel alapján nikkel tartalma 25 – 30 % között van.



12. ábra Az új típusú, nem pirofóros Raney nikkel katalizátor szemcséjének pásztázó elektronmikroszkópban (SEM) rögzített fényképe

Pordiffrakciós módszerrel megállapították, hogy a nikkel részecskék mellett a hordozó böhmitből és gibbsitből áll [57,58]. A pórusokat is figyelembe véve a rendszert 4 komponens alkotja. A nagyszögű röntgendiffrakciós görbe alapján a gibbsit és a böhmit (bayerit) diffrakciós csúcsaitól egyértelműen elválasztható két kiszélesedett reflexió (44.5°-nál és 51.5°-nál). amelyből az első a fémes nikkel (111) reflexiójaként azonosítható. A reflexió szélességéből – a Scherrer összefüggés alapján – az átlagos krisztallitméretre 5,4 nm-t határoztak meg. Az elektronmikroszkópos felvétel alapján a kompakt (a felvételen nagy kontrasztot mutató) részecskék (feltehetően a nikkel részecskék) átlagos méretére 4,0 nm-t adtak meg. A szórási görbén a szórási szög 35°-tól 55°-ig terjedő tartományában széles háttér "csúcs" jelent meg, ami a sokkomponensű rendszer több alkotójának szórási járuléka. Utóbbi szétválasztása és interpretálása nem volt lehetséges. A megoldást, azaz a Raney nikkel részecskék és a rendszer szórásának elválasztását valamint a nikkel részecskék pontosabb szerkezeti leírását az anomális kisszögű szórási módszer alkalmazása tette lehetővé.

Az anomális szórás az atomi szórási tényező energiafüggésére vezethető vissza. Pontosabban kifejtve, az atomi szórási tényező egy komplex mennyiség, amely a szórási változó és az energia függvénye:

(24)

 $f(q, E) = f_0(q) + f'(q, E) + if''(q, E)$ 

ahol f(q, E) egy tetszőleges atom szórási tényezőjét jelenti [59]. Kisszögű szórás esetén az f' és f'' korrekciók q függése elhanyagolható. A komplex atomi szórási tényező f' valós és f''képzetes részei ugrásszerűen változnak, ha a szórási kísérletnél felhasznált röntgensugár energiája éppen valamelyik (például a K héjon lévő) elektron kötési energiájának közelébe esik. Ekkor az adott héjon lévő elektron gerjesztődik (kilökődik az atomból). Az effektus következtében az atom (ion) rendszámának (kémiai állapotának) megfelelő elektronszámnál effektíve "*mintha kevesebb*" elektronnal rendelkezne, kisebb intenzitással – azaz anomális módon – szórja a röntgensugarat. Az alap és az anomális esetek eltérése kontrasztkülönbséget okoz (elektronsűrűség különbséget,  $(\Delta \rho)$  -t), és ez, mint kontrasztvariációs módszer

használható ki. A módszer elméleti alapjait és gyakorlati alkalmazásának lehetőségeit Waseda ismertette összefoglaló munkájában [60].

Az anomális effektus hatékonyan szinkrotron állomásokon használható ki, mert a szinkrotron fehér sugárzásából (széles energiatartományából) monokromatikus nyalábrész választható ki ( $\Delta\lambda/\lambda \leq 10^{-5}$ ) és azzal végezhető el a szórásos vizsgálat. Minél távolabb van a nyaláb energiája egy adott él energiájától, annál inkább csökken az anomális effektus az adott elemre vonatkozóan (feltéve, hogy nem ér el egy újabb abszorpciós élet). Az él energiáján történő mérés általában nem javasolt (kivéve, ha a rezonáns atomok/ionok koncentrációja nagyon alacsony, < 0.1–1%), mert rezonáns röntgen Raman effektus lép fel, ami jelentékeny háttérsugárzást okoz. A módszer alkalmazásakor legalább két különböző energiájú röntgennyalábbal kell szórási kísérletet végezni. Egy olyannal, amelyik nem vált ki (vagy kis mértékben vált ki effektust) és egy olyannal, amelyik jelentékeny anomális effektust vált ki. Az okozott kontraszthatás következtében a kapott két szórási görbe intenzitása eltér egymástól. A különbség görbe leginkább azon atomfajta elhelyezkedésére lesz jellemző, amelyben az anomális effektus kiváltódott. Ennek szemléltetését a 13. ábra szolgálja.



13. ábra Az anomális effektussal elérhető szerkezeti információ szemléltetése. A nikkel nanorészecskék zöld körökkel vannak jelölve. Szerkezeti információ a nikkel atom abszorpciós élénél ( $E_K$ ) kisebb energián mérve (baloldali kép), az abszorpciós él közeli energián mérve (a nikkel részecskék kontrasztja csökken: középső kép), a két energián mért görbék különbsége, az ún. szeparált szórásgörbéknek ( $I(E < E_K)$ - $I(E ~ E_K)$ ) megfelelő szerkezeti információ (a nikkel részecskék jelennek meg, a mátrix eltűnik: jobboldali kép)

Az atom karakterisztikus gerjesztési energiája a rendszámtól függ, így a röntgennyaláb energiájának megválasztásával tetszőleges atomban lehetséges kiváltani az anomális effektust. Az anomális effektust mind a nagyszögű, mind a kisszögű röntgenszórási technikáknál alkalmazzák. Ha az anomális effektust a kisszögű röntgentartományban használják, akkor a módszert anomális kisszögű szórásnak (anomalous small angle X-ray scattering, ASAXS) hívják. Az anomális kisszögű szórás elvi alapjait többféle megközelítésben tárgyalják, amelyek közül Stuhrmann által használt formalizmust mutatom be [61,62] . A rendszer szórási amplitúdóját célszerű két tagra bontani: az anomális jelenséget okozó atomokat nem

tartalmazó rész amplitúdójára ( $A_1(\vec{q})$ ), és az anomális effektust okozó atomok amplitúdójára ( $A_2(\vec{q}, E)$ ). Az utóbbi, a (24)-es összefüggés analógiájára:

$$A_{2}(\vec{q}, E) = A_{20}(\vec{q}) + f'(E)B(\vec{q}) + if''(E)B(\vec{q})$$
(25)

Az energiától nem függő amplitúdó tagok összege (a nem rezonáns és a rezonáns részek nem energia-függő részeit tartalmazza):  $A(\vec{q}) = A_{20}(\vec{q}) + A_1(\vec{q})$ , így az amplitúdók teljes összegét az  $A_{\bar{o}sszeg}(\vec{q}) = A(\vec{q}) + f' \cdot B(\vec{q}) + if'' \cdot B(\vec{q})$  alak fejezi ki, amelynek a felhasználásával az intenzitás kifejezésére a következő alakot kapjuk:

$$I(q, E) = A^{2}(q) + 2f'(E)A(q)B(q) + (f'^{2}(E) + f''^{2}(E))B^{2}(q)$$
(26)

Két energiához tartozó kifejezés különbsége az  $A^2(q)$ -et (a rezonáns atomot nem tartalmazó részek "tiszta" szórását) nem tartalmazza:

$$\Delta I(q, E_1, E_1) = 2(f'(E_1) - f'(E_2))A(q)B(q) + (f'^2(E_1) - f'^2(E_2)) + f''^2(E_1) - f''^2(E_2))B^2(q)$$
(27)

azaz, két energiánál mért intenzitásgörbék különbsége (az ún. szeparált anomális kisszögű görbe) kéttagú kifejezéssel adható meg, amelyiknek első tagja az A(q)B(q) vegyes szorzatot, második tagja  $B^2(q)$  (az ún. tiszta rezonáns szórási intenzitási görbét), a rezonáns atomok által betöltött térrész szórását jelenti. Három, különböző energiához tartozó szórási görbét mérve,  $B^2(q)$  meghatározható:

$$B^{2}(q) = \frac{1}{C(E_{1}, E_{2}, E_{3})} \left[ \frac{\Delta I(q, E_{1}, E_{2})}{f'(E_{1}) - f'(E_{2})} - \frac{\Delta I(q, E_{1}, E_{3})}{f'(E_{1}) - f'(E_{3})} \right],$$
ahol C:
$$(28)$$

$$C(E_1, E_2, E_3) = f'(E_2) - f'(E_3) + \frac{f''^2(E_1) - f''^2(E_2)}{f'(E_1) - f'(E_2)} - \frac{f''^2(E_1) - f''^2(E_3)}{f'(E_1) - f'(E_3)}$$

Egyes munkacsoportok a szükséges minimális három energia helyett több energiát választanak, és számítógépes rutineljárással, minimumfeltételek alapján határozzák meg a rezonáns szórási intenzitást [63–65]. (Minden "*hármas*" kombinációnak, a (28), (29) összefüggéseknek megfelelően, valós és pozitív  $B^2(q)$ , rezonáns tagot kell adnia. Az energiák számának növelésével a szomszédos energiákon okozott kontraszt csökken. Az energia-feloldás relatív hibája nő). A szórási görbék – különösen azok eltéréseinek – szigorú kontrollja a biztosíték arra, hogy tényleges, kísérletileg tapasztalt anomális effektus lép fel, ami kizárólagos alapja  $B^2(q)$  meghatározásának.

A mérést csak hangolható energiájú röntgennyalábnál, azaz szinkrotron állomásnál lehet elvégezni. A nikkel részecskéknek a módszer által történő vizsgálatára a hamburgi szinkrotron állomáshoz benyújtott és elnyert mérési pályázataim adtak lehetőséget. A munkát – a nikkel mellett más elemekre vonatkozóan is – DORIS III tárológyűrűjénél (HASYLAB laboratórium) telepített JUSIFA, a világ egyetlen, az anomális kisszögű szórás vizsgálatára épített (dedikált) berendezésén végeztük 1999-től [66]. Az első mérési sorozatnál a szeparált anomális kisszögű szórási eredmények alapján jellemeztem a Raney-nikkel részecskék méretét és alakját. Később újabb mérési eredmények birtokában, a tiszta rezonáns görbék alapján pontosítottuk a Raney nikkel katalizátor nikkel részecskéire vonatkozó leírást, amelyet a 5.1.2. pontban ismertetek.

### 3.2.3 Nemionos tenzid Synperonic A7-víz rendszer

A nemionos tenzidek a vízoldékonyság eléréséhez poláris csoportot tartalmaznak [67]. Vizes oldatban az ionos tenzidekhez hasonlóan viselkednek, de az általuk képzett micellák alakja nem szabályos. Nemionos rendszerek fázisdiagramjainak megszerkesztésére többféle módszer használatos: polarizációs mikroszkópia, fény-, kis- és nagyszögű röntgen- és neutronszórás, differenciál pásztázó kalorimetria, valamint különféle reológiai mérések. Bohlin és munkatársai a szénlánc-rétegekkel elválasztott flexibilis vizes tenzidrétegeket mint lamellás rendszert tekintették [68]. Kimutatták, hogy a viszkozitás egyaránt függ a vizes rétegek vastagságától, az ezekben ható kölcsönhatásoktól, valamint a szénlánc-régió mozgékonyságától. Oswald és munkatársai rétegszerkezetek folyásgörbéit különböző hőmérsékleteken tanulmányozva felismerték, hogy a lamellák hullámzása, illetve - különösen magasabb hőmérsékleteken – a lamelláris szerkezet hibahely-koncentrációja befolyással van a viszkozitás értékére [69]. Más szerzők a lamelláris rétegszerkezetek viszkozitásának a nyírási sebességtől való függését a lamelláknak a nyírás irányába történő részleges beállásával magyarázták [70–72]. Mang és munkatársai kisszögű röntgenszórással vizsgálták a lamelláris szerkezet változását nyírás közben és a rétegeknek a nyírás irányába történő beállását figyelték meg [73]. Penfold és munkatársai C<sub>16</sub>E<sub>6</sub>-víz rendszer szerkezetváltozását követték kisszögű neutronszórással "Couette"-cellában történő nyírás közben [74]. Megfigyeléseik szerint a rétegek kis deformáció-sebességeknél a nyírás irányára merőlegesen, nagy deformáció-sebességeknél a nyírás irányával párhuzamosan helyezkednek el. Köztes deformáció-sebességeknél a lamellák a két szélső orientáció közötti beállást mutatják.

A *Synperonic A7* nevű nemionos tenzid nem egységes anyag, a *Synprol* fantázianevű, 13, illetve 15 szénatomos, elágazás nélküli alkilláncot tartalmazó zsíralkohol etilén-oxiddal végzett etoxilálásával készül. A *Synprolban* 66% a 13, illetve 34% a 15 szénatomos zsíralkohol-molekulák aránya. Az etoxilálás során a zsíralkohol-molekulákhoz átlagosan 7,4 etilén-oxid kapcsolódik, míg a *Synprol* 4,5% -a etoxilálatlan marad, viszont a kiindulási anyag

29

16,5%-ban több, mint 15 etilén-oxid egység van. A végtermék *Synperonic A7* szobahőmérsékleten viszkózus, alig folyó, jellegzetes mosószerillatú, opálos folyadék. A Synperonic A7 jellemző komponensének szerkezeti képletét a 14. ábra mutatja. A hidrofób szénhidrogénlánc mellett az etoxilált molekularész oxigénatomjain a hidrofil jelleget okozó nemkötő elektronpárok is fel vannak tüntetve.



### 14. ábra A Synperonic A7 szerkezeti képlete

A Synperonic A7 – más nemionos tenzid molekulákhoz hasonlóan – a koncentráció és a hőmérséklet függvényében többféle liotróp fázist képez. A lamellás mezofázisban az amfipatikus molekulákból (a hidrofób régiók egymással szembe fordulva) kettősrétegek alakulnak ki, amelyek két külső oldalán lévő hidrofil fejcsoportok vizet kötnek meg. Ezáltal a váltakozó tenzid- és vízrétegek sokasága sokrétegű (multirétegű). A szerkezet morfológiája jellegzetes, a több nanométer vastagságú rétegek kötegekbe állnak össze. A képződött rétegrács, ha röntgennyalábbal megvilágítják, a kisszögű szórási tartományban a diffrakciós jelenségek miatt jellemző Bragg csúcsot eredményez. A rétegek sokasága, az egydimenziós rétegrács közvetlenül a fagyasztvatöréses technika felhasználásával figyelhető meg (15. ábra).



15. ábra A Synperonic A7-víz rendszer rétegszerkezete fagyasztvatöréses módszerrel feltárva, transzmissziós elektronmikroszkópban fényképezve. A baloldali kép a keverés utáni állapotot, a jobboldali kép a napokig "pihentetett" állapotra jellemző, szabályos nagykiterjedésű rétegkötegeket mutatja.

A Synperonic A7-víz rendszer fázisdiagramját Tadros és munkatársai szerkesztették meg (16. ábra) [75]. A *Synperonic A7–víz* rendszer reológiai tulajdonságait vizsgálva Németh és munkatársai arra a következtetésre jutottak, hogy a frekvencia-függő viszkoelasztikus sajátságok a rendszer lamellás szerkezetére vezethető vissza [76,77].



16. ábra A Synperonic A7 – víz rendszer fázisdiagramja (Tadros és munkatársai alapján)

A *Synperonic A7–víz* rendszer alapanyagként használatos mind a háztartásvegyiparban, mind a kozmetikai iparban. A BME Fizikai Kémia Tanszékén, a Kolloidkémiai csoportban, Rácz Gy., Halász I., Pálinkás J. (CAOLA Háztartásvegyipari és Kozmetikai Gyár) vezetésével, Németh Zs., Horányi T. részvételével a Synperonic A7 – víz rendszer viszkoelasztikus tulajdonságait tanulmányozták [76,77]. A kutatási munkához 1997-ben csatlakoztam kisszögű röntgenmérésekkel. A Synperonic A7–víz rendszer minden liotróp fázisában a kisszögű módszer által jól tanulmányozható szerkezeteket formál (17. ábra). A vizsgálatok fő célja a rendszer réteges (lamellás) szerkezetének és annak változásának pontos jellemzése volt. Például, a Synperonic A7 koncentrációjának 60 % -ról 80 % -ra való növelése a rendszer periódustávolságának markáns változásával, 5,22 nm-ről 4,35 nm-re történő csökkenésével járt. A kíméletesen kezelt (pontos termikus előélet után, nyírásmentes állapotú) minta éles Bragg reflexiót mutatott (általában csak az első rend volt megfigyelhető), amely a hőmérséklet növekedésének hatására kiszélesedett.



17. ábra A Synperonic A7–víz rendszer (80 tömegszázalék) jellegzetes kisszögű szórási/diffrakciós görbéje (szinkrotron mérés: DESY). A markáns 1. rendű Bragg csúcs pozíciója közvetlen adatot szolgáltat a szabályosan pakolódott, tenzid-víz rétegek periódusáról.

Rétegek szórása sok esetben egyetlen (vagy kisszámú: maximum két) Bragg csúcsot eredményez. Sík rétegek (lamellák szabályos és szabálytalan (nem korrelált) halmazának szórását a parakristályos elmélet írja le [11]. Az elmélet szerint az intenzitást egyetlen réteg (szóróegység) formafaktorának négyzete  $|F(q)|^2$  és az egydimenziós rétegrács szerkezeti faktorának S(q) szorzata adja (F(q) az elektronsűrűség Fourier transzformáltja,  $1/q^2$  a "Lorentz-korrekció") [74]:

$$I(q) = S(q) |F(q)|^2 / q^2$$
(29)

Második típusú rendezetlenséget feltételezve (azaz, rétegződési hiba van: az egységek egyformák, azok helye változik, ellentétben az első típusúval, ahol az egységek a rács körül fluktuálnak) a szerkezeti faktor összefüggése:

$$S(q) = N + 2\sum_{k=1}^{k=N-1} (N-k)\cos(kqd)\exp(-k^2q^2\Delta^2/2)$$
(30)

ahol N a rétegek száma, d a periodus, k egész szám,  $\Delta$  a rétegek átlagos fluktuációja. A rétegszerkezet pakolódását leíró szerkezeti faktor alakja döntő módon meghatározza a szórási görbe alakját, ahogy azt a 18. ábra mutatja.

A fagyasztvatöréses technika alkalmazása további lehetőségeket adott a Synperonic A7– víz rendszer vizsgálatához. Képi információk álltak rendelkezésre, és azokat össze lehetett vetni a kisszögű szórási görbékkel. Éles Bragg reflexiót mutató, szobahőmérsékletű rendszerek fagyasztvatöréssel történő morfológiai képei nagyméretű, összefüggő, a síkok sokaságából álló rétegrendszereket mutattak, ahogy az a 15. ábrán látható. Penfold és munkatársainak, a nyírás hatására történő szerkezetváltozásokkal kapcsolatos munkái egy nyírócella konstruálására és "in situ" méréseket kivitelezésére inspiráltak, [74]. A nyírócella tervezésénél először az irodalomban gyakran szereplő "Couette" cellatípusra gondoltam.

Végül a BME Fizikai Kémia Tanszéken nyert oszcillo-viszkoziméter eredmények alapján olyan nyírócella kivitelezését határoztam el, amellyel periodikus (az oszcillo-viszkoziméter viszonyait közelítő) nyírás érhető el. A nyírócella megépítése Fetter György Ph.D. hallgató munkájával valósult meg. A kisszögű szórási görbék információtartalmának kiegészítéséhez, a nyírócellának olyan változatát is elkészítettük, amivel adott nyírási igénybevétel után fagyasztvatörést, azaz a deformált minta morfológiájának befagyasztását és megfigyelését tudtuk elérni. A nyírócella két változatának ismertetését a módszerek részben, a 4.6.1. pontban, míg az alkalmazásával elért tudományos eredményeket a 5.2.1. pontban ismertetem.



18. ábra A kettősréteg szerkezetét jellemző formafaktor és a rétegek pakolódását jellemző szerkezeti faktor hatása a kisszögű szórási/diffrakciós görbe alakjára

### 3.2.4 Vezikulák

#### 3.2.4.1 Lipidek önszerveződése és a kialakult szerkezetek jellemzői

A biológiai membránok (sejtmembránok) összetett működésmechanizmusainak pontos megértése központi szerepet játszik a molekuláris biológiában [78]. A sejtmembránok összetett rendszerek, amelyeknek tulajdonságai nagyszámú paramétertől függnek. Ezzel magyarázható, hogy a biológiai rendszerekhez képest lényegesen kevesebb komponenst tartalmazó modellrendszerek terjedtek el széleskörűen az alapkutatásban [79,80]. A modellrendszerek kettős lipidrétegből állnak, így a valós sejtmembránok szerkezeti sajátságában meghatározó szerepet betöltő lipid kettősrétegekhez hasonlítanak. A modell sejtmembránokat mesterségesen hozzák létre. Ez relatíve egyszerű művelet, mert az alkalmasan választott lipid vízzel elegyítve, spontán módon hoz létre kettősréteg szerkezetet. A legismertebb és a legszélesebb körben elterjedt modellmembrán rendszerek a vezikulák,

vagy más szóhasználattal a liposzómák [81–83]. Ezek olyan gömbszerű alakzatok, amelyek a víz és a foszfolipid kettősrétegek váltakozó héjrendszeréből állnak (19. ábra). A foszfolipid típusától és a foszfolipid/víz aránytól függően a gömbszimmetrikus alakzatoknak egyrétegű (unilamellás, ULV) és sokrétegű (multilamellás, MLV) formája keletkezik [84,85].



19. ábra A vezikula (más néven: liposzóma) felépítése (fagyasztvatöréssel előkészített transzmissziós elektronmikroszkóp felvétel), valamint az idealizált szabályos gömbhéj ("hagyma") modell

A lipidek eltérő kémiai karakteréből adódik az ún. szerkezeti polimorfizmusuk, azaz a spontán kialakuló struktúrájuk, valamint fázisátmeneti sajátságaik [86-88]. Ezeket a sajátságokat a hőmérséklet, a lipid koncentrációja és egyéb idegen molekulák jelenléte befolyásolja. A telített zsírsavlánccal rendelkező lipidek, melyek poláris fejcsoportjának keresztmetszeti területe megegyezik két zsírsavláncának keresztmetszeti területével (röviden méretével) hengeres alakúak. Ilyen molekulák például a glicero-foszfatidilglicerolok (PG) és az emlősök plazmamembrán lipidjei, a foszfokolinok (PC) és a szfingolipidek (SM). Ezek az ún. "kettősréteg lipidek", azaz alakjukból következően vizes közegben kettős rétegű, lamelláris szerkezetet formálnak. Ezzel ellentétben azok a molekulák, mint például, a glicerofoszfatidsavak (PA) és a glicerolok (DPG), valamint a hőmérséklet és összetétel függvényében a foszfatidiletanolaminok (PE), amelyeknek a fejcsoport átmérője kisebb, mint a zsírsavlánc régióé geometriailag egy csonka kúphoz hasonlítanak. Ennek következtében ún. inverz struktúrát építenek fel, melyek lehetnek inverz hexagonális (H<sub>II</sub>) vagy köbös (Q) lipid szerkezetek [89-93]. Ebből a "szerkezetformáló" tulajdonságból adódóan "nem kettősréteg" lipideknek is nevezik őket. Fordított esetben, amikor a lipidek fejcsoport átmérője nagyobb, mint a szénlánc régióé, hexagonális (H<sub>I</sub>) struktúra kialakulása várható. A lamellás (L), hexagonális (H<sub>I</sub>, H<sub>II</sub>) és köbös szerkezeteket liotróp folyadékkristályokként említik a szakirodalomban.



dc 511\_12

20. ábra A lipid/víz rendszert alkotó lipidmolekulák lehetséges geometriai alakja és a vízzel történő elegyítés után a spontán kialakuló "kettősréteg" és "nem kettősréteg" szerkezeti típusok (a köbös térformák különböző tércsoportba tartoznak)

A kisszögű szórásgörbén megfigyelhető Bragg csúcsok pozícióinak aránya a 20. ábra által bemutatott szerkezetek valamelyikére jellemző. Az alábbiakban a különböző nanoszerkezetekre jellemező karakterisztikus távolságok arányait sorolom fel (a csúcsok pozícióinak értékeiből számolva,  $d=1/s=2\pi/q$ -nak megfelelően):

- Réteges (Lamelláris, L = ,,lamellar"): 1, 1/2, 1/3, 1/4 ...
- Hexagonális (H<sub>I</sub>): 1,  $1/\sqrt{3}$ ,  $1/\sqrt{4}$ ,  $1/\sqrt{7}$  ....
- Inverz hexagonális (H<sub>II</sub>): 1,  $1/\sqrt{3}$ ,  $1/\sqrt{4}$ ,  $1/\sqrt{7}$ ,  $1/\sqrt{9}$  ....
- Köbös (Q), a különböző tércsoportoknak megfelelően:
  - o  $Q^{224}$ : 1,  $1/\sqrt{2}$ ,  $1/\sqrt{3}$ ,  $1/\sqrt{4}$ ,  $1/\sqrt{6}$ ,  $1/\sqrt{8}$ ,  $1/\sqrt{9}$ ,  $1/\sqrt{10}$ ...
  - o  $Q^{229}$ : 1, 1/ $\sqrt{2}$ , 1/ $\sqrt{4}$ , 1/ $\sqrt{6}$ , 1/ $\sqrt{8}$ , 1/ $\sqrt{10}$ , 1/ $\sqrt{12}$ ...
  - o  $Q^{230}$ : 1, 1/ $\sqrt{6}$ , 1/ $\sqrt{8}$ , 1/ $\sqrt{14}$ , 1/ $\sqrt{16}$ , 1/ $\sqrt{20}$ , 1/ $\sqrt{22}$  ...

A köbös tércsoportok reflexiói az  $s_{hkl} = (\sqrt{h^2 + k^2 + l^2})/a_Q$  összefüggésnek megfelelően különböznek, ahol  $s_{hkl}$  a szórási változó,  $a_Q$  a köbös szerkezet rácsállandója, (külön megkülönböztetve *d*-től), *h*, *k*, *l* az egyes síkokhoz tartozó Miller indexek. A köbös szerkezet esetében az első Bragg reflexió a kioltás jelensége miatt nem jelenik meg [15]. A lipid/víz rendszerekben az a<sub>Q</sub> rácsállandó értéke 7-15 nm közötti tartományba esik.

A disszertációban szereplő lipidek azonos hosszúságú telített szénhidrogénlánccal rendelkeznek, tehát a geometriai alakjukban lévő különbségek a fejcsoportjaik eltérő kémiai

tulajdonságaiból adódnak. A kettősréteg és nem-kettősréteg struktúrák kialakulása a fejcsoport relatív méretére vezethető vissza. A leggyakrabban használt foszfolipidek összetételét az alábbi 21. ábra mutatja.



21. ábra A vizsgált foszfolipid molekulák szerkezeti felépítése (DPG: 1,2-dipalmitoil-snglicerol. DPPA: negatív töltésű fejcsoportot tartalmazó 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3foszfatidsav. DPPE: ikerionos fejcsoportot tartalmazó 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3foszfatidiletanolamin. DPPC: ikerionos fejcsoportot tartalmazó 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3foszfatidilkolin. DPPG: negatív töltésű fejcsoportot tartalmazó 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3foszfatidilkolin. DPPG: negatív töltésű fejcsoportot tartalmazó 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3foszfatidilglicerol)

A DPPC (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-foszfatidilkolin) – molekuláris geometriája alapján – egy kettősréteg lipid, mivel a fejcsoportjának keresztmetszeti területe teljesen hidratált állapotban megközelítőleg 0,60 nm<sup>2</sup>, a szénlánc régiójának keresztmetszeti területe fázisátmeneti hőmérséklet alatt (T<Tm) 0,41 nm<sup>2</sup>, mely a fázisátmeneti hőmérséklet fölött (T>Tm) 0,50 nm<sup>2</sup>-re terjed ki (22. ábra). Ezzel szemben az azonos szénhidrogénláncokkal rendelkező DPPE, melynek fejcsoport-mérete teljesen hidratált állapotában ~0,38 nm<sup>2</sup>, fázisátmeneti hőmérséklet felett kúpos alakot vesz fel, így inverz struktúra kialakítására képes [94].

A munkámban vizsgált lipidek fejcsoportjának mérete a következők szerint változik: DPG<DPPA<DPPE<DPPC<DPPG. A molekulák egymáshoz viszonyított térbeli alakját, valamint a fejcsoportok töltésviszonyait fiziológiás pH értéken (pH=7.4) a 22. ábra szemlélteti.

A modellmembrán lipid/víz rendszer – mint liotróp folyadékkristály rendszer – a hőmérséklet, valamint az összetétel függvényében jellegzetes szerkezeti tulajdonságokat mutat [95]. A fázisátmenetek során a membránban mind a molekulák közötti, mind a molekulákon belüli szerkezet (idegen szóhasználattal: az inter-, és az intramolekuláris rend) is felbomlik, azaz a réteges struktúra változása együtt jár a réteget alkotó foszfolipid molekulák szénláncainak régiójában kiépülő *"kristályos rend"* változásaival.

36


22. ábra A vizsgált lipidek molekuláris geometriai alakja a láncolvadási hőmérséklet alatt (T < Tm) illetve fölött (T > Tm), valamint a fejcsoportok töltésállapota pH=7.4 értéken

Hőmérsékletemelkedés esetén a folyamatot láncolvadásnak nevezik, amelynek során a merevebb "gél" állapot a kétdimenziós folyadékállapotba (folyadékkristályos állapotba) alakul. Tehát szigorúan folyadékkristályos állapotról csak a láncolvadás feletti hőmérséklettartományban beszélhetünk [96]. A lipid molekulák közötti kölcsönhatások a hőmérséklet függvényében folytonosan, és az egyes fázisátalakulások során ugrásszerűen és eltérő mértékben változnak. Ezek a változások a rendszerhez adott további molekulák oldhatóságát (pontosabban beágyazódását), permeabilitását nagymértékben befolyásolják [97]. A DPPC – víz esetében a növekvő hőmérséklettel négyféle réteges (*L*) szerkezet és ezeknek megfelelő négyféle fázisállapot figyelhető meg, amelyek megnevezései rendre: kristályos fázis (*L*<sub>c</sub>), gél fázis (*L*<sub>β</sub>·), hullámos gél fázis (*P*<sub>β</sub>·), folyadékkristályos fázis (*L*<sub>α</sub>).

A lipidek pálcika alakú szénláncai mind a négy fentebb említett fázisban közel párhuzamosan állnak és a kettősréteg belső szerkezetét (egymásra rakott fahasábok mintájára) – az ún. láncpakolódás alrácsát – alkotják. A láncpakolódás geometriáját a 23. ábra illusztrálja.

A *kristályos* (L<sub>c</sub>) *fázis*ban szabályos kettősrétegek alakulnak ki (a karakterisztikus periódus d=6,32 nm). A gömbhéjakon belül rögzített lipid molekulák kétdimenziós hibrid alrácsot alkotnak; a molekulák hossztengelye a rétegnormális irányába mutat. A szénláncok alrácsában lévő szénatomok és hidrogén atomok szabályos térrácsban helyezkednek el, a szénlánc-régió kristályszerű felépítést mutat, erre utal a "c" index a fázis jelölésében.



23. ábra A lipidek első közelítésben rúd alakú láncai (baloldali kép). A lipidek alrácsa (jobb oldal, d<sub>alrács</sub> a jelzett távolság=a nagyszögű diffrakcióval meghatározható periódustávolság). A lipidek direktorára merőleges síkban a fekete kör egy szénláncot, az összekötő vonal az egy lipidhez tartozó glicerin "hidat" szimbolizálja.

A *gél* (L<sub> $\beta$ </sub>) *fázis*nál a réteges szerkezet szabályos (*d*=6,35 nm). A lipidek egésze merev, de a kristályos állapothoz képest mozgékonyabb (erre utal a gél állapot megnevezés, amit " $\beta$ "val szokás jelölni). A foszfolipid molekulák hossztengelye és a rétegnormális hegyes szöget (~30°) zár be (a dőlt állást a  $\beta$  kitevőjében írt vessző " ' " jelöli). A lipid molekulák kétdimenziós deformált ortorombos hibrid alrácsot alkotnak (a rácssík-távolság 0,418 és 0,408 nm).

A *hullámos gél* (P<sub> $\beta$ </sub>) *fáz*is periodikusan gyűrt, hullámos felszínű rétegeiről kapta a nevét (d=7,05 nm, a felszín gyűrődésének amplitúdója ~2–3 nm, periódusa 12–14 nm). A magasabb hőmérsékletnek megfelelően a növekvő termikus mozgások a szénláncok térbeli szerkezetére jellemző rendezettséget csökkentik, egy diffúz hexagonális alrács alakul ki (az alrács karakterisztikus rácstávolsága 0,414 nm). A gyűrődések miatt a lipidek tengelyének a rétegnormálissal bezárt szöge nagyobb ingadozást mutat, mint a *gél* (L<sub> $\beta$ </sub>) *fázisban*.

A *folyadékkristályos fázis* (L<sub> $\alpha$ </sub>) a relatíve legmagasabb fázisátmeneti hőmérséklet felett alakul ki. A rétegszerkezet megmarad (d=6,7 nm), de a rétegeken belüli alrács teljesen felbomlik (az  $\alpha$  index utal erre.). A lipid molekulák laterális diffúziójának sebessége megnő, a rétegen belül a lipidek sokasága kétdimenziós folyadékká válik. Ebből adódik a folyadékkristályos fázis elnevezés is. A fázisátalakulásokat külön névvel illetik, amelyek a növekvő fázisátalakulási hőmérséklet sorrendjében a következők: az *alsó átmenet* (a kristályos és a gél között), az *előátmenet* (a gél és a hullámos gél között) valamint a *fő átmenet* (a "láncolvadás", a hullámos gél és a folyadékkristályos állapotok között). A DPPCvíz rendszer fázisainak jellemzőit a 24. ábra foglalja össze [98,99].



dc 511 12

24. ábra A DPPC/víz rendszer hőmérséklet függvényében kialakuló réteges fázisainak összefoglalása, valamint az egyes fázisokhoz tartozó alrácsok sematikus bemutatása (a körök kiterjedése a láncok növekvő hőmozgásának következményét jelzi)

A szabályos (gömbszerű) multilamellás liposzómák kisszögű röntgenvizsgálata során a szórási görbén több (3-6) rendben diffrakciót bizonyító Bragg reflexiók megjelenését tapasztaljuk. A gömbszimmetrikus forma figyelembevétele a gömb szórási amplitúdójára adott – a gömbhéj esetében is alkalmas – (9)-es kifejezés használatára jogosít fel, azzal a különbséggel, hogy a gömb sugarát, a héjak (víz-, fej-, szénláncrégiói) elhelyezkedésének, a szórási kontrasztot ( $\Delta(\rho)$  -t) pedig a héj-régiók elektronsűrűségének megfelelően kell figyelembe venni.

A lipid kettősréteg és a közbezárt vízréteg elektronsűrűségeinek (az utóbbi:  $1(g/cm^3) \cdot 1/18(mol/g) \cdot 6 \times 10^{23} (molekula/mol) \cdot 10(elektron/mol) = 333 (elektron/nm^3))$  adatait (az összetétel valamint irodalmi adatok alapján) felhasználva a tetszőleges darabszámú kettősréteget tartalmazó liposzóma kisszögű diffrakciós görbéje kiszámítható. A gömbszimmetrikus modell alkalmazásának realitását a 19. ábra segítségével bemutatott, fagyasztvatöréses módszer alapján készített felvétel igazolja. A liposzóma jellemző lépcsős elektronsűrűség profilját a 25. ábra mutatja be.

A foszfolipid alapú vezikulák esetében a kettősrétegen belül három markánsan különböző régió van. A lipidek fejcsoportjának a vízhez képest relatíve magas, a szénláncoknak a vízhez képest alacsony az elektronsűrűsége.





#### 25. ábra A liposzóma rétegrendszerének radiális, lépcsős elektronsűrűség profilja

A négy régió (két fejcsoport van a periódusban) annyiszor szerepel, ahány réteg van a vezikulában. Az R sugarú vezikula szórási amplitúdója a (9) összefüggés alapján számítható azzal a különbséggel, hogy az összegzést a vezikula belső vízgömbjének Ro sugara, és a vezikula külső R<sub>max</sub> sugara között kell elvégezni a periodicitás és a régiók különböző elektronsűrűségének figyelembevételével. A (9) összefüggés egyetlen vezikulára vonatkozik. Az így nyert görbe oszcillál, mégpedig az  $R_0$  választástól függően maximum és zérus értékeket mutat. Nagyszámú (N >> 1000 db), különböző  $R_0$  belső sugarú vezikulák elméleti szórásának összege sima görbét eredményez és a d periódustávolságnak megfelelően több rendben adja vissza a Bragg csúcsot. A számítás szigorúan periodikus rendszer szórására vonatkozik, ennek megfelelően a csúcsok félértékszélessége a reális rendszerek csúcsaival összehasonlítva nagyon keskeny. Ennek az a magyarázata, hogy a reális rendszerek rétegeinek pakolódása nem szigorúan periodikus. A rétegek elhelyezkedésének jellemzésére a parakristályos elmélet alapján, a szerkezeti faktor szolgál [100–102]. A rétegrendszert egy szerkezeti faktorral szokás jellemezni. Ezzel ellentétben én két szélsőséges esetet különböztetek meg. Feltételezem, hogy a liposzómák bizonyos rétegszámú és szomszédos héjrétegeinek halmaza ("kötegei", "egydimenziós doménjei") alakulnak ki. Továbbá feltételezem, hogy a doméneken belül szabályos, míg a domének között szabálytalan a pakolódás. A modell alapján különböző liposzóma-rendszerek szórásgörbéit számítottam ki és hasonlítottam össze a mérési görbékkel. A modellelképzelés alapját jelentő doménformálódást a fagyasztvatörés független módszerével is megfigyeltem.

Számos esetben a mérési eredmény kisszögű diffrakciót mutat a szabályos, sokrétegű rendszerre jellemző, több rendben megjelenő Bragg reflexióinak megjelenésével. Ebben az esetben a diffrakciós csúcsok intenzitásarányainak felhasználásával a kettősréteg elektronsűrűség profiljának (közelítő) meghatározására lehetséges [103]. A csúcsarányok és az egységek (a héjak) elektronsűrűség profilja kapcsolatának bemutatására megemlítem Worthington és Blaurock munkáját [104]. Az elektronsűrűséget Fourier-sorral közelítették:

$$\rho(r) = \rho_0 + \sum_n b_n \cos\left(\frac{2n\pi}{d}(r - r_0)\right). \tag{31}$$

Az elektronsűrűség függvény szimmetrikus választásával a szinuszos tagokat el lehet hagyni. Az elektronsűrűségnek a (31)-al megadott formáját a (6)-os egyenletbe helyettesítve négyzetre emelés után az intenzitás kifejezését nyerjük (a kettős szummában a vegyes tagok olyan függvények szorzatai, melyeknek maximumai nem esnek egybe, így elhanyagolhatóak az azonos indexű tagok szorzata mellett; ez "éles", Bragg csúcsok" esetén, azaz nagy rétegszámú liposzómára jó közelítés):

$$I(q) = 16\pi^{2} \sum_{n} b_{n}^{2} \left( \int_{R_{0}}^{R} \cos\left(\frac{2n\pi}{d}(r-r_{0})\right) \frac{r\sin(qr)}{q} dr \right)^{2} = konst \sum_{n} b_{n}^{2} I_{n}(q)$$
(32)

ahol az integrálás határai a vezikula belső (R<sub>0</sub>) és külső (R) sugarára vonatkoznak. Az összefüggés alapján az *n*-edik Bragg reflexió maximum értéke  $b_n^2$ -tel arányos, a  $\rho(r)$ radiális elektronsűrűség Fourier sorában a  $b_n$  együtthatói  $\pm \sqrt{b_n^2}$  lesznek. A fázisprobléma olyan módon jelentkezik, hogy a  $\sqrt{b_n^2}$  előjele "+" vagy "-" lehet. A jó választás az, amely független meggondolások alapján reális elektronsűrűség profilt eredményez.

A liposzómák szabályos gömbszimmetrikus alakja sok esetben sérül (például szennyezők, vendégmolekulák jelenlétének következtében). A vendégmolekulák lipidekhez viszonyított nagyarányú jelenlétében liposzómának nem nevezhető alakzatok jönnek létre, amelyre sok példát mutatok be az eredmények részben. A tanulmányozott rendszerek döntő többségében a liposzómák centroszimmetrikus formája kisebb – nagyobb mértékben korrelált sík rétegek halmazává (kötegeivé) alakul. A rétegkötegek a térben nem orientáltak. Ezekben az esetekben a 3.2.3 pontban ismertetett parakristályos elmélet alapján levezetett összefüggést (29) kell alkalmazni a liposzóma egészére vonatkozó amplitúdó (formafaktor) négyzete (9. összefüggés) helyett. Utóbbi az elektronsűrűség háromdimenziós Fourier transzformáltja (gömbszimmetrikus forma kihasználásával, polárkoordináták alkalmazásával). Sík rétegek esetében, az egyirányú (egydimenziós) elektronsűrűsségének Fourier transzformáltját 1/q-val kell szorozni, igazodva a diffrakciós jelenséget reprezentáló Ewald gömb alakjához [105]. Az 1/q transzformációt egyesek Lorentz korrekciónak nevezik<sup>7</sup>. Ez helytelen kifejezés, mert nem korrekcióról, hanem egy korrekt levezetésről van szó.

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> Korrekciós faktorok, azok a faktorok, amelyek kísérletileg megvalósított körülményeket korrigálnak, az elmélettel leírt formának megfelelően, pl réskorrekció (geometriai), detektálási körülmények ideális esetre való átszámítása.



26. ábra A sokrétegű vezikula és a sokrétegű síkrács összehasonlítása

### 3.2.4.2 Vezikulák, mint modellmembrán rendszerek

A vezikulák, vagy liposzómák egészének és építőelemének, a lipid kettősrétegének viselkedése a felépítő lipidek tulajdonságaitól (az előbbi fejezetben bemutatott módon) függ. A vezikulák tulajdonsága megváltozik, ha egyéb "vendég" (vagy "idegen") molekulát juttatunk a rendszerhez. Sok esetben a kész vezikula preparátumot hozzák össze az idegen molekula oldatával, mert sejtek és az idegen molekula találkozásának körülményeit és következményeit kívánják megismerni [106]. Evvel szemben én minden kísérleti körülményt úgy alakítottam, hogy a komplex rendszer homogén legyen (termodinamikailag egyensúlyhoz közeli és ne metastabilis állapot uralkodjon). Esetenként munkámat avval a kritikával illették, hogy a tanulmányozott vendégmolekula/lipid arány nem reális, biológiai rendszerben nem releváns. Evvel nem értek egyet, mert a lokális koncentrációk több nagyságrendben meghaladhatják az átlagos "bulk" koncentráció és arány értékeket és ennek alapján, a koncentráltabb rendszerek tanulmányozásának elhagyása nem lenne helyes.

A vezikulák és a kiválasztott vendégmolekulák tanulmányozásának az volt a célja, hogy feltárjuk azokat a szerkezeti változásokat, amelyek révén a kettősréteg megbomlik és átalakul, ezáltal elveszti biológiai funkcióját<sup>8</sup>. Ilyen szempontból a vizsgálatok toxikológiai jellegűek is, azok molekuláris dimenziójú fiziko-kémiai alapjainak bővítését szolgálja.

A modellmembránok két csoportját tanulmányoztuk. A humán membrán lipidjeinek viselkedését a DPPC molekulán keresztül modelleztük annak ellenére, hogy nem ez a legjobb, de megfelelő modell humán-lipid. A mikroorganizmusok képviselőinek, a baktériumoknak a membránját DPPE alapú vezikulákkal modelleztük [107]. A Gram-negatív baktériumok

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> Ennek nem mond ellent az a tény, hogy sok esetben "nem kettősréteg" lipidek jelenlétésre van szükség bizonyos, speciális membránfunkció elvégzéséhez.

plazmamembránjának fő lipid komponense a DPPE. Például az ("elterjedt") *Escherichia coli* baktérium belső (citoplazma) membránlipidjeinek közel 80 mol% -át adja. A membrán működése megkívánja más lipid alkotók jelenlétét. A domináns mennyiségben jelenlévő DPPE-hez a valós rendszerben található egyéb, különböző karakterű, kettősréteget és nemkettősréteget képző lipideket kevertünk 20 mol% arányban. A DPPG a DPPE mellett a leggyakoribb lipid membránalkotó, általában minden Gram-negatív baktériumban jelen van (kb. 8-18 %-ban, a baktérium fajtájától függően). A DPPE-DPPG rendszer sajátos elegyedési tulajdonságot mutat, ezért az alaprendszer "önrendeződését" a hozzáadott "harmadik" komponens nagymértékben képes befolyásolni [86]. A DPG a természetes membránok komplexitásának képviselője: a foszfolipidek hidrolízisének terméke, másrészről pedig a foszfolipidek enzimatikus szintéziséhez szükséges molekula. A DPG minden membránban jelen van, mert a membrán kettősrétegek közötti fúziót segíti elő [108]. A DPPA (foszfatidsav) a foszfolipidek bioszintézisének elengedhetetlen prekurzora, ezért a sejtmembránban mindig előfordul [109,110].

Az antibiotikumok elölik a mikroorganizmusokat, vagy gátolják azok szaporodását. Orvosi alkalmazásuk, hatásmechanizmusuk fiziko-kémiai részleteinek feltárása céljából különböző gyógyszermolekulák hatását tanulmányoztuk a baktérium membrán modellrendszeren.

A szulfadiazin, a szulfonsav származéka, a baktérium DNS szintézishez szükséges folsav egyik intermedierje képződését gátolja [111]. Az állatgyógyászatban (emlősök, madarak, halak) óriási mennyiségben adagolt szer, amit sajnos nemcsak kezelésre, hanem a tápszerhez adagolva megelőzésként is használnak. Az állattartó telepekről a környezetbe kerülve a talajlakó baktériumok károsodását is okozzák. A szulfadiazinhoz kapcsolódó munkánkat környezetvédelmi szempontokból végeztük membránkárosító hatásának megismerése céljából.

Az aminoglikozidok több mint 40 éve játszanak alapvetően fontos szerepet a Gramnegatív infekciók kezelésében [112-114]. Ezek közül a gyógyászatban elterjedt streptomycin, tobramycin és spectinomycin hatását tanulmányoztuk. Az aminoglikozidok glikozidkötésekkel összekapcsolt aminocyclitol-gyűrűkből állnak, melyhez különböző aminocukor-oldalláncok kapcsolódnak. Α modern származékok az oldallánc szubsztituensekben különböznek egymástól. Az aminoglikozidok igen gyors hatású, baktericid antibiotikumok, a baktérium fehérjeszintézisét gátolják úgy, hogy a riboszóma 30S alegységének egy fehérjéjéhez kötődnek. Az aminoglikozidok eltérő szerkezetmódosító

43

hatásának megismerése, a kombinált gyógyászati kezelések során fellépő, összetett fizikokémiai mechanizmusok tisztázását szolgálta.

A baktériumok és azok szervezeten belüli gyógyszeres elpusztítása kapcsán, a kezelés során megjelenő lipopoliszacharidok (LPS) hatásának tanulmányozása volt a következő állomás [115–119]. A kísérletsorozattal az volt a célunk, hogy a baktériumokból kiszabaduló LPS hatásának, a membránok biofizikai aspektusait megismerjük. A lipopoliszacharidok (LPS) a Gram-negatív baktériumok külső membránjának külső felszínén helyezkednek el. Az LPS sejthez kötött toxin (más néven endotoxin), amelyet a Gram-negatív baktériumok nem választanak ki, mégis bizonyos körülmények között leszakadhatnak a baktérium felszínéről. Minimális mennyiségű LPS hagyja el a sejtfelszínt a baktérium osztódásakor. Nagyobb mennyiségben akkor kerül a gazdaszervezetbe, amikor például a baktériumok antibiotikum hatására elpusztulnak, vagy azok fagocitózisa következik be. A kis mennyiségben szervezetbe került endotoxin hasznos is lehet, mivel segíthetik az immunrendszerünket a bakteriális fertőzések, valamint a daganatbetegségek leküzdésében. Nagy mennyiségű LPS viszont komoly veszélyt jelenthet (hidegrázás, láz, sokk, szerveket károsító keringési rendellenesség, halál). Az endotoxinok sejtbiológiai aktivitása szoros összefüggésben van az LPS molekula és a gazdasejt közötti - különböző mechanizmusokon alapuló - kölcsönhatásokkal. Ezek közül néhány már kísérletileg is bebizonyított, mint például az LPS molekuláknak a sejtek felszínén lévő specifikus receptorokkal való kölcsönhatása vagy az endotoxin nem specifikus beágyazódása a gazdasejt membránjának foszfolipid kettősrétegébe [115,116].

Disszertációmban szereplő klórfenol, mint a gyakran előforduló tipikus szennyező, kismértékben toxikus molekula került tanulmányozásra. Klórfenolok a felszíni vizek szennyeződésével (vagy korábban származékaik, mint égésgátló anyagok felszabadulásával) kerültek környezetünkbe [120]. Bizonyított tény, hogy a fenolszármazékok széles spektruma hat kölcsön a sejtekkel és azok funkcióit zavarja. A klór-aromás származékok, mint a sejten belüli oxidatív foszforilációs folyamat leállítói ismertek [121,122]. Ezekben a munkákban a halogén-származékok sejtmembránba történő beágyazódását és az avval kapcsolatos fizikai kémiai kölcsönhatásokat tárgyalják. Munkámban a 2,4-diklórfenol molekula hatását tanulmányoztam – toxikus molekuláról lévén szó – a humán sejtmembránt modellező DPPC-víz rendszerben.

#### 3.2.4.3 Vezikulák, mint nanohordozók

A liposzómák felfedezésével egyidőben tapasztalták, hogy a liposzómák sokrétegű formái mellett egyszeres lipid kettősrétegű vezikulák is előállíthatók (multilamellás, az angol

multilamellar vesicle alapján MLV rövidítés használatos, valamint az egyrétegű, az angol unilamellar vesicle alapján ULV rövidítés használatos, felfedezői alapján még "banghaszómák" és "huangoszómák" néven is ismertek) [81-83,123]. A sokrétegű liposzómák a kisszögű röntgenvizsgálati módszer szempontjából ideális rendszerek. A kettősrétegek periodikus elhelyezkedése diffrakciós görbét szolgáltat, amelynek analízise révén a kettősréteg belső szerkezetét, nm-es felbontásban megismerhetjük. Multiréteg nélkül, az egyrétegű vezikulák szórása már korlátozott információt nyújt. A kettősréteg termodinamikailag hasonlóan viselkedik, mint a rétegek sokasága (a 3.2.4.1 pontban leírt fázistulajdonságok). A kettősrétegbe ágyazott vendégmolekula lipid, lipid – fej, lipid – farok régiójának szerkezete ugyanolyan egy egyszeres kettősrétegű liposzómában, mint egy multirétegű liposzómában. A biológiai relevancia sok esetben megköveteli, hogy ULV-t használjunk a vizsgálatok során. Extrudálással lehetséges egyrétegű vezikulát készíteni, de az néhány órai állás után spontán módon átalakul multilamellás (termodinamikailag stabilabb) formába. Az unilamellás forma esetében a rendszer – lipid tartalmára nézve – legalább egy nagyságrenddel hígabb (általában 1 tömeg % alatti). Ennek a formának a röntgenvizsgálata a szokásos laboratóriumi berendezésekben nem lehetséges, a vezikula kis röntgenkontrasztja, a víz nagyobb arányú szórása és abszorpciója miatt. Ugyanakkor a biológiailag releváns rendszerben számos értékes kísérletet lehet végezni, amelyek a vendégmolekulák felvételével, a vezikulák közötti kölcsönhatásra, fúzióra vonatkoznak [124]. Ezekben az esetekben a kalorimetrikus, spektroszkópiai és mikroszkópiai módszereket alkalmaznak.

Stabil ULV-k sztérikus stabilizátorok hozzáadásával történő előállítását 1991-ben fedezték fel, amelyhez rögtön kapcsolódott annak orvosi alkalmazása, legfőképp daganatellenes terápia céljára. A lipid főkomponenshez (DPPC, vagy HSPC: "High purity Hydrogenated Soy PC" = szójából előállított nagytisztaságú, hidrogénezett foszfolipid) további lipidet, egy hosszú polimer láncot tartalmazó foszfolipidet adtak, amelynek hatására a vezikulák stabilizálódtak [125]. A stabilizálódást a vízoldékony polimer láncok eredményezik. A sztérikus stabilizálásra általánosan felhasznált lipid a disztearil-foszfoetanolaminhoz kovalensen kapcsolódó polietilén-glikol (mPEG-DSPE, vagy DSPE-PEG) [126,127]. Az egyrétegű vezikulák, gyógyszermolekulák szállítására történő alkalmazásának lehetőségét hamar felismerték. Az első hatóanyag amit liposzómába csomagoltak, a rákellenes Doxil (doxorubicin) volt [125]. A sztérikusan stabilizált liposzóma keringési ideje a véráramban jelentősen meghosszabbodik és a daganatos betegségek kezelésében kitüntetett jelentőségre tett szert. A DSPE-PEG lánccal történő stabilizálás

45

emelendő ki [125]. Orvosi felhasználást célzó konzorciumi munka kapcsán ismerkedtünk meg az ULV rendszerekkel. A nagyprecizitású, szinkrotron mérőállomáson (BESSY, Berlin) nyert kisszögű röntgenszórási adatok birtokában egy kinázgátló daganatellenes szert tartalmazó, sztérikusan stabilizált vezikula szerkezeti jellemzését végeztük el. Megadtuk a sztérikus stabilitásban meghatározó paraméter, a PEG-lánc vastagságának értékét. Megállapítottuk, hogy a vezikula-készítmény szórási profilja csak abban az esetben volt kielégítő módon illeszthető, ha a kettősréteg külső oldalain elhelyezkedő PEG láncok elhelyezkedésére aszimmetrikus eloszlási profilt tételeztünk fel. Ennek alapján a liposzóma külső és belső oldalain a PEG lipidek aránya ~3:1. [128]. Ezt követően a sztérikusan stabilizált liposzómák szerkezetének pontosabb megismerése céljából, a felhasznált lipid fajtájának és arányának szerepét vizsgáltuk (ESRF, Grenoble) [129]. A PEG lánccal történő stabilizálás nem problémamentes, az ún. CARPA, egy pszeudo-allergiás tünet lép fel, amelynek ugyan ritkán, de végzetes következménye van [130]. A sztérikus stabilizálás céljára használható más molekulák felkutatása nagy erőkkel folyik [131-133]. Az intézetben folyó munkák során figyeltem fel a polialmasavra, ami az előbbi felsorolt munkákban is említésre került. Ez az anyag könnyen hidrolizál és terméke a normál sejtfolyamatok része. Távol vagyunk a gyakorlat számára ígéretes eredménytől, de a polialmasavval kapcsolatos megfigyelés; modellmembránnal való kölcsönhatása és egyrétegű liposzómák sztérikus stabilizálásában játszott szerepe említésre méltó.

#### 3.2.4.4 Vezikulák, mint nanoreaktorok

Nagyszámú olyan módszer ismeretes nanorészecskék előállítására, amelyekben limitált méretű reakcióközeget alkalmaznak az előállítandó részecske méretének csökkentésére. Ha a limitált reakcióközeg kiterjedése a "nm"-es méretskálára esik, akkor azt "nanoreaktornak" szokás nevezni. Nanorészecskék céljára felhasznált rendszereknek, egyben nanoreaktoroknak széles skálája van: használnak fordított micellákat, Langmuir-Blodgett filmeket, agyagásványokat, mikroemulziókat, polielektrolitokat, polielektrolit-tenzid molekulák komplexeit, polipeptideket, poliszacharidok bomlástermékeit, és még szén-nanocsöveket is [134–140]. Természetesen a nanoreaktorok sorában a vezikula is megtalálható [141–143]. J. Fendler úttörő munkát végzett az egyrétegű vezikulás rendszerek nanorészecskék előállításának céljára történő kidolgozásában [144–147]. Ezekben a munkákban az ULV belső vizes fázisú magját használták nanoreaktorként. A kétértékű fémionok nagymértékben lerontják a vezikulák héjainak periodikus elhelyezkedését (biológiai szerepük miatt

46

részletesen tanulmányozott ionok pl. Ca<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) [148]. Az elmúlt évtizedben kétértékű fémionok, a sokrétegű vezikulák rétegszerkezetére kifejtett hatását tanulmányozva megállapítottam, hogy a kettősrétegek közötti vízhéj lokálisan jelentősen megnő. Gyakorlati tapasztalat, hogy a multilamellás forma könnyen "kézben tartható", kevésbé érzékeny rendszer, mint az unilamellás forma. Ezeket figyelembe véve, kezdtem el, nanorészecskék szintézisének céljára a sokrétegű liposzómákat felhasználni. A 27. ábra segítségével illusztrálom és összehasonlítom a két vezikuláris forma szerkezeti jellegzetességeit, és a nanoreaktor céljára történő felhasználásának alapgondolatát.

ULV és MLV felhasználása nanoreaktorként



27. ábra Egy és sokrétegű liposzómák összhasonlítása nanoreaktorként való alkalmazásra. A jobboldali kép rézinok hatására szétcsatolt rétegeket mutat be egy felnyílt nagyméretű liposzóma belsejében (fagyasztvatöréssel előkészített TEM felvétel)

## 4 Vizsgálati módszerek, berendezések

### 4.1 Kisszögű berendezések

### 4.1.1 Laboratóriumi berendezések

A hagyományos laboratóriumi berendezéseknél a beeső és a szórt nyaláb intenzitásának növelése érdekében vonalfókuszú nyalábot használnak. Ez jellemző a Kratky-típusú kisszögű kamerákra. A vonalfókusz használata ugyan a szórási kép elkenésével jár, de a mérési adatok a nyaláb geometriai adatainak figyelembevételével az ideális esetre átszámíthatók [149,150]. A kisszögű röntgenszórásos berendezés felépítése hasonló a nagyszögű pordiffrakciós berendezéséhez: sugárforrásból, kollimációs rendszerből, mintatartóból, és a sugárzás érzékelésére alkalmas detektorból áll. A levegő kisszögű szórásának kiküszöbölésére a szórt nyaláb a minta és a detektor között vákuumcsőben halad (vagy kamrában, innen származik a "kisszögű kamra" elnevezés, az optikai jelleget hangsúlyozó szokásos "kamera" kifejezés mellett). A minta - detektor távolság általában 20-30 centiméter. A detektorok típusa különböző, általában egycsatornás proporcionális vagy sokcsatornás "helyérzékeny" gázdetektorokat használnak. A 28. ábra baloldali fényképén mutatom be a "klasszikus" Kratky kamerát (Anton Paar típus, Graz, Ausztria) [151,152]. Az ábrán megfigyelhetők az előbb vázolt egységek. A "klasszikus" kamera másik sajátsága és egyben nagy előnye, hogy az egységek egy sínen mozgathatók, és így azok a mérés sajátságának megfelelően egymástól tetszőleges távolságra állíthatók. A "klasszikus" Kratky kamera mintatartó tere nyitott, lehetővé téve a minták sokoldalú, "in situ" vizsgálatát. A felhasznált berendezés egycsatornás gázdetektorral van felszerelve. A kamerát röntgengenerátorral üzemeltetett réz anódú röntgencsőhöz illesztettük (Seifert, Ahrensburg, Németország, a Cu Ka karakterisztikus röntgensugárzás jellemző hullámhossza  $\lambda = 0,1542$  nm=1,542 Å, a K $\beta$  komponens kiszűrése 10 µm vastag nikkel fóliát használtunk). A detektor mozgatását különböző lépésközzel végeztük. Egy szokásos (80 µm) belépő rés használatakor a "feloldás", azaz a legkisebb szórási változó, ahol a kisszögű szórást detektálhatjuk  $q_{min}=0.05$  1/nm, ami a valós térben 120 nm-nek felel meg ( $d_{max}=1/s_{min}=2\pi/q_{min}$ , a belépő rés csökkentésével: ami 40 vagy minimálisan 20 µm lehet, 180 nm (1800 Å) maximális távolságot lehet elérni). A klasszikus Kratky kamera esetében a detektor a vákuumkamrával a minta centrumához illesztett forgási tengelyen, egy körív mentén mozog. Ez a kisszögű és részben a nagyszögű szórás folytonos felvételére ad lehetőséget egy plusz emelődarab beépítésével.

A "kompakt" Kratky kamera felépítése lényegesen eltér a klasszikus formáétól [151]. A gyári kivitelben a kollimációs egység, a mintatartó és a detektor egy térben, a vákuum

kamerában van, ezért a berendezés korlátozott lehetőségeket nyújt a mérések körülményeinek változtatására. A minta termosztálását Peltier elem biztosítja. Előnye a berendezésnek, hogy összességében stabil és jól reprodukálható méréseket szolgáltat.



28. ábra A klasszikus Kratky kamera(bal oldal, vákuum cső(1);mintatartó tér(2);kollimációs blokk(3), és a Kompakt Kratky kamera (jobb oldal) (MTA-TTK, Biológiai Nanokémia Osztály)

A 28. ábra jobb oldala mutatja az intézet Kompakt Kameráját, amelyhez sokcsatornás helyérzékeny gázdetektor (MBraun, Garching, Németország) van illesztve. Ez a kamera annyiban különbözik a kereskedelmi formához képest, hogy a mintatartó tere nyitott, a minta nincs vákuum alatt, mert a kamrát két részre osztottam. A beépített válaszfalakra a sugár útjában berillium ablakokat helyeztem. Különböző, a feladat jellegéhez kialakított mintatartókat használunk. A detektor csatornaszélessége 55,8 µm, ennek megfelelően *q*-ban a léptetés:  $\Delta q$ =0,02 1/nm. A mérések (szórásváltozóval kifejezett) tartománya  $q_{min}$ =0,12 -tól  $q_{max}$ =6 -ig (1/nm) terjed, (ami valós térben 50 – 1 nm közötti értékeknek felel meg). A kompakt kameránál a tipikus mérési idő 1000 s. Hasonló statisztika eléréséhez a klasszikus kameránál több napos mérés szükséges, ugyanis annál pontonkénti detektálás van.

### 4.1.2 A Kompakt Kratky kamera kollimációs blokkjának fejlesztése

A legutóbbi két évtizedben a kisszögű berendezések közül világszerte leginkább a Kompakt Kratky kamera terjedt el (amelynek fényképét a 28. ábra mutatja). Sok előnye ellenére, a kamera néhány nem kedvező tulajdonsággal rendelkezik, amelyek a következők: csak transzmisszós mérés végezhető el, a szórási szögtartomány a nagy szögek irányában limitált, a minta vákuumban van (ezt saját eszközünk beüzemelése során megváltoztattuk), a mintatartó tere kicsi, a minta mérés alatti kezelése korlátozott, a röntgennyaláb beállítása ("jusztírozása") körülményes. Az utóbbi évtizedben a Kompakt Kratky kamera mellett "pont fókuszú", igényesebb laboratóriumi "nagyberendezések" is forgalomba kerültek, amelyek a szinkrotron állomásoknál telepített készülékekhez hasonló lehetőségeket biztosítanak (például

a Bruker, a Rigaku cég berendezései). A kisszögű kamerák korábbi típusait figyelembe véve hiányzik az a szögtartomány (10 és 30°között), amely pont a vezikulás rendszereknél (az alrács megfigyelése) hangsúlyozott igényként jelentkezik. 1990-1992 között a grazi Biofizika Intézetben terveztem és építtettem egy kis és nagyszögű szórás egyidejű detektálására alkalmas röntgenkamerát (forgóanódos röntgengenerátor nyalábját aranyból készített korongok nyílásainak segítségével – ún. "pin-hole" rendszerrel – kollimáltam, a detektálást a kisszögű tartományban kétdimenziós, a nagyszögű tartományban egy egydimenziós helyérzékeny detektorral végeztem) [153]. Ugyanez az elv került felhasználásra és alkalmazásra a Kompakt Kratky Kamera esetében (MBraun, Graz) és azt SWAXS módszerként említik a szakirodalomban (small and wide angle X-ray scattering kezdőbetűi) [154]. 2002-ben intézetünkben is építettünk egy "SWAXS" kamerát, ami az utóbbi 10 évben biztosította laboratóriumi méréseket. A HECUS (korábban MBraun Graz, Ausztria) cég és intézetünk kameráit a 29. ábra felhasználásával mutatom be. Az MBraun cég a "nagyszögű" tartományban történő mérést a detektornak az optikai tengelytől való távolabbi, mi a mintához közelebbi felfüggesztésével valósítottuk meg. Saját konstrukciónknak az lett az előnye, hogy a detektor lejjebb ül a kamerában és szélesebb szögtartományt fog át [86].



29. ábra Kis és nagyszögű "SWAXS" kamerák. A HECUS cég (Austria, Graz) S3 MICROpix rendszere (Dectris Pilatus, Svájc 100k 2D detektorral) (bal oldal). Saját intézeti berendezésünk (jobb oldal)

A kompakt kamera továbbfejlesztésének másik iránya annak kollimációs blokkjának átalakítása volt. Az alábbi összehasonlító 30. ábra mutatja a részleteket. Az ábrán a Kompakt Kratky kamera (ugyanilyen az MBraun is) kollimációs rendszere (baloldali kép), a saját építésű kollimációs rendszer (középső kép) valamint az utóbbi, a kamerában elhelyezett módon vehető szemügyre. A blokkok kiemelt állapotban, alulról fényképezve vannak bemutatva, hogy a vágóélek láthatók legyenek. A fejlesztés lényege, hogy a robosztus, nehezen kezelhető kollimációs rendszer helyett résrendszer módjára elhelyezett, külön mozgatható vágóéleket tartalmaz, ezáltal a kamera jusztírozása nem a blokk egészének

mozgatásával (emelésével kombinált billentésével), hanem az egyszer optimálisan elhelyezett kamerában a nyaláb tetszőleges mértékű levágásával történik. Az élekre merőlegesen elhelyezve további három rés biztosítja a horizontális irányú nyalábméretet (30. ábra, jobboldali fényképe). A kollimációs blokk tervezéséhez az alapgondolatot a hagyományos Kratky kollimációs blokk és a szinkrotron nyaláboknál használatos résrendszer működési elveinek kombinációja adta. A kollimációs blokkban három (speciális esetben négy) wolframacélból készített és külön-külön beállítható élek biztosítják a vertikális irányú nyalábformálást.



30. ábra A Kompakt Kratky kamera (bal oldal) és az intézeti készülék saját tervezésű kollimációs blokkja (középső) alulnézetben, a röntgennyaláb irányának és útjának feltüntetésével. A módosított kollimációs blokk a kamerában elhelyezve (Soller rést valamint horizontális levágást biztosító réseket is tartalmazó változatának felülnézeti képe)

Ezek az elemek alumínium blokkban ülnek, szemben a robusztus és súlyos Kratky blokk wolframacél anyagával. További változtatás, hogy a kollimációs rendszer egy Soller résrendszert is tartalmaz, amelynek révén "közel" párhuzamos nyaláb esik a mintára és a szórási görbéken a rés geometriája (vonal fókusz) okozta elkenődés kisebb mértékű (a Kratky kollimációs blokkhoz képest). A saját fejlesztésű kollimációs blokk használatával, ezüstbehenát referencia mintán nyert mérési görbéket a 31. ábra segítségével mutatom be. Egy második Soller rés – a minta és a detektor közé való – behelyezésével a vonalfókusz okozta elkenődést tovább csökkent. A fejlesztett kollimációs blokkal ellátott berendezést 2012 óta használjuk [155].

dc\_511\_12



31. ábra Az ezüst-behenát referencia-minta diffrakciós görbéje, a módosított kollimációs blokk alkalmazásával, SOLLER rések beépítésével (a mérési eredmény bemutatása céljából a detektor csatornaszáma szerepel az "x"-tengelyen)

### 4.1.3 Pordiffrakciós berendezések fejlesztése kisszögű szórás mérésére

A nagyszögű pordiffrakciós berendezések alkalmassá tehetők kisszögű röntgenszórás mérésére. 1999-ban készítettem el az első kollimációs rendszert, amelyet pordiffrakciós berendezésekre lehet felszerelni. Ezt több, a mérési célok figyelembevételével készített, változat követette [156,157]. A kollimációs rendszer alkalmazásával 20min ≤ 0.1°-tól ~130 °-ig terjedő tartományban végezhető el a mérés (ez a szögtartomány a valós térben a 0.1 nm-től a 100 (200) nm-ig terjedő mérettartományt fogja át). Mind transzmissziós, mind reflexiós mérési elrendezésben használható. A kollimációs rendszer két, a nemzetközi gyakorlatban elterjedt pordiffrakciós berendezéshez (XRD 3003 TT "theta/theta" diffraktométer, GE-Germany (korábban Seifert), Ahrensburg, Németország, valamint X'Pert Powder Diffractometer, PANalytical) került beépítésre és alkalmazásra. A kisszögű kollimációs egységgel és a szükséges kiegészítőkkel (a levegő kisszögű szórásának elkerülésére vákuum cső, mintatartó) ellátott készülékeket a 32. ábra mutatom be.



32. ábra Kisszögű szórás mérésére alkalmas, kollimációs egységgel kiegészített pordiffrakciós berendezések: XRD 3003 TT (GE-Germany, Seifert) (bal oldal), X'pert Powder (PANanalytical) (jobb oldal)

A pordiffrakciós berendezésekhez készített kollimációs rendszer egy belépő résrendszer (a berendezéshez alkalmazott eredeti formákban; 0.2, 0.3 mm résszélességekkel), egy "Soller" résrendszer, és a speciálisan konstruált kollimációs blokk együtteséből áll. Az utóbbi "vágja le" a belépő rés által átengedett és a Soller rés által horizontális irányban párhuzamosított nyalábot olyan geometriára, amely lehetővé teszi a kisszögű szórás megfigyelését és mérését. A kollimációs blokk egy keretben van elhelyezve. A keret mozgatása a durva, a blokk kereten belüli mozgatása (billentése) a finom jusztírozást teszi lehetővé. Ez alapvetően más, mint a kompakt Kratky Kamera esetében, ahol a kamera teljes mozgatása szükséges a beállításhoz. A kollimációs blokk elhelyezése és belső felépítésének vázlata a 33. ábrán látható.



33. ábra Pordiffrakciós berendezésekhez épített kollimációs blokk elhelyezése és belső felépítésének vázlatos rajza

A fejlesztett kollimációs rendszer alkalmazása jelentékeny módon csökkenti a pordiffrakciós berendezések széles nyalábprofilját. A kisszögű szórás megfigyelésére alkalmas, vertikális irányban keskeny nyalábalakot a 34. ábra segítségével mutatom be.



34. ábra A primérnyaláb horizontális irányú profilja, a kisszögű feltéttel ellátott X'pert Powder berendezéssel mérve, réz-abszorber (filter) alkalmazásával

A primer nyaláb levágása a pozitív oldalon lehetővé teszi az "első mérési pont" a lehető legkisebb szórási szögnél történő választását. A nyaláb profil alakjának az "első mérési pont" szempontjából való értékelését jól példázza a logaritmikus ábrázolás (a kb. 2 $\Theta$ >0.07° tartományban már nem tüntettem fel az intenzitás adatokat azok kis értékei és nagy ingadozásai miatt). Az "első mérési pont" 2 $\Theta$ ≈0.1°-ra becsülhető, amelynek a valós térben 2 $\pi$ /q~100 nm ( $\lambda$ =0.154 nm esetén) periódustávolság felel meg. Filter (abszorber) nélkül mért "üres nyaláb" vagy másképpen "háttér szórási" görbét a 35. ábra alapján mutatom be.



35. ábra A háttér szórásgörbéje a kis és nagyszögű tartományban felvéve (minta nélküli, "üres" mérés, vákuumban)

A szórásgörbék egyértelműen mutatják, hogy a primer nyaláb filter nélkül szélesebb szögtartományba terjed ki.  $2\Theta$ >0.07° -nél nagyobb szögeknél csökken le olyan mértékben, hogy az a kisszögű szórás megfigyelését nem zavarja. Egy tapasztalati szabály alapján "első mérési pontnak" az a legkisebb *q* érték tekintendő, ahol az intenzitás a nagyobb szögek tartományában mért háttérsugárzás tízszeresének – hússzorosának értéke alá csökken. Mivel a  $2\Theta$  2°és 12°közötti tartományában a háttérsugárzás 0.3 cps, a kritikus szögérték 0.1° (Ennél nagyobb szögeknél az intenzitás kisebb, mint 3-6 cps. Az érték a logaritmikus ábrázolás betétábráján olvasható le.). A 35. ábra alapján bemutatott háttér (üres) mérés a kisszögű szórás technikájának "alfája és omegája". A konkrét mérés során "kedvezőbb" eset is előállhat, ugyanis a minta önabszorpciója a primer nyaláb "belógását" csökkenti és adott esetben 0.1°-nál kisebb szórási szögnél is kezdhető a szórási görbe felvétele. A pordiffrakciós készülékekhez kifejlesztett kisszögű feltétek használhatóságát a következő három ábra

bemutatásával demonstrálom. Az ezüst-behenát rétegeinek periódusa 5.8 nm, ezért ez a minta a legtöbb kisszögű szinkrotron mérőállomásnál használatos, mint referencia a készülék "q" (=szög) kalibrálásához [158,159]. Az ábrán a két pordiffrakciós berendezés mérési görbéi mellett, a szinkrotron mérőállomáson nyert változatokat is bemutatom. Az utóbbi, egy ideális, ún. pont-fókuszú geometriát biztosított, így közel elméleti szórásgörbéket eredményezett [160].



36. ábra Az ezüst-behenát referencia minta kis- és nagyszögű szórási (diffrakciós) görbéje kisszögű feltéttel ellátott X'pert Powder diffraktométerrel (piros görbe) és szinkrotronnyalábhoz telepített berendezéssel (DESY/B1, fekete görbe) mérve

A pordiffrakciós berendezés vonalfókusza a diffrakciós csúcsok elkenődését okozza, ami föleg az első három rendnél figyelhető meg. A kisszögű tartományban elvégzett számítógépes réskorrekció után a laboratóriumi és a szinkrotron berendezéseknél kapott görbék közvetlenül összehasonlíthatók. Az egyezés jónak mondható, amit a feltüntetett betétábra igazol. A fejlesztés előnye egyértelműen látható: a kisszögű és a nagyszögű szórás-diffrakció (*SWAXS*) megfigyelése vált lehetővé. A  $2\Theta = 18^{\circ}$  értékig (q=13 1/nm) bemutatott szórási/diffrakciós görbék demonstrálják a kolloid rendszerek kiterjedt kisszögű diffrakcióját<sup>9</sup>. A 36. ábra általánosságban azt is jelzi, hogy a hierarchikus felépítésű kolloid rendszernek a kisszögű szórása/diffrakciója átlapolódik az atomi felépítésű struktúrából eredő nagyszögű szórással/diffrakcióval, és az átfedés jellege, mértéke az aktuális minta sajátságaitól függ. Közelebbről szemügyre véve az ezüst-behenát szórási görbéjét, azt látjuk, hogy a Bragg

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Cu Kα sugárzás használatával

reflexiók egy folytonosan csökkenő "alapvonalon" ülnek. Ez az "alapvonal" a heterodiszperz méretű Ag-behenát krisztallitok kisszögű szórása, demonstrálva a kisszögű szórás és diffrakció együttes előfordulását. A kisszögű görbe kezdeti tartományának ismerete a krisztallitok méreteloszlásának meghatározását biztosítja. Ilyen esetekben van szükség az ún. ultra kisszögű szórás (ultra small angle X-ray scattering, USAXS) mérésére. Laboratóriumi berendezésnél szokatlan kisszögű tartomány mérését egy USAXS kollimációs rendszer építésével oldottam meg. Ebben az esetben a kollimációs rendszer hosszabb volt (19 cm, 12 cm helyett). Továbbá a kollimált nyaláb kilépésénél, az utolsó él finom billentésével (annak felületi súrlódó beesésű szórásából származó járulék kitakarásával) az első mérési pontot q<sub>min</sub>=0.025 1/nm értékre tudtam csökkenteni. Az "USAXS" és a "SAXS" tartományokban felvett görbék egyesítésével nyert szórásgörbét a 36. ábra baloldali betétábráján tüntetem fel. További példaként, a sokrétegű vezikulás (MLV) rendszer kis és nagyszögű diffrakciós görbéit mutatom be. A vezikulák (DPPC-víz rendszer hidratált formája, 20 tömegszázalék) öt rendben mutatnak kisszögű diffrakciós görbét, amelyet a szinkrotronnál (HASYLAB/B1, Hamburg) nyert változat feltüntetése mellett a 37. ábrán mutatok be.



37. ábra A liposzóma (DPPC-víz rendszer) rétegszerkezetének kisszögű és alrácsának nagyszögű diffrakciója kisszögű feltéttel ellátott X'pert Powder diffraktométerrel és szinkrotron-nyalábhoz telepített berendezéssel (DESY/B1) mérve. Az ábra jobb oldalán a szinkrotronnal közvetlenül mért valamint a vonalfókusszal mért és korrigált diffrakciós csúcsok láthatók.

Egy szórási görbe (ez esetben diffrakciós görbe) felvételével mind a rétegszerkezet, mind a rétegen belüli alrács jellemzése lehetővé vált. Hangsúlyoznom kell azt a tényt, hogy ilyen kiterjesztett (SWAXS/SWAXD) görbék mérése általában még szinkrotronnál telepített nagyberendezéseknél sem lehetséges. A bemutatott B1-es mérőhely esetén [66,160,161] ez azért volt megoldható, mert a nagyméretű mintatartó térbe egy egydimenziós, helyérzékeny detektort (MYTHEN, Dectris, Svájc) lehetett elhelyezni. A beépítés  $2\Theta = 40^{\circ}$  szórási tartományig biztosította a mérést. A 37. ábra jobb oldalán a direkt, szinkrotronos mérés,

valamint a korrigált (a réskorrekció elvégzése után nyert) diffrakciós görbék vehetők szemügyre. A korrigált diffrakciós görbék reflexióinak félértékszélessége lényegesen nagyobb, mint az ideálisnak mondható szinkrotron eredetű változaton. Ennek oka a pordiffrakciós mérésnél alkalmazott nagyobb résszélesség a léptetéses módon dolgozó egycsatornás detektor ablakán. (mindemellett a csúcsarányok a két görbén megegyeznek). A Bragg csúcsok kis intenzitású, közel konstans "alapvonalon" ülnek, ami azt mutatja, hogy a rendszerben (a megfigyelt szögtartományban) a kisszögű szórás, a kisszögű diffrakcióhoz képest elhanyagolható, ellentétben az Ag-behenát esetével, ahol a szórás és diffrakciós jelenség együtt (a szórási változó egy tartományán belül) fordul elő.

A kollimációs rendszer alkalmazásával elért eredmények felsorolását a reflexiós mérési elrendezés lehetőségének bemutatásával zárom. A minta homogenizált Na-montmorillonit agyagásvány – tenzid ( $C_{12}E_4$ ) keverék volt, lapos 2 × 2 cm<sup>2</sup> alapterületű vízszintesen elhelyezett mintatartóban. A diffraktométer precíz goniométere, valamint a jól kollimált nyaláb lehetővé tette, hogy 2 $\Theta$  = 0.1° -tól kezdődjön a mérés. Reflexiós geometriánál ez az érték jónak számít, hiszen az alacsony szögben érkező nyalábnak a mintára vetett árnyéka széles, ami rosszul kollimált esetben lehetetlenné teszi a mérést. A nyaláb szélességét a mintatartóba helyezett fluoreszcens anyaggal ellenőriztük, és az 2 cm-nél keskenyebb volt a kezdő 2 $\Theta$  = 0.1° értéknél. A Bragg csúcsok az agyagásvány rétegeinek makroszkopikusan orientált szerkezetét jelzi, amelynek periódustávolsága 4,05 nm.



38. ábra A Na-montmorillonit –  $C_{12}E_4$  (nemionos tenzid) rendszer rétegeinek kisszögű szórása és diffrakciója reflexiós elrendezésben, kisszögű feltéttel ellátott X'pert Powder diffraktométerrel mérve (a betétábra logaritmikus tengelybeosztású)

A 38. ábrán bemutatott mérési elrendezés különlegesnek mondható, mert a kisszögű berendezések általában transzmissziós geometriai elrendezésben működnek. Még szinkrotron állomások esetében is csak ritkán megvalósítható mérési elrendezésnek számít, mert a

detektor és a nyaláb, szokásos módon, egy közös optikai tengelyre van helyezve (ebben az esetben folyadék mérése nem valósítható meg). A kisszögű mérésekre alkalmassá tett pordiffrakciós berendezések további előnye, hogy a horizontális blendék (rések) zárásával tetszőleges mértékben megközelíthető a pontfókuszú nyaláb formája és azzal súrlódó beesésű kisszögű szórás (Grazing Incidence Small Angle X-Ray Scattering, GISAXS) laboratóriumi mérése válik lehetségessé [162].

### 4.1.4 Szinkrotron állomásoknál használt kisszögű berendezések

A disszertációban szereplő eredményekhez kapcsolódó szinkrotron mérések legnagyobb részben a *Deutsche Elektronen-Synchrotron* (rövidítve *DESY*), *DORIS III* nevű 3. generációs tárológyűrűjénél készültek, ezért az ennél telepített mérőberendezés leírását bővebben adom meg. A részletesebb tárgyalás a mérési módszer és adatfeldolgozás részleteinek szemléltetését is szolgálja. További mérések a *Berliner Elektronenspeicherring-Gesellschaft für Synchrotronstrahlung m.b.H* (röviden BESSY II), 3. generációs, valamint a *European Synchrotron Radiation Facility* (röviden ESRF, 3. generációs) szinkrotronjainál készültek.

A hamburgi szinkrotron (Deutsches Elektronen-Synchrotron, DESY), szinkrotron laboratóriumában (Hamburger Synchrotron Laboratory, HASYLAB) két mérőállomásánál a B1-nél és az A2-nél végeztem méréseket.

Az eredeti nevén "*JUSIFA*", majd "*B1*"-es mérőhely a világ egyetlen anomális kisszögű szórás mérésére épített ("dedicated") berendezése [66,160,161]. Sajnos a *PETRA III* üzembe helyezésével megszűnik.

A JUSIFA munkaállomás röntgenforrása a DORIS (III) szinkrotrongyűrű (4,5 GeV, 120 mA) B eltérítő mágnese ( $E_c$ =16,6 keV). A bejövő szinkrotronnyaláb mérete 0,8x3,5 mm FWHM, függőleges divergenciája 0,11 mrad. A polikromatikus szinkrotronnyalábból a kívánt hullámhossztartományt kettős Si(311) egykristály monokromátor vágja ki. A monokromátor által kiválasztott energiatartomány relatív félértékszélessége ( $\Delta E/E$ ) legfeljebb 5·10<sup>-5</sup>. A nyaláb 3 résből álló résrendszeren halad keresztül. Az 1. és 2. rés a nyaláb konvergenciáját biztosítja. A 3. rés a parazita szórás kiküszöbölésére szolgál. A nyaláb keresztmetszetét a 2. rés mérete határozza meg. A rések méretét 0,01 mm pontossággal lehet szabályozni. A JUSIFA mérőállomás elrendezését a 39. ábra mutatja be.



#### 39. ábra. A JUSIFA mérőállomás mérési elrendezésének vázlata

A nyaláb a résrendszert elhagyva áthalad a mintán. A detektor eredetileg kétdimenziós, helyérzékeny Ar/CO<sub>2</sub> gázdetektor (többhuzalos proporcionális számláló). A detektor aktív felülete 190x190 mm<sup>2</sup>, felbontása 256x256 pixel, mely alapján egy pixel élhossza 0,74 mmnek adódik. A szórási képet egy 256x256-os beütésszám mátrix formájában nyerjük. A minta és a detektor távolságát 935-3635 mm között 5 fokozatban lehetett beállítani a távtartó csőszakaszok számának változtatásával. A nyaláb útjába épített monitorszámlálók révén a berendezés a kisszögű szórással egyidejűleg a beeső nyaláb intenzitását is méri. A berendezés a minta transzmisszióját a minta és a detektor közé elhelyezett nagy érzékenységű diódával méri. Mérés közben 10<sup>-5</sup> mbar vákuum van. A mérőhelyen 2009 tavasza óta a Dectris cég (Svájc) PILATUS típusú detektorait használják. A félvezető elven (CMOS hibrid pixel) működő detektort nulla háttér- és kiolvasási zaj, valamint széles dinamikai tartomány jellemzi, tehát a kisszögű szórás mérésére ideális [163–165].

A világon több helyen működik még szinkrotron mellé telepített kisszögű mérőállomás. Munkacsoportunk a grenoble-i European Synchrotron Radiation Facility ID02-es, valamint a berlini szinkrotronnál működő 7T-MPW-SAXS nagy intenzitású mérőállomásain rendelkezik mérési tapasztalattal [166–168].

### 4.2 Nagyszögű röntgenszórás és berendezés

Liposzómák lipid-alrácsának diffrakcióját a 18 és 30°-os szórási szögtartományban lehet detektálni. A disszertációban bemutatott, a nagyszögű mérésekhez kapcsolódó eredmények erre a tartományra korlátozódnak. Egy kiegészítő egységgel továbbfejlesztett klasszikus Kratky kamerával valamint a nagyszögű szórás mérésére szintén alkalmassá tett kompakt Kratky kamerával mértünk, amelyeknek ismertetése a 4.1.1. és a 4.1.2. fejezetekben található. Lényegében a vákuumkamrához csatlakozó fedélre megfelelő helyre és irányban erősített második helyérzékeny detektorról van szó. Ilyen módon egy időben kis- és nagyszögű szórást/diffrakciót tudunk meghatározni (small and wide angle X-ray scattering, SWAXS).

#### 4.3 Fagyasztvatörés

A fagyasztvatörés a liotróp rendszerek morfológiájáról nyújtott információval hatékonyan kiegészíti és erősíti a kisszögű szórási módszert [169]. Sok esetben pótolhatatlan, mert az információszegény kisszögű szórási görbe értelmezésénél az első tájékozódási lehetőséget szolgáltatja. Az eljárás lényege, hogy a lehető leggyorsabban a folyékony nitrogén hőmérsékletére, -195 °C-ra lefagyasztják a mintát, majd azt fagyasztott formában faragják (mint a mikroszkópos technikában szokásos metszetkészítés során, szeletelik a minta felszínét). Egy nanorendszer esetében nincs vágás, hanem felületi törések sorozata zajlik. A törési felszínről platina-szén replikát (levonatot) készítenek. A replika – a mintafelületről leválasztva – transzmissziós elektronmikroszkópban tanulmányozható. Ezzel a módszerrel a lágy kolloidok (folyadékkristályos liotróp, elsősorban vizes rendszerek: micellák, emulziók), biológiai rendszerek (sejtek belső partikulumai, azok membránképletei) lokálisan feltérképezhetők. A gyakorlatban néhány µL (mm<sup>3</sup>)-nyi mintát a hozzávetőleg 4 mm átmérőjű, aranyból készült, alul peremmel ellátott, belül üreges mintatartó-hengerre helyezik. Az anyag fagyasztása folyékony nitrogénnel hűtött és cseppfolyós-szilárd keverékben – leggyakrabban freon-22-ben vagy propánban - történik. Lényeges a fagyás minél nagyobb sebessége. A fagyasztás nem történhet közvetlenül folyékony nitrogénben, mert a mintától felmelegedő nitrogén a minta felszínét nem nedvesíti megfelelően, továbbá buborékképződés közben forrni kezd. A keletkező nitrogén-gázköpeny jelentősen lelassítja a fagyást, ezért történik a lefagyasztás a freon folyékony-szilárd keverékével töltött kis térfogatú edényben. Ez az edényke nagyobb térfogatú cseppfolyós nitrogénbe merül. A cseppfolyós gázokba merítés 6000-20000 °C/s hűlési sebességet okoz a minta felületi rétegeiben és a minta tömbfázisának is - feltehetően szerkezetváltozás nélküli - befagyását eredményezi.

A minta az arany mintatartóval a fagyasztvatörő berendezés belső vákuumozott (10<sup>-5</sup> - 10<sup>-7</sup> bar vákuum), folyékony nitrogénnel hűtött tárgyasztalára kerül. A vákuum megakadályozza az anyagfelszín felmelegedését és szükséges későbbi platina- és szén elgőzöléséhez. A fagyasztott anyag törése a készülék folyékony nitrogénnel hűtött késével történik. A fagyott anyag törik, illetve hasad, és az anyag belső morfológiájára jellemző domborzati viszonyok kerülnek a felszínre.

Az eljárás során a törés rendszerint a leggyengébb pontokon következik be. Ilyen, viszonylag gyengébb "kristályrács"-sík található a membránok hidrofób rétegében a két lipidréteg között, valamint a membránok külső vizes fázissal érintkező felszínén. Ezért a membránok törésekor rendszerint ebben, a felszínükkel (lapjukkal) párhuzamos síkjukban hasadnak. Vezikulák esetében is hasonló a helyzet: vagy a kettős lipidréteg, vagy a vízréteg törik. Tapasztalatok alapján az utóbbi eset valósul meg gyakrabban. Amennyiben erről a felszínről replikát készítünk, akkor fagyasztvatöréses módszerről (freeze fracture) beszélünk. Ilyenkor a membránban futó lipidfázis törésfelületei tárulnak fel. Ha a replika készítés előtt a minta felszínéről 1-5 percig a jeget hagyjuk elszublimálni, akkor a törési felszínek mellett a membránok valódi határfelületei is láthatóvá válnak. Ez a fagyasztva maratásos módszer (freeze etching). A törési felszínre 45°-os szögből jövő platinagőz kerül, amely a hideg felszínen vékony filmmé csapódik le. Mivel a platinafilm oldalról, ferdeszögben érkezik, a felszín domborzati viszonyaitól függően rakódik le. A kiemelkedő struktúrák ellentétes oldalán platinaárnyékok – platinamentes területek – lesznek. A platinagőzölés után a felszínre felülről, 90°-os szögben szenet gőzölnek egyenletes vastagságban. A kialakult szén-film lesz a rögzítő és végül a felszínnek megfelelő domborzatú Pt-C hártyát nyernek. Erről a replikáról a fölöslegessé vált minta vízzel (vagy híg tenzides oldattal) lemosható, ezután a replika mikrorostélyra szedhető és azonnal vizsgálható. A platina-árnyékolás miatt az elektronmikroszkópi kép térhatású. A felhasznált berendezés típus: Balzers BAF 400D (Balzers AG., Vaduz, Liechtenstein, MTA-TTK, Molekuláris Farmakológia Intézet, Biológiai Nanokémia Osztály).

### 4.4 Kalorimetrikus vizsgálatok

A liotróp és a termotróp rendszerek fázisátalakulási hőmérsékletét, hőmérséklettartományát, valamint az azokat kísérő hőváltozásokat differenciál pásztázó kalorimetriás módszerrel, közismert módon rövidítve: DSC-vel határoztuk meg [170]. A DSC-görbéről (kompenzációs hőfluxus a hőmérséklet függvényében) az ismert jellemzőket határoztuk meg: a termikus effektus kezdeti hőmérsékleti értéke ( $T_{kezd}$ ), végső hőmérséklete

 $(T_{vég})$ , a folyamat fajlagos átalakulási hője ( $\Delta$ H), a görbe minimumhelye, a fázisátmeneti hőmérsékletet közelítő értéke ( $T_m$ ), az átalakulás jellemző kezdeti hőmérséklete ( $T_{os}$ ). A DSC mérések az összes hőmérsékletérzékeny minta esetében időrendben az első mérések voltak. Ezek alapján határoztam meg, hogy mely hőmérsékleten célszerű a röntgenméréseket elvégezni.

Felhasznált típusok: DSC-2920 (TA Instruments, USA/ Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék), MicroDSC III (SETARAM, Franciaország/ BME, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék), µDSC3 (SETARAM, Franciaország/ MTA-TTK, Molekuláris Farmakológia Intézet, Biológiai Nanokémia Osztály).

### 4.5 További felhasznált berendezések

#### Transzmissziós Elektronmikroszkóp, TEM

A transzmissziós elektronmikroszkóppal a minta morfológiai sajátságát vizsgáltuk direkt leképzésével, kis (kisebb, mint 10.000X), közepes (10.000 és 40.000X között) és nagy nagyítások (40.000 X felett) tartományában. A 2007 előtt készített felvételek JEOL JEM-100 CX II (Japán)/ELTE-TTK, Állatszervezettani Tanszék és BS-400 (TESLA, Csehország)/egykori Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet) típusú mikroszkópban történtek, "klasszikus" fotopapíron történő rögzítéssel. A 2007 utáni felvételeket Morgani 268D (FEI, Hollandia/MTA-TTK, Anyag és Környezetkémiai Intézet) típusú készülékben, készítettük, az adatokat digitális formában tároltuk.

### Pásztázó elektronmikroszkóp, (SEM)

A szilárd anyagok (aktívszenek, katalizátorok) felületi, morfológia vizsgálata SEM-570, Hitachi, Japan (MTA-KK, Felületmorfológiai Labor) berendezéssel történt.

#### Alagútmikroszkóp (STM)

Az aktívszenek vezetőképessége elegendő volt a pásztázó alagútmikroszkópiás felvételek elkészítéséhez. A felhasznált berendezés K.H. Besocke-féle típus, BEETLE pásztázó alagútmikroszkóp Pt/Ir tűvel felszerelve, Jülichi Kutatóközpont, Jülich, D.).

#### Atomerő mikroszkóp (AFM)

Aktívszenek morfológiai vizsgálatát NanoScope® III (Jülichi Kutatóközpont, Jülich, D.) készülékkel, "tapping" módban végeztük.

Fényszórást mérő berendezés (DLS)

Dinamikus fényszórás (DLS) alapján a szilárd nanorészecskék, valamint a sztérikusan stabilizált unilamellás vezikulák méreteloszlását határoztuk meg Zetasizer NanoZS típusú

(Malvern Instruments, Németország/ MTA-TTK, Anyag és Környezetkémiai Intézet) fényszórás és zetapotenciál mérő kompakt készülékkel. Az eloszlást az átlagos szemcsemérettel és polidiszperzitási indexszel adtuk meg.

### Adszorpciós vizsgálatok

### Szabványeljárások

Az aktívszenek adszorpciós tulajdonságait az ipari gyakorlatban szokásos szabványos vizsgálattal, a jód- és a metilénkék-szám meghatározásával is minősítettem. A jódszám az oldatból megkötődő jód, a metilénkék-szám a metilénkék mennyiségét adja meg 1 g ill. 100 g aktívszénre vonatkozóan [mg/g], illetve [g/100g] egységekben. [34,35].

#### Szorptométer

Térfogatos adszorpciós módszer alapján működő berendezés, a cseppfolyós nitrogén hőmérsékletén (77 K) a nitrogén-gőz adszorpciós izotermáját határozza meg. Típusa: AUTOSORB-1, Quantachrome, NY, USA,/BME, Fizikai Kémia és Anyagtudományi T.) Az adszorbeált anyagmennyiség-relatív nyomás párok alapján különböző modellek segítségével a fajlagos felületet és a pórusméret eloszlását határoztam meg. A méréselőkészítés során a mintákat 400 °C-on, 4-5 napon át vákuumban tartottuk [29].

#### Viszkoziméter

A Synperonic A7 – víz rendszer reológiai vizsgálatát számítógép vezérelt HAAKE RS 100 típusú oszcilloviszkoziméterrel végeztük, 20 mm átmérőjű és 4° kúpszögű kúp-lap mérőfejjel. A termosztálás pontossága  $\pm 0,2$ °C volt. A minta vízveszteségének elkerülésére vízzel telített gőzteret alkalmaztunk. A mérésekhez hozzávetőlegesen 0,2 cm<sup>3</sup> térfogatú mintát használtunk fel.

### Fluoreszcens spektroszkóp

A fluoreszcens méréseket MPF-2A (Hitachi, Japan, BME, Fizikai Kémia T.), valamint LS 50 (PerkinElmer, UK, Jülichi Kutatóközpont, Jülich, D.) típusú készülékekkel végeztük, gerjesztési és emissziós spektrumokat vettünk fel. A híg liposzóma rendszert antracénnel vagy pirénnel jeleztük. A mérések során termosztálható küvettát használtunk [171].

Csillapított teljes reflexiós Fourier transzformációs infravörös spektrométer, ATR-FT-IR

A minta atomi kölcsönhatásainak vizsgálatához használtuk, a 4000 – 550 1/cm hullámszám tartományban, a gyémánt miatt a 2500 – 2000 1/cm tartomány kihagyásával. A vizes minták közvetlen módon kerültek felcsöppentésre a reflexiós feltétre. A típus: VARIAN

FTS-2000, Scimitar Series, Varian Inc. Co. USA, "GoldenGate" (Specac) feltéttel. Gyémánt reflexiós eleme  $2\times 2$  mm<sup>2</sup>, aktív felülete  $0,6\times0,6$  mm<sup>2</sup> egyszeres reflexiót biztosít. Mintatartóját termosztálhatóra módosítottuk [155].

### 4.6 Egyéb felhasznált módszerek, anyagok

### 4.6.1 Módszerek a minták előállítására

### Aktívszenek előállítása

A disszertációban szereplő aktívszeneket magam készítettem: karbonizáltam és aktiváltam. A karbonizáló és aktiváló berendezéseket magam terveztem, építettem [46,172]. A légszáraz alapanyagokat 700°C-on karbonizáltam (kitermelés ~ 20%). Az aktiválás vízgőzzel, forgó kvarcreaktorban, 900°C-on (nitrogén-vízgőz 1/1 mólarányú elegyével) történt.

#### Raney-típusú nikkel katalizátor

Az új típusú, nem pirofóros Raney-típusú nikkel katalizátort Petró József állította elő, és bocsátotta rendelkezésemre. A preparálás módja a [57,58] közleményekben található.

#### Synperonic A7–víz rendszerek

Synperonic A7–víz rendszerek preparálása a beszerzett tenzid és víz összekeverésével történt. A keveréket 50 – 60 °C-ra melegítve homogenizáltuk, majd szobahőmérsékletre visszahűtve egy hétig "pihentettük". A keveréssel bejutott levegőbuborékok eltávolítására, a homogenizálást követően a mintát alacsony fordulatszámmal (400 1/perc) 10 percig centrifugáltuk.

Lipid–víz rendszerek

A lipidet közvetlenül összemértük a megfelelő mennyiségű vízzel, vagy oldattal. Lipid keverékek (pl. DPPE/DPPG), valamint további komponensek (vendégmolekulák) hozzáadása esetében a száraz lipideket oldószerben (legtöbbször metanol-kloroform elegyében) oldottuk fel, majd az oldatot levegőn beszárítottuk. Ezután vákuum szárítószekrényben, legalább 8 órai kezeléssel, az oldószermaradékot eltávolítottuk. Végül a szükséges mennyiségű vizet, vagy oldatot adtuk a rendszerhez. Gyakori "Vortex"-szel történő rázatás mellett a mintát hősokknak kitéve homogenizáltuk. Az utóbbi művelet legalább húszszori hűtés – fűtés ismétléseiből állt (hűtés: hűtőszekrényben:4°C, vagy szárazjégen történő tárolás, 5 perc időtartam; melegítés: 50–60°C között/a lipid láncolvadási hőmérsékletétől függően emelve a hőmérsékletet, vízfürdőben, 5 perc időtartam). A vezikulákat lipidre nézve 20 tömegszázalékos koncentrációban készítettük. Speciális esetekben a részleteket a közlemények tartalmazzák.

Az unilamellás vezikulák előállítása során először a kiindulási multilamellás formát ultrahanggal kezeltük, tipikusan 20 percig, majd extrudálás következett LIPEX extruderben (Northern Lipids Inc., Kanada) polikarbonát szűrőket (Nucleopore, Whatman Inc.) alkalmazva.

A beszerzett anyagokat a továbbiakban nem tisztítottuk. Egyes esetekben szükség volt a minőség kontroljára, amit vékonyréteg kromatográfiával, vagy tömegspektrométer alkalmazásával végeztünk el.

Nyírócella

A Synperonic A7–víz rendszer "in situ" nyírásvizsgálatát saját készítésű nyíróblokkban valósítottuk meg [173]. A nyírócella elvi felépítésének vázlata, fényképe, a röntgenkamerában történő elhelyezése, valamint a fagyasztvatöréses vizsgálatok céljára készített változatának képeit a 40. ábra tartalmazza.



40. ábra A nyírócella felépítése és elhelyezése (felső sor: bal- és jobboldali képek). A nyírócella röntgenkamerában(alsó sor, bal oldal) és fagyasztvatöréshez (alsó sor, jobb oldal) alkalmazott változatainak fényképe

A nyírócella ablakai speciális 250  $\mu$ m vastag plexi (PMMA) lemezekből készültek, amelyek az alkalmazott energiájú röntgennyalábra áteresztőek voltak. Kisszögű röntgenszórásuk elhanyagolható volt. Az átvilágítható ablakrész területe 6×16 mm<sup>2</sup>, a minta vastagsága 0,5 és 2 mm közé volt állítható. A méréseknél 1 mm mintavastagságot alkalmaztunk. A mozgató elektronika időfeloldása 1 ms. Az egyik ablak állt, a másik mozgott (mint a viszkoziméter két nyírófelülete). Utóbbi út (idő) függvénye négyszögjel alakú volt, de az a mechanikai átvitel miatt a mintában közel szinuszos formátumú, így közel az oszcilloviszkoziméternek megfelelő lett. Az alkalmazott frekvencia 10 Hz volt, a mechanikai átvitel 20 – 30 Hz-ig tudta követni a digitális vezérlést. Az alkalmazott átlagos nyírási sebesség 4,2; a maximális 8 1/s volt.

#### 4.6.2 Anyagok

#### 4.6.2.1 Aktívszén

A granulált aktívszenek alapanyagai a következők voltak: papíripari cellulóz (Papíripari Kutató Intézet, Budapest, aktivált formája CEL rövidítéssel szerepel), granulált polietiléntereftalát (Qualon márkanevű, Mitsubishi, Singapore, aktivált formája PET rövidítéssel szerepel), barackmag héj (Kecskeméti Konzervgyár, aktivált formája, szabálytalan szemcsés, 1,2-2,4 mm átlagos szemcsemérettel), európai tipikus fafajták (fenyő, bükk, tölgy) törzséből vágott kockák (Mátrai Erdő és Fafeldolgozó Gazdaság, Eger, karbonizált, aktivált formái ugyanilyen névvel szerepelnek, méretre vágott kb.  $5 \times 5 \times 5,5$  mm<sup>3</sup> szabályos formákból kiindulva, aktivált állapotban kb.  $3 \times 3 \times 4$  átlagos szemcsemérettel).

#### 4.6.2.2 Nikkel katalizátor

Petró József (BME, Szerves Kémiai és Technológia Tanszék) által előállított és átadott anyag.

#### 4.6.2.3 Nemionos tenzid

A vizsgált rendszerekhez az ICI Surfactants (Wilton, Nagy-Britannia) Synperonic A7 fantázianevű etoxilált zsíralkohol-készítményét (HO-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>15-17</sub>-CH<sub>3</sub>) használtuk további tisztítás nélkül.

#### 4.6.2.4 Foszfolipidek

A vezikulák készítéséhez szükséges szintetikus lipideket (DPPC, DPPE, DPPA, DPPG, DPG) az Avanti Polar Lipids (AL, USA), vagy a NOF Corporation (Japan) cégtől szereztük be. A termékek >99% tisztaságúak. Tárolásuk -20°C-on történt. A kiegészítő egyéb anyagok, pl. a koleszterin, pufferrendszerek a Sigma (Németország) cégtől származtak. Az egyéb, hatásukban vizsgált szerek; szulfadiazin, antibiotikum-hatóanyagok forrása a megadott közleményekben szerepel.

#### 4.6.2.5 Endotoxinok

Az endotoxinokat (más néven lipopoliszacharidokat) Kocsis Béla professzor úr (Pécsi Egyetem, Általános Orvosi Kar, Mikrobiológiai és Immunológiai Intézet) bocsátotta rendelkezésünkre, vagy Oszlánczi Ágnes Ph.D. hallgató termeltette baktériumokkal és izolálta a Mikrobiológiai és Immunológiai Intézet laboratóriumában.

### 4.7 Mérési adatok feldolgozása

### 4.7.1 Szinkrotron mérések kivitelezése

Idealizált esetben a helyérzékeny detektor képpontjainak mérete és érzékenysége egyforma, azaz ugyanolyan intenzitású sugárzás a mérés véletlen hibáján belül ugyanakkora beütésszámot idéz elő. Azonban a gyártási hibák, öregedés, és főleg a nagy intenzitású röntgensugárzás károsító hatása miatt valóságban a képpontok érzékenysége nem egyforma. A képpontok érzékenység vizsgálatát a detektorra bocsátott homogén sugárzás alkalmazásával a mérés előtt kell elvégezni (mi esetünkben ez alól kivételt képez a DESY/HASYLAB, B1-es mérőhelye, ahol a gyártó cég által előre kalibrált PILATUS detektor van felszerelve 2009 óta). Erre a célra legmegfelelőbb – a mérés energiatartományának és geometriájának figyelembevételével – egy fémfólia, amelynek izotrop fluoreszcens sugárzását lehet felhasználni. Egyetlen szórási kép felvétele is egy mérési sorozatból ún. *mérési szekvenciából* áll, ami tartalmazza az üres nyaláb szórásának, a referencia szórásának, a referencia transzmissziójának, a minta transzmissziójának és végül a minta szórásának meghatározását. A referencia mérése biztosítja, hogy annak ismert és abszolút egységekben kalibrált szórása alapján a minta szórását abszolút egységekben fejezzük ki (intenzitás kalibráció). E mellett szabályos rétegrácsú minta, pl. ezüst-behenát vagy ezüst-sztearát mérésével (a Bragg egyenlet felhasználásával) a *q* kalibráció végezhető el. Az abszolút egységekbe történő átszámításhoz szükség van a referencia és a minta transzmissziójának (azaz abszorpciójának) pontos ismeretére (gyakorlati kivitelezését a 4.1.4 pontban ismertettem). A foton kölcsönhatása az anyaggal a foton eltűnésével és energiacsökkenésével jár együtt. Ennek az a következménye, hogy a minta jelenlétében és annak vastagságának növelésével (általában bárminemű változtatásával, a mintatartó cseréjével) a detektorban a beütések száma kisebb, mint a minta nélkül mérhető érték (primer fluxus). A minta abszorpcióját a Lambert-Beer törvény írja le, amelynek alapján  $I(D) = I(D=0) \cdot e^{-\mu D}$  összefüggés áll fenn, ahol I(D=0) és I(D) a minta előtt és a minta után mérhető intenzitás,  $\mu$  pedig a minta lineáris abszorpciós tényezője. A minta abszorpciójának mérésére különösen az ASAXS mérések esetében kell nagy gondot fordítani. Az abszorpció szempontjából további nagy jelentősége van a különböző mintatartóknak. A mintatartók, annak "röntgenablakának" optimális kiválasztása alapvetően meghatározza az anomális mérések eredményességét.

### 4.7.2 A mérési adatok számítógépes feldolgozása

Az elméleti bevezető (3) összefüggése alapján az intenzitás kifejezése hosszúság-négyzet dimenziójú. Abból a meggondolásból, hogy fajlagos értéket kapjunk, az abszolút intenzitás értékét a vizsgált szóróközeg (átvilágított) térfogatával kell elosztani. Az így nyert "fajlagos abszolút intenzitás" (pontosan: "fajlagos differenciális szórási hatáskeresztmetszet", amit  $d\sigma/d\Omega$ -val szokás jelölni) dimenziója inverz hosszúság (tipikusan cm<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup>=1/cm). Régebben szokás volt még térfogati elektron egységekben<sup>10</sup> is kifejezni (tipikusan elektron/Å<sup>3</sup>, ami 0,0795 1/cm-nek felel meg), azaz megmondani, hogy a fajlagos intenzitás a szabad elektron szórási hatáskeresztmetszetének hányszorosa. A mérési gyakorlatban a szórási intenzitás legegyszerűbben ún. relatív egységekben mérhető (például másodpercenkénti beütésszám), amely az elméleti, abszolút intenzitásértéktől egy ismeretlen szorzótényezőben különbözik. Ez függ a mérés körülményeitől (mérési idő, detektor kvantumhatásfoka, a röntgennyaláb által bevilágított mintakeresztmetszet, a nyaláb fluxusa, a minta vastagsága stb.). Fejlettebb kisszögű röntgenszórási berendezéseknél lehetőség nyílik a mért intenzitásértékek abszolút skálára történő átszámítására, azaz az ismeretlen szorzótényező meghatározására. Ennek módja, hogy az előbb említett valamennyi tényezőt külön-külön, pontosan megmérik. Egyszerűbb és praktikusabb esetben ismert abszolút intenzitású kalibrációs minta párhuzamos, ugyanolyan körülmények közötti mérésével határozzák meg az ismeretlen tényezőt. Mi ez utóbbi módszert használtuk. Ilyen "másodlagos" kalibrációs minta lehet a víz, melynek szórt intenzitása elméleti számítások alapján meghatározható, valamint a szénnek kontrollált módon előállított amorf módosulata ("glassy carbon"), melynek abszolút intenzitását az első módon vagy víz segítségével határozzák meg (korábban a kisszögű gyakorlatban elterjedt volt a Kratky professzor intézete által terjesztett "Lupolen"). Mi méréseinkben a "glassy carbont" használtuk.

A mérőállomás saját kiértékelő programját bocsátja rendelkezésre, amely a kétdimenziós szórási/diffrakciós kép intenzitás-mátrixát és annak radiális változatát (abszolút egységben) állítja elő. A rutinprogram javításában, fejlesztésében és kiegészítésében aktív módon csoportunk is részt vesz (Drucker Tamás Ph.D. dolgozat 2005., Wacha András munkája 2007-től).

A disszertációban szereplő az adszorpciós adatok kiértékelésére és a vezikulákra vonatkozó modell-számításokat végző programokat kezdetben Q-BASIC, GW-BASIC (kisebb részben PASCAL) nyelveken írtam és azokat 2000-ig használtam, majd áttértem a C

<sup>10</sup> kisszögű tartomány esetében érvényes  $d\sigma/d\Omega = r_0^2 I_{elektronunit}(q)$  összefüggésnek megfelelően

(Varga Zoltán iniciálására C++) programozási nyelvekre. A legutóbbi időben – Wacha András segítségével – a Python nyelv alkalmazásába kezdtem.

## 5 Eredmények

### 5.1 Szemcsés rendszerek

### 5.1.1 Aktívszenek vázszerkezetének összehasonlító vizsgálata

Aktívszenek esetében a mátrix és a pórusszerkezet közötti összefüggések tanulmányozására olyan anyagokat célszerű választani, amelyeket ipari előállításra is felhasználnak. Emellett a környezetvédelmi szempontokat is figyelembe véve, a növényi eredetű és a különböző műanyagféleségeket érdemes vizsgálni. Két, tiszta formában is elérhető nyersanyagból előállított mintát tanulmányoztam, növényi (papírgyártásra felhasznált cellulózrost, amelyre a továbbiakban "CEL"-ként utalok) és polimer (polietilén-tereftalát műanyag alapanyag, 4-5 mm-es granulátum, továbbiakban "PET") eredetű aktívszeneket [29]. A két minta eltérő textúráját alagút-mikroszkópos képeken figyelhetjük meg (41. ábra). A PET minta nagyméretű, hosszúkás, méretében karakterisztikus anizotrop egységeket tartalmaz. Az egységek átmérője közelítőleg 100 nm, hossza közelítőleg 500 nm. Az egységek egymással párhuzamosan, szorosan illeszkednek. Az egységeken belül hosszanti lefutású finomabb tagozódást figyelhetünk meg, amelynek vastagsága 20 - 30 nm-re becsülhető. Valószínű, hogy a hosszúkás szerkezeti egységek a lineáris láncú polietiléntereftalát kokszosodási folyamata során kialakult térformáknak felel meg. A CEL aktívszén szintén anizotrop, kb. 100 nm vastag egységekből áll, de a PET-tel ellentétben az egységek hossza nagyon különböző. A CEL egységei laza, szabálytalan szövedéket alkotnak, ami a kiindulási anyag összetett, növényi textúrájának következménye. Az egységeken, a PET-hez hasonlóan, 20 – 30 nm hosszanti lefutású mintázatot figyelhetünk meg.



41. ábra Polietilén-tereftalát polimerből (PET) és cellulózrostból (CEL) előállított aktívszén szemcsék felületi morfológiája pásztázó alagút mikroszkópiával (STM) nyert felvételek alapján (PET:bal, CEL:jobboldali kép)

A minták 40 µm alá őrölt porának erős kisszögű szórása van, ami a kolloidtartományú elektronsűrűség inhomogenitásokból származik (a szénvázra közel a grafiténak, a pórusokra

közel a levegőnek megfelelő zérus elektronsűrűség a jellemző, utalva a 11. ábra segítségével bemutatott sémára). A kisszögű szórási görbéket a 42. ábra mutatja. A PET és a CEL minták kisszögű szórási görbéinek alakja lényegesen különbözik. A szórási görbék kifutási szakaszából meghatározott felületi fraktál dimenziók csak kis mértékben különböznek. A PET minta esetében  $Ds=2,05\pm0,1$ , a CEL minta esetében  $Ds=2,11\pm0,1$ , közel van az euklideszi geometria dimenziójához, azaz a minták felülete nem tagolt, simának tekinthető. Ezzel szemben, a szórási görbék középső szakaszából számolt, a minta felépítettségére jellemző tömegfraktál dimenziók lényegesen különböznek. A PET mintára Dm= 1,26±0,1, a CEL -re vonatkozóan Dm=2,76±0,1. Ezek a dimenzió értékek határozottan jelzik a minták szerkezeti egységeinek eltérő pakolódását. A PET-ben a szerkezeti egységek láncszerűen, a CEL mintában szorosan és rendezetlen módon helyezkednek el, ami összhangban van az alagútmikroszkóppal nyert, direkt képi információval. A 42. ábrán megfigyelhető, hogy mindkét szórási görbe kezdeti tartományában enyhe görbület van. Ezekből a görbületi szakaszokból – a Shull és Roess által levezetett egyenletek felhasználásával – számolt Maxwell típusú eloszlásokkal jellemeztem a kétféle szén szerkezeti egységeinek méreteloszlását [38].



42. ábra A PET és CEL minták kisszögű szórása (baloldali ábra), valamint Shull és Roess módszere [38] alapján a görbületi tartományokból nyert egyenesek feltüntetése (jobboldali ábra). CEL esetében 1, PET esetében 2 db illeszthető tartomány van.

A mérettartományból kiszámított Guinier-féle sugárra vonatkozó sűrűségfüggvényeket a 43. ábrán mutatom be. Felhasználva az alagút mikroszkópia (STM) felvételek információját, azaz feltételezve, hogy mindkét mintában a nagyméretű szóróegységek átmérőjéhez képest hosszú cilinder alakú formák vannak jelen, ezek átmérőjére  $D_{cilinder}=2R_{cilinder}=2\cdot\sqrt{(4/3)}\cdot R_G=90$  nm (PET), ill. 116 nm (CEL) értékeket határoztam meg.



43. ábra A PET és CEL szóróegységeinek halmazából álló domének méreteloszlása

Visszatérve a 42. ábrán bemutatott szórásgörbék eltérő alakjára, a PET minta esetében a q=0,5-5 1/nm tartományban egy második elhajlás ("könyök") figyelhető meg, ami az előzőekben leírt szórási egységeknél lényegesen kisebb szórási egységek jelenlétére utal. Ezeket a szórási egységeket az STM módszer felhasználásával (nagyobb nagyítással) figyelhettük meg, ahogy azt a 44. ábra mutatja. Shull és Roess módszerét alkalmazva, Maxwell típusú eloszlást feltételezve a 44. ábrán bemutatott eredményt kaptam. A PET karakterisztikus szerkezeti egységeinek átlagos átmérőjére 2,0 nm. Az eloszlással jellemzett heterodiszperz jelleg a mellékelt pásztázó alagút mikroszkópi (STM) kép alapján megfelelően tükröződik. A szerkezeti egység pontosan ugyanaz, mint a bevezetőben szereplő Hirsch-féle elképzelés alapján adódik, amit a 9. és a 10. ábra illusztrál. Az előzőekben a kisszögű szórással jellemzett és a tömegfraktál dimenziója alapján számszerűsített, szerkezeti egységek laza, láncszerű pakolódása figyelhető meg, a 10. ábrával összhangban. A PET és CEL aktívszenekéhez hasonló szerkezetet állapítottak meg Setoyama és munkatársai aktivált szurok-alapú szénszálakban [28]. A mi vizsgálatunk esetében az számított újdonságnak, hogy a kisszögű szórási eredmények alapján a PET aktívszénben eltérő méretskálán kétféle, míg a CEL aktívszénben egyféle karakterisztikus szerkezeti egység jelenlétét mutattuk ki és ezeket az eredményeket független módszerrel, a pásztázó alagútmikroszkópiával is megerősítettük. A különböző alapanyagokból származó, a szerkezeti paraméterek értékeit tekintve hasonló eredmények azt a következtetést erősítik meg, hogy az aktívszenek finomszerkezete hasonló, a különbségek nagyobb méretskálán jelentkeznek.

A PET és CEL aktívszenek szerkezeti és morfológiai különbségei az adszorpciós tulajdonságokban is megmutatkoznak. A PET mintában a nitrogén mennyiségének 93 %-a, a CEL-ben 58 %-a adszorbeálódik a kisnyomású tartományban (p/p<sub>0</sub><0,2), jelezve, hogy a PET pórusai döntően mikropórusok, míg a CEL mintának jellemzően nagyobb méretű pórusai vannak. Az izoterma kezdeti szakaszának pontpárjaiból a kéttagú Dubinin-Radushkevich egyenlet alapján, bimodális mikropórus-eloszlást határoztam meg [26].


44. ábra A PET minta kisszögű szórással értelmezett szerkezeti épitőelemeinek méreteloszlása és annak megfigyelése pásztázó alagút mikroszkóppal

A pórusméretek és a karakterisztikus adszorpciós energiák a két mintában hasonlóak, ami a két minta mikropórus-rendszerének, valamint a szénváz felületi kémiai karakterének hasonlóságát mutatja. A gázadszorpciós adatok alapján számított fajlagos felületi értékeket és pórusméreteket a kisszögű szórásból származó adatokkal együtt az 1. táblázatban összesítem. *1. táblázat* 

minta	P(-)	l <sub>c</sub> (nm)	l <sub>m</sub> (nm)	l <sub>p</sub> (nm)	$S_X(m^2/g)$	$S_{BET}(m^2/g)$
PET	0,55	1,51	0,70	0,86	2768	1190
CEL	0,42	3,57	2,43	1,76	824	760

A kisszögű szórással nyert inhomogenitás-távolságok a PET mátrixában 0,7 nm, pórusrendszerében 0,86 nm. Ezek a szerkezeti jellemzők a CEL minta esetében 2,43 nm a vázra, 1,76 nm a pórusokra vonatkozóan. Emlékeztetek a 11. ábra tanulságára, amely alapján az átlagos pórusfal a PET mintában vékony, – a tömegfraktál értéke szerint a szóróegységek felszabdalt hálózata alkotja - tehát várhatóan nagy fajlagos felület adódik. A CEL mintában mind a pórusfal, mind az átlagos pórusméret nagyobb érték, valószínűsíthető, hogy krisztallitcsoportok együttese alkotja a szénváz falát, és a pórusok átlagos mérete a kiégett krisztallitcsoportok nagyobb mérete miatt szintén nagyobb. A koherencia-távolságok alapján is hasonló következtetések vonhatók le a szénváz felépítésére vonatkozóan. A PET aktívszén mátrixa tagoltabb, az összefüggő doménméret kisebb (1,5 nm), mint a CEL aktívszénben (3,6 nm). Hangsúlyoznom kell az adszorpciós és a röntgenes módszerek különbségeit, amelyek közül a leglényegesebb, hogy az utóbbi az anyag minden részéről, a szondázó molekuláktól elzárt belső részekről is hordoz információt. Ennek következtében a kisszögű röntgenszórás alapján meghatározott fajlagos felületi érték nagyobb, mint a gázadszorpciós módszerrel meghatározott érték. Arra nézve nem rendelkezünk információval, hogy az aktiválással kinyitott részek és a szénmátrix belsejének szerkezete milyen mértékben különbözik. Ezért

tartom lényegesnek a szisztematikus, az aktívszén kialakulásának és formálódásának minden lépésénél történő összehasonlító adszorpciós és szerkezetvizsgálatokat. A PET minta kémiai összetétele szempontjából egységes, "tiszta" szén. Szerkezeti felépítését tekintve is egységes képet mutat. Monoform, gömb alakkal közelíthető krisztallitokból felépülő szénváza van. Szerkezeti egységeinek (krisztallitjainak) és mikropórusainak mérete hasonló, azaz a szerkezeti elemek mérete meghatározza az aktiválás során kialakuló mikropórusok méretét. Korábban nagytisztaságú, növényi anyagokból (cellulóz, barackmaghéj), polimerekből (PET, PAN=poliakrilnitril) valamint egyéb hulladékanyagokból előállított aktívszeneket tanulmányozva, ugyanerre a következtetésre jutottam [29,30,43,47,174,175].

A PET aktívszén tanulmányozása során nyert tapasztalatokból kiindulva az aktívszén vázszerkezetét gömbökből álló sokasággal modelleztem (45. ábra) [176]. A modell-elképzelés igazolására az összeállított szerkezet kisszögű szórási görbéjét kiszámítottuk és a kapott szórási görbéket reális rendszerek szórási görbéivel hasonlítottam össze. A modell valóságtartalma az, hogy az aktiváló ágens kívülről befelé haladva "fogyasztja"(=gázosítja) a krisztallitok kezdetben kompakt halmazát. A halmaz külső héj régiója kisebb méretű krisztallitokat tartalmaz (amelyek az aktiválási folyamat korábbi fázisában nagyobb krisztallitok elgázosodásával keletkeztek, vagy a szomszédos krisztallithalmaz részei voltak), a közbülső nagyobb, míg legbelül a "lezárt" kompakt mag a legnagyobb méretű krisztallit (ide az aktiváló ágens nem jut el, ezért a hőhatás következtében méretnövekedés következik be). A krisztallit egységek méreteloszlását is beépítettem (az 50 %-os konverzióval járó aktiválás során nyert termékre meghatározott Maxwell típusú sűrűségfüggvényt használtam fel). Minden krisztallithalmaz 12-18 darab gömböt tartalmaz és a gömbök sugara követi a valós rendszer szórási adataiból számolt eloszlást. A 45. ábra mutatja a krisztallithalmaz felépítését.



45. ábra Gömbökből álló krisztallithalmaz az aktívszén szerkezeti modellezésére

A krisztallithalmazok felépítésénél, valamint a krisztallithalmazok egymáshoz történő illesztésénél előre rögzített szabályokat alkalmazva különböző tömörségű és anizotrópiájú szerkezeteket hozhatunk létre. A 46. ábra mutatja a láncszerű egységekből álló laza, a

krisztallitok halmazából álló tömör, valamint azok közötti átmeneti formák fokozatait. 15-30 db krisztallithalmazból áll egy nagyobb egység (a 45. ábra bal oldalán bemutatott képnek megfelelően). Egy adott építkezési szabály betartásával ezekből 10 – 20 darabot raktunk össze, és ezt független módon 100 - 200-szor elvégeztük. (Egy adott építkezési szabály alapján hasonló, de nem azonos formák keletkeztek.) Egy – egy építkezési szabály eredményezett egy – egy típust: laza (láncszerű) formáktól a tömör formákig úgy, ahogy azt a 46. ábra jobb oldalán lévő alakzatok típusai mutatják). Az ábrán a 100 – 200 darabból természetesen csak egy - egy van feltüntetve. A Debye formula (18) felhasználásával (az anizotrop nagyobb egységek a por állagú mintában, térben rendezetlenül helyezkednek el, a szórási kép izotrop, tehát "egydimenziós" detektor használata megfelel) kiszámítottuk ezen típusok kisszögű szórási görbéit, amelyeket szintén a 46. ábra mutat. A számítás azon a feltételezésen alapult, hogy a kb. 500 – 1000 Å kiterjedésű "nagy-egységek" szórása a jellemző, így az azok közötti korreláció szórási járulékát elhanyagoltuk. A kisszögű görbék és a morfológiai típusok együttes bemutatásával azok kapcsolatát kívánom hangsúlyozni. A szórási görbék hasonló számú elemi gömb (krisztallit) szórásából adódnak, csak a krisztallithalmazok típusában illetve azok kapcsolódásában különböznek. A görbe "simasága" attól függ, hogy elég nagyszámú alakzat szórását összegeztük-e (a modellszerkezet szórásának összegezésével az egyes "építmények" finomszerkezete kiátlagolódik). A szórási görbékre a szórási változó q = 0,1 és 2 1/nm intervallumában egyeneseket illesztettünk és azokat, mint tömegfraktál-dimenziókat interpretáltuk. A modellszámítással az volt a célunk, hogy az aktívszenek esetében közvetlenül, a kisszögű szórás alapján relatíve egyszerűen dimenziók változásához krisztallithalmaz meghatározható tömegfraktál krisztallit, kapcsolatokat, azaz egyfajta morfológiai képet társítsunk. A számítást inspiráló barackmaghéjból készített aktívszén kisszögű szórással meghatározott tömegfraktáldimenziója 2.37+/- 0.1, ami közel esik a 46. ábra segítségével bemutatott kompakt morfológia dimenziójához. A modellszámítás során felépített másik véglet, a krisztallitok láncszerű elhelyezkedése pedig a korábban jellemzett PET alapú aktívszén morfológiáját közelíti, és szórását jellemzi.



46. ábra Gömbökből kirakott modellek számított kisszögű görbéi, valamint egy-egy szerkezeti típus reprezentánsai. A felépített típusok a gömb szerkezeti egységeinek különböző pakolódási formáit testesítik meg, a laza formától a kompaktabb formáig (felülről lefelé haladva). A szórásgörbék kezdeti és középső tartományában illesztett egyenesek (piros vonalak) meredeksége adja a tömegfraktál dimenzióját, ami növekszik a tömörebb forma felé haladva.

A bükkből, a tölgyből és a lucfenyőből készített fakockákban karbonizálás és aktiválás után is felismerhető a szálirány és az évgyűrűk mintázata, amit a pásztázó elektronmikroszkóp (SEM) felvételek jól mutatnak. A 47. ábrán az aktivált fenyő és tölgy kockákat mutatom be.



47. ábra A fenyőfából (bal oldal) és tölgyből (jobb oldal) készített, kocka alakú aktívszén darabok. A pásztázó elektronmikroszkópal (SEM) készített fényképen felismerhető az edénynyalábok lefutása és az évgyűrűk mintázata

Nagyobb nagyítást használva a további felvételeken a fafajtákra, azok szállító edénynyalábjainak alakjára jellemző sajátságokat ismerhetünk fel. A 48. ábra alapján a szálirányra merőlegesen vágott szeletek pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) fényképeit mutatom be (a megfigyelési irány a száliránnyal párhuzamos).



48. ábra Különböző fafajtákból származó, aktivált fakockák morfológiája (pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételek)

Az aktívszén kockákból a száliránnyal párhuzamosan és a szálirányra merőlegesen is 1 mm vastag lapokat vágtam (49. *ábra*). A lapokat kétféle elrendezésben világítottam át röntgennyalábbal; a szálirányra merőlegesen és a száliránnyal párhuzamosan. A kétféle megvilágítás különböző szórási kép megjelenésével jár, amelyeket a 50. ábra szemléltet [177].



49. ábra A kétdimenziós szórási képhez felhasznált minták eredete: a karbonizált, aktivált fakockákból az edénynyalábbal párhuzamosan és merőlegesen kivágott lapocskák

A különbség a fafajták szerkezeti sajátságaival indokolható. Az anizotrópia az aktiválási idő növelésével csökken, és 50 %-os konverziót megközelítő és annál nagyobb mértékű aktiválásokat követően megszűnik.



50. ábra A fenyő-, a bükk- és a tölgyeredetű karbonizált szenek szórási képe (a merőleges és párhuzamos irányok a röntgensugár és a szálirányirányok helyzetét fejezik ki)

Szignifikáns anizotrópia a röntgensugárnak a szálirányra merőleges helyzetében figyelhető meg. (50. ábra felső sora). A fenyő minta karbonizált egységeinek hosszirányú elrendezettsége tűnik szembe. A primer nyalábfogó által kitakart és ennek megfelelően mérhető minimális "q" értéktől a detektor mérete által meghatározott maximális "q" értékig terjedő tartományban, 1°-os nyílású körcikknek megfelelő intervallumokban radiálisan összegeztük az intenzitást, így azimutális görbét ( $I(\Phi)$ ) nyertünk. A kis szórási szögeknél két irányban volt maximális és négy irányban volt minimális az intenzitás (ahogy ez a detektorképeken a 50. ábrán közvetlenül látszik). A minimális és maximális intenzitású szórásgörbéket az 51. ábra segítségével mutatom be (mégpedig a különböző aktiválási fokoknál; a 0 perchez (ez a kiindulási, karbonizált állapot, a 50. ábra felső során látható szórási képből számítva), a 15, valamint 90 perchez tartozó állapotoknak megfelelőket (a további aktiválási időkhöz tartozó 2D szórási képek közleményünkben szerepelnek [177,178]).



51. ábra Az aktiválás hatására történő anizotrópia-csökkenés bemutatása a 2D szórási kép szűk kör-cikkeihez tartozó radiális, minimális (kék szimbólum) és maximális (zöld szimbólum) intenzitás görbék alapján (a háromféle fa, és aktiválási idő eseteiben)

Az utóbbi ábrán az anizotrópiát két irányhoz (nem feltétlenül 90°) tartozó nagyobb és kisebb értéket mutató intenzitásgörbék különbsége jelzi. A görbék egybeesése az anizotrópia megszűnését mutatja. A görbék hasonlósága 90 perces aktiválás után a bükk és a tölgy eredetű minták esetében nagymértékű, a fenyő esetében kismértékű eltérés látható. Kb. 60 perc aktiválás tekinthető átlagos határértéknek, amelynél az anizotrópia megszűnik. A szórási képnek a fenyő alapú aktívszén és párhuzamos irányú átvilágítás esetében van egy jellegzetessége: a szórási képek nem elliptikus, sem rombusz alakúak, hanem keresztirányúak.

Feltételezem, hogy a mintában egymásra merőlegesen a hosszirányú elrendeződés mellett, keresztirányú részleges orientáció is létezik, ami a hosszirányú rostokat összetartó szerkezeti elemekből származik. Ezek szórása jelenik meg a detektoron.

Az aktívszén-kockákon összehasonlító röntgen- és adszorpciós méréseket végeztünk. A nitrogén-gőz adszorpciós izoterma kezdeti szakaszának pontpárjaiból a kéttagú Dubinin-Radushkevich egyenlet alapján, bimodális mikropórus-eloszlást határoztam meg. A pórusok mérete (a jellemző átlag-pórusátmérővel megadva) a konverzió növekedésével a 0,6 nm-ről 1,0 nm -re változott (a végső 90 perc aktiválási időt tekintve). A fafajtákra nézve nincs lényeges különbség. (Megjegyzem, hogy bármelyik más elterjedt modellszámítás ("Horváth-Kawazoe", vagy a "Polymodal" póruseloszlási modell) alapján ugyanez a tendencia lenne várható.) A szórásgörbék q = 1 - 10 (1/nm) szórásváltozó tartományában elhajlás "könyök" jelentkezik, ami alapján a Shull és Roess módszerét alkalmazva, Maxwell típusú eloszlást feltételezve, a szóróegységekre vonatkozóan a Guinier sugár eloszlását határoztuk meg. Átlagérték  $R_G=0.5$  nm, ami gömbalak esetében  $D = 2 \cdot \sqrt{5/3}R_G = 1.29$  nm. Fafajtánként az értékek eltérése nem jelentős. A tendencia viszont mindhárom esetben ugyanaz: az aktiválási idő (konverzió) növelésével a Guinier rádiusz és ennek megfelelően gömbalak feltételezésével a szerkezeti egységek mérete is nő. A szerkezeti egységek és a közöttük lévő pórusok mérete korrelál, hasonlóan a más aktívszénre, igazolva két évtizede tett megállapításomat [47,178,179]. Felmerül a gondolat, a kisszögű szórás általánosan ismert ún. "Babinet" elvének figyelembevételére [6,152]. Mit fejez ki a Guinier sugár? Lehet-e az a szénvázban lévő lyukak (pórusok) jellemzője? Az aktívszén szerkezetéről nyert információk alapján a szénváz felépítettsége hierarchikus jellegű, a szerkezeti (kompakt) egységek direkt mikroszkópos módon is megfigyelhetők. A 10. ábra segítségével vázolt kép elfogadható, annak alapján a szerkezeti egységekből felépített modell a gyakorlatban megfigyelhető tendenciákat értelmez. A pórusrendszer ezzel szemben összefüggő, és az lehatárolt, "gömbszerű" térelemek sokaságaként nehezen elképzelhető. Az aktívszenek pórusrendszerére vonatkozó vizsgálatokat kiterjesztettük. Az adszorpciós-deszorpciós folyamatok dinamikus jellegének tanulmányozását frekvencia-válasz (FR) technikákkal egészítettük ki. A három fafajtából előállított aktívszenek szénvázára alacsony diffúziós transzportellenállás volt a jellemző [180]. Ez nem meglepő, ha a minták SEM képeire utalok. A  $\sim 3 \times 3 \times 4 \text{ mm}^3$  térfogatú kockák felszínére nyíló edénynyalábokat (a kocka mindkét oldalán) eltömítve, a FR jelek drasztikusan csökkentek (még jelentős aktiválási konverzió mellett is), minimális keresztirányú transzportot jelezve. Ez az eredmény arra utalt, hogy lehetséges olyan aktiválás,

ami a vázszerkezet kritikus mértékű szétesésével jár, és bizonyos méret alatti molekulák keresztirányú diffúzióját lehetővé teszi. Ilyen meggondolás alapján javasoltam, (az ebből a célból optimális mértékben aktivált) anizotrop sajátságú aktívszén-töltetek gázelegyek szétválasztására történő felhasználását. A vizsgálatokat Onyestyák Gy. és munkatársai elvégezték, és megállapították, hogy levegő esetén nitrogén-oxigén szétválasztása, ugyan korlátozott mértékben, de megvalósítható [180–182].

A 45. és a 46. ábra alapján kézenfekvő gömb alakú szerkezeti egységekből felépíteni az aktívszén anizotrop szénvázát és annak szórási képét kiszámítani. A megfigyelt anizotrópia valós térbeni kiterjedése (a legkisebb detektálható szórási szög alapján) 100 nm, ezért a modell-leírás az előzőekkel szemben lényegesen durvább: 15 db gömbből<sup>11</sup> felépülő halmazokat és azok sokaságából álló "nagy-egységet" tartalmaz.

A "nagy-egységek" felépítésének gondolatát atomerő mikroszkóppal (AFM) nyert megfigyelések adták. Mindhárom fafajta 20 – 50 nm-nél nagyobb kiterjedésű, hosszúkás, forgási ellipszoidra hasonló "nagy-egységekből" áll. Az előzőekben ismertetett SAXS eredmények alapján ezek a "nagy-egységek" 0,5 nm Guinier sugarú elemi egységekből állnak. A három fafajta AFM felvételeit az 52. ábrán mutatom be.



52. ábra Bükk, tölgy, és fenyő eredetű aktívszenek morfológiája, atomerő mikroszkóppal megfigyelve. A szénvázban az elemi krisztallitok méretéhez (~1nm) képest lényegesen nagyobb kiterjedésű anizotrop "nagy-egységek" figyelhetők meg.

A számítás során az építkezési szabályok alapján kirakott gömbök térbeli pozícióját ismerve, a "pre"-Debye formula<sup>12</sup> alapján számítottuk ki a kétdimenziós képet [183]. Az eljárást 7-13-szor megismételve a szórási képeket összegeztük. A modell alapján kirakott "erősen" anizotrop és izotrop formák egy-egy típusát és azok sokaságának kétdimenziós szórását az 53. ábra mutatja be.

<sup>&</sup>lt;sup>11</sup> A gömbök sugara, valamint a polidiszperz jelleg megtartásához a gömb sugarának "szórása" paraméterként beállítható.)

<sup>&</sup>lt;sup>12</sup> 16. összefüggés, amihez az 5. és 6. ábra magyarázatát fűztem

A kétdimenziós szórási kép számítását a számunkra elérhető szinkrotron állomás, a JUSIFA kisszögű berendezés detektorához illesztettük, ahol 256×256 pixel van és ennek megfelelően a számítási idő kényszerítette ki a modell durvítását, azaz a szerkezeti egységek méretnövelését (256<sup>2</sup> = 65536 db  $I(\vec{q})$  adatpár, lényegesen nagyobb, mint a 46. ábra szórási görbéinél, ahol 200 db I(q) adatpár van).



53. ábra A szerkezet és szórási kép kapcsolata: anizotrop és kevésbé anizotrop szerkezetek és azok szórási képei

Az anizotrop forma egységei közel rúd alakúak (az alkalmazott építkezési szabálynak megfelelően a gömbök rudat formálnak, és azok sokaságában 1500 gömb (100 db rúd, minden rúdban 15 gömb, így összesen 1500 gömb). Minden egyes rúdalak a direktor mentén 15°-kal maximált kúpszögben állt be. Az izotrop térformát az egységek rúdalakjának torzításával <sup>13</sup> állítottuk be. Ennek hatására a szórási kép anizotrop jellege drasztikusan csökkent. A modellszámítás alapján a fenyő anizotrop szerkezetét tudtuk rekonstruálni. Modellszámításunkban az aktiválás hatását a gömbök, a konverziónak megfelelő mértékű elhagyásával vettük figyelembe. Ez úgy történt, hogy a szerkezet felépítése után a gömbök egy részét kivettük, a konverziónak megfelelő darabszámban, így a pórustérfogat arányának növekedésével, lazább szerkezet jött létre. Az egységek (rudak) irányának korrelációja csökkent és izotrop szórási kép alakult ki. Az alapul vett modell-szerkezetek egy-egy példányát és azok eseteinek számított és összegzett kétdimenziós szórási képeit az 54. ábra mutatja.

<sup>&</sup>lt;sup>13</sup> a gömbi alapegységek méreteloszlásának szélesítésével



54. ábra Az aktiválás hatása a szerkezetre és a szórási képre: felső sor: 15%-os kiégés, alsó sor: 50%-os kiégés

A karbonizált (alacsony konverzió hányad) és aktivált (magas konverzió hányad, ~50%os kiégés) fenyő mért szórási képének beillesztésével modellelképzeléseink realitását szándékoztam igazolni. A természetes növényi eredetű és polimerekből készített aktívszenek anizotrop sajátságaiban mutatkozó lehetőségek még nincsenek kihasználva, ennek felismerése adott jelentőséget munkánknak [178,179].

#### ÖSSZEGZÉS:

Az aktívszén szénváza anizotrop, amelynek jellemzésére 1 nm átmérőjű gömbökből használtunk. felépített szerkezeti modellt Az aktívszén szerkezeti jellemzőitől elvonatkoztatva, a modellszámításokat más rendszerekre is tudjuk alkalmazni. Például polimerek, polielektrolitok esetére is hasznosítható tapasztalatokat szereztünk. Biológiai rendszereket tekintve fehérje oldatok kisszögű röntgenvizsgálatánál hasonló modellrendszereket használnak: gömb alakú egységekből felépített halmazok szórásával közelítik a valós szórási görbét [8]. A gömbökből kirakott halmazok alakja közelíti és jellemzi a fehérjék adott közegben vizsgált konformációját.

# 5.1.2 Nem pirofóros Raney-nikkel katalizátor szemcsék nanorészecskéinek szerkezeti jellemzése

A Petró József (BME/Szerves Kémiai Intézet) által 2000-ben előállított új típusú, nem pirofóros, alumínium-oxid hordozós, Raney-típusú katalizátor összetett rendszer, ezért kisszögű szórása is több komponensre bontható. A katalitikus hatás szempontjából meghatározó nikkel komponens részecskéinek jellemzése a katalizátor minősítését és előállításának kontroll-lehetősségét biztosítja. A nikkel nanorészecskék szelektív vizsgálatát

az anomális kisszögű röntgenszórás módszerének felhasználásával végeztük el szinkrotron állomásnál telepített kisszögű berendezéssel (JUSIFA, DESY/HASYLAB). A mérések energiájának kijelöléséhez tiszta (99,99%) nikkel fólia lineáris abszorpciós együtthatóinak ( $\mu$ ) energiafüggését határoztuk meg (az ábrákon a szokásos ábrázolási módnak megfelelően  $,\mu D^{\prime\prime}$ , az együttható és a mintavastagság szorzata szerepel). Az energiák kijelölésénél (minden anomális mérés esetén) három fő szempont játszik szerepet: a kontraszthatásban meghatározó f' változását lehetőleg azonos arányban osszuk be, az élhez közeli választott legnagyobb energia 2 – 4 eV-tal kisebb legyen, mint az él energiája (a rezonáns Raman sugárzásból eredő háttér csökkentése szempontjából), a választott legkisebb és az él energiáinak különbsége ne haladja meg a 300 - 500 eV-ot (az abszorpció méréséből származó hiba csökkentése szempontjából). Az anomális kisszögű röntgenszórás méréseket (a továbbiakban a módszert ASAXS szimbólummal jelölve) 8037, 8323 és 8332 eV-on végeztük. A nikkel abszorpciós éle 8333 eV. Az abszorpciós mérést a mintával is el kell végezni. Amennyiben a minta nikkel tartalmának kémiai kötésviszonyai módosulnak a tiszta fémes nikkelhez képest, akkor a minta abszorpciós éle eltolódik, amit "kémiai eltolódásnak" neveznek. A mi ASAXS méréseink során a vizsgált elemekre vonatkozóan az eltolódás pozitív és értéke 0 - 10 eV közé esett. A mérésnek ez a része kísérletileg megegyezik egy röntgen abszorpciós (X-ray Absorption Near Edge Structure, XANES) méréssel. Az 55. ábra mutatja a mért abszorpciós görbéket, amelynek eltérése a katalizátor nikkel és a fém nikkel kémiai állapotainak különbségét jelzi, valamint indoklással szolgál a tiszta nikkel fólia éléhez közeli 8332 eV mérési pont választásához.



55. ábra A fém nikkel fólia (mint energia kalibrációs anyag) és a Raney-nikkel katalizátor abszorpciós görbéje<sup>14</sup>.

Az anomális f' és f'' faktorok energiafüggését Cromer és Liberman alapcikke alapján, az 56. ábra mutatja be [184]. A komplex atomszórási faktor f' és f'' valós és képzetes része

<sup>&</sup>lt;sup>14</sup> μD dimenziótlan. A nikkel fólia vastagságának változtatásával a μD =1 körüli "ideális" eset volt beállítva. A Raney-típusú nikkel mintánál ezt nem lehetett megtenni, ezért az értékeket összenormáltam a 0 – 1 intervallumra, az abszorpciós görbék összehasonlítása céljából.

között a Kramers-Kronig összefüggés teremt kapcsolatot [185]. Az f''(E) és az adszorpciós görbék alakja hasonló (56. ábra felső görbe, 55. ábra). Elvi lehetőség van a kísérleti abszorpciós görbe mérési adataiból az f' kiszámítására a Kramers-Kronig összefüggés alapján. Ebben az esetben pontos, és a minta kémiai állapotának megfelelő kontraszttal számolhatnánk, ugyanakkor a mérés és az átszámítás bonyodalmas. Jelenleg ennek kimunkálásán dolgozunk.



56. ábra Az anomális diszperziós faktorok, f' és f'' a szabad nikkel atomra vonatkozóan

A három választott energián mért szórási görbéket, valamint az azokból nyerhető két szeparált görbét az 57. ábra tartalmazza. A három ASAXS görbe alakja nagyon hasonló, de azok szeparált görbéi (a két – két ASAXS görbe különbsége) már attól eltérő alakot mutatnak.



57. ábra A Raneytípusú nikkel katalizátor ASAXS és szeparált ASAXS görbéi

Az ASAXS és a szeparált görbék alaki különbsége mutatja, hogy a nikkel részecskék mellett lévő, mátrix szórása jelentékeny és annak alakja eltér a nikkel szórásától. A szórási faktor ASAXS módszerrel kihasznált energiafüggése hozzávetőlegesen 10%-os effektus okozott. Ez azt jelenti, hogy az él közelében mért szórási görbe intenzitása átlagosan 10%-al volt alacsonyabb annál a szórási görbénél, amelyet az éltől legtávolabbi energián mértünk. A három energián meghatározott ASAXS görbékből kétféle szeparált görbét lehet kiszámítani,

amelyek alakja egymáshoz képest is – ugyan kismértékben, de – eltért. Azt tételeztem fel, hogy a szeparált görbék alakját a tiszta rezonáns görbe határozza meg (a 25-ös összefüggésben, az első, az  $A(q) \cdot B(q) \cdot tagot$  tartalmazó, ún. kereszt-tag elhagyásával). A szeparált görbék alakja  $log(I) - log(q^2)$  ábrázolási módban negatív görbületű, ami Shull – Roess-féle illesztés kritérium alapján egyenessé volt transzformálható. Az illesztés eredményeképpen kapott, a nikkelrészecskék Guinier sugarának eloszlására vonatkozó Maxwell típusú eloszlást az 58. ábra mutatja.



58. ábra A Raney típusú katalizátor nikkel nanorészecskéinek méreteloszlása, a Guinier-féle sugárral jellemezve, az ASAXS görbékből nyert kétféle szeparált szórásgörbéből meghatározva

A kétféle (E<sub>1</sub>=8037 eV és E<sub>2</sub>=8323 eV energiákon mért ASAXS görbék különbsége és az E<sub>1</sub>=8037 eV és E<sub>3</sub>=8332 eV-nál mért ASAXS görbék különbsége) szeparált görbe alapján meghatározott jellemző Guinier sugarak (2,0 nm és 2,1 nm) 5%-ban térnek el. A nikkel részecskék alakját nem ismerjük. Ha feltételezzük, hogy a részecskék henger alakúak, akkor a henger alakú részecskére vonatkozóan a henger girációs sugarát a  $log(qI(q)) - q^2$  ábrázolásmódban nyerhető egyenes meredeksége szolgáltatja. (Ha korong alak feltételezésével élnénk, akkor a  $log(q^2 \cdot I(q)) - q^2$  a megfelelő ábrázolásmód.) A transzmissziós elektronmikroszkóp felvételek monoform alakot mutatnak, ezért a hengernek megfelelő tengelyábrázolást választottam. A keresztmetszeti girációs sugár meghatározására szolgáló ábrázolást az 58. ábra mutatja be. A görbe egyenes szakaszának illesztése az  $R_{oc}$ -vel jelölt keresztmetszeti Guinier sugarat (girációs sugarat) eredményezte, amelynek értéke  $R_{oc}$ =1,25 nm. Az ennek megfelelő henger sugár  $R = \sqrt{2} \cdot R_{oc}$ =1,77 nm. A hengerre vonatkozó összefüggés ( $H^2 = 12(R_{Gm}^2 - R_{oc}^2)$ , ahol  $R_{Gm}$  az átlagos  $R_G$  sugár, H, a cilinder magassága) alapján H=5,63

nm. Tehát a szeparált anomális szórásgörbék alapján a katalizátor nikkel részecskék "tömzsi", henger alakúak [186].

A gondosan kivitelezett mérés (jel/zaj viszony javítása, megfelelő statisztika elérése) lehetővé tette a tiszta rezonáns görbék alapján történő kiértékelést. Összetettebb modell alkalmazásával a nikkel nanorészecskék méretére és alakjára pontosabb leírást adtunk. Azt találtuk, hogy a Rubinstein által bevezetett "gyöngysor" modell jó illeszkedik a nikkel nanorészecskék tiszta rezonáns görbéjére [187].



59. ábra A Raney nikkel katalizátor egy jellemző kisszögű görbéje (a röntgenfoton energiájára tekintettel ez egy ASAXS görbe,  $I(q,E_1=8037 \text{ eV}))$  (felső), döntően a nikkel részecskék szórása = két ASAXS göbe különbsége= szeparált görbe (középső), kizárólagosan a nikkel részecskék szórása=tiszta rezonáns görbe (alsó)

Az 59. ábrán a Raney nikkel katalizátornak egy tipikus kisszögű görbéjét mutatom be. A röntgenfoton energiájának ismeretében és annak hatását figyelembe véve egyben ez egy ASAXS görbe ( $I(q,E_1=8037 \text{ eV})$ ). A nikkel részecskék szórását döntően, két ASAXS görbe különbsége, kizárólagosan a nikkel részecskék szórását a tiszta rezonáns görbe mutatja. Az ábrán szembeötlő, hogy a szeparált görbék intenzitása egy nagyságrenddel kisebb, mint egy "közönséges" kisszögű görbe intenzitása (szinte a teljes megfigyelt szórási tartományban). A tiszta rezonáns görbe intenzitása három nagyságrenddel kisebb, mint egy ASAXS görbe intenzitása. Az 59. ábra jól illusztrálja az anomális mérések elvégzésénél szükséges mérési és adatfeldolgozási gondosságot. A szeparált és a tiszta rezonáns görbék hasonlósága nagy, ami a korábban tett feltételezést erősíti meg, miszerint a szeparált görbék a nikkel részecskékre jellemzőek, és elhanyagolható mértékben tartalmazzák a katalizátor többi részének szórását, azaz a kereszt-tag elhanyagolása megalapozott volt. A Rubinstein és munkatársai által javasolt "gyöngysor" ("pearl necklace") modell lineáris láncban pakolt, R sugarú, P(R) eloszlással figyelembe vett gömbök sorára adja meg az intenzitás kifejezését:

$$B_{N}^{2}(q) = konst \cdot \int_{0}^{\infty} P(R) \cdot \left(\frac{\sin(qR) - qR\cos(qR)}{q^{3}}\right)^{2} \cdot \left(N + 2\sum_{n=1}^{N-1} (N-n) \cdot \frac{\sin(nqd)}{(nqd)}\right) dR$$
(33)

A 33-as összefüggésnek a tiszta rezonáns görbére történő illesztése után, azt valószínűsítettük, hogy a gömb alakú nikkel részecskék átmérője 4,16 nm ( $\sigma$ =0.24), ezekből átlagosan 2 darab áll össze, amelyek közötti átlagos távolság az átlagos gömbsugár kétszerese. Tehát a szomszédos két nikkel részecske szorosan illeszkedik. A bemutatott kiértékeléstől függetlenül, reverse Monte Carlo típusú számításokkal Tóth és munkatársai a mért szórási intenzitások felhasználásával, szintén részecske-párok létezését valószínűsítették [188].

Az anomális röntgenszórás további előnye, hogy a rezonáns atomok mennyiségi meghatározását is biztosítja, amelynek elvi alapja a Porod-féle invariáns. A rezonáns invariáns a nikkel atomok, mint rezonáns atomok "többlet"-elektron sűrűségével arányos:

$$Q_{Ni} = \frac{1}{4\pi} \left| \Delta f_{Ni}(E) \right|^2 \int_{q} B_{Ni}(q) d^3 q$$
(34)

ahol,  $\Delta f_{Ni}(E)$ , a nikkel atom szórási faktorának kontrasztja (=az anomális korrekció). Ebből a nikkel atomok koncentrációja (térfogati sűrűsége):

$$c \qquad [1/cm^{3}] = \frac{V_{Ni}Q_{Ni}}{(2\pi)^{3}r_{0}^{2}|\Delta f_{Ni}(E)|^{2}}$$
(35)

ahol  $r_0$  az elektron klasszikus sugara,  $V_{Ni}$  a nikkel atom térfogata. Az összefüggések alapján a nanoszerkezetű nikkel 38 mol %-ban van jelen a mintában (a preparálás kezdetén a minta teljes nikkel tartalma 50 mol % volt). A bemutatott nikkel katalizátor eredményei mutatják, hogy az anomális módszer az összetett minta adott komponensének minőségi és mennyiségi meghatározását biztosítja, mindennemű szeparálási technika igénybevétele nélkül, így a szinkrotronsugárzás gyakorlati célra történő hasznosítását jól példázza.



60. ábra Az Aluminium-oxid hordozós nikkel katalizátor nanoszerkezete és a nikkel szemcsék méreteloszlása

A tiszta rezonáns görbére alapozott mennyiségi meghatározás mellett az abszorpciós görbe is felhasználható a nikkel mennyiségének meghatározására. Ennek alapja az, hogy az él közelében az abszorpciós görbéről leolvasható ugrás ( $\Delta(\mu D)$ ) arányos a nikkel atomok számával.

#### ÖSSZEGZÉS:

Az anomális kisszögű szórás alkalmas a rendszer tetszőleges alkotója szórásának elkülönítésére, így az alkotó által felépített lokális szerkezet minőségi és mennyiségi leírására. A módszernek a kolloidikában, a biológiában és általában az anyagtudományokban nagy jelentősége van, hiszen a különböző szerkezeti és nanoszerkezeti típusok, kristályos és amorf formák megkülönböztetésére van lehetőség. Ez, a szinkrotron állomások által kínált lehetőség messze nincs kihasználva.

#### 5.2 Réteges liotróp rendszerek

#### 5.2.1 Synperonic A7-víz rendszer "in situ" tanulmányozása

A Synperonic A7-víz rendszer, szobahőmérséklet és 60°C hőmérséklet közötti tartományban, és a tenzidre nézve 55-80% közötti koncentrációtartományban réteges szerkezetű. A rendszer reológiai tulajdonságait Halász és munkatársai. csúszósík modellel értelmezték [189]. Hasonló rendszeren, az általam végzett szerkezeti vizsgálatok és az ahhoz tartozó fagyasztvatöréses mérések eredményei alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a reológiai tulajdonságokat befolyásoló változásokat a rétegtávolságoknál lényegesen nagyobb méretű, hibahelyes domének okozzák. A nyírófeszültség által indukált domén- és rétegszerkezetbeli változások tanulmányozására reoblokkot építettünk [173,190,191]. A reoblokkba körültekintően töltött minta (a reoblokk 20°C-on volt termosztálva) a 17. ábrán bemutatott szórási képhez hasonló jelleget mutatott<sup>15</sup>, amelynek alakja a reoblokk működtetése során, megfelelő idő eltelte után, jelentős mértékben megváltozott. A 61. ábra mutatja a rendszer rétegszerkezetére jellemző Bragg csúcs pozíciójában és alakjában történt változásokat. Két óra elteltével a nyírás a Bragg csúcs szélesedését okozta, ami a rétegek korrelációjának csökkenését jelezte. Ugyanakkor a periódus (a várakozással ellentétben) 4,83 nm-ről 4,68 nm-re csökkent. A nyírómozgás megszüntetése után (a kikapcsolás után tíz perccel mérve) a várt relaxációs folyamat eredményeképpen a Bragg reflexió eredeti pozíciójának és alakjának visszaállását vártuk, de nem ez történt. A Bragg csúcs pozíciója

<sup>&</sup>lt;sup>15</sup> A laboratóriumi berendezésben a Bragg csúcs félértékszélessége lényegesen nagyobb volt, mint a szinkrotron nyalábbal mért esetben. Ennek oka az utóbbinál alkalmazott detektor jobb feloldása és a pontfókuszú geometriából adódó, elhanyagolható elkenődés.

tovább tolódott, a kisebb rétegtávolságnak megfelelő nagyobb szórási változó értékek irányába. A reflexió profilja tovább szélesedett. Nagymértékű változás a nyírás leállítását követő egy óra után következett be. A Bragg csúcs az előzőeknél diffúzabb két csúcsra hasadt fel. Az összetett csúcsalakot két Gauss függvénnyel közelített csúcs összegére bontottam. Ennek eredményeképpen a szeparálás két karakterisztikus rétegtávolságot adott, egy kisebbet  $(4,59 \pm 0,03 \text{ nm})$  és egy nagyobbat  $(5,05\pm 0,05 \text{ nm})$ . A szerkezet relaxációját egy napig követtük, de lényeges, az eredeti (a nyírás nélküli) nyugalmi állapotot megközelítő szerkezeti visszarendeződést nem tapasztaltunk.



61. ábra A Synperonic A7–víz rendszer karakterisztikus csúcsprofiljának változása a nyírás során, 20°C-on (három mintapreparálásból származó, mintánként kétszer ismételt mérésekből, állapotonként a szélsőséges két eset profiljai vannak bemutatva)

A csúcsprofilok változása mögött rejlő szerkezeti változások értelmezéséhez a kísérlethez felhasznált rendszernél töményebb és hígabb rendszereket vizsgáltunk. 75, 80, illetve 85%-os rendszerek kisszögű diffrakciós részleteit a 62. ábra mutatja be. Szembetűnik, hogy a 85%-os A7 rendszer intenzív Bragg reflexiót ad. Az ábráról leolvasható rétegtávolságok rendre 5,16 nm (75%), 4,83 nm (80%) és 4,67 nm (85%). Ezeket a periódusértékeket összevetve a nyírási előelettel rendelkező minta szeparált csúcsainak megfelelő 5,05±0,05 és 4,59±0,02 nm értékeivel arra a következtetésre jutottam, hogy a tapasztalt csúcsprofil változás oka a nyírás hatására indukált koncentráció inhomogenitás. A7-ben dúsabb (85%-ot megközelítő) tartományok jöttek létre, amelyeknek megfelelő diffrakciós

csúcsarányaik is a viszonyítási 75 és 85%-os rendszerek tendenciáját (azaz az utóbbi aránya nagyobb) követik.



62. ábra A 80 %-os Synperonic A7-víz minta 2 órai nyírása és az azt követő 1 órai állása után nyert összetett kisszögű Bragg csúcs értelmezése. A Bragg csúcs felbontása két csúcs összegére (fekete vonal, az alsó és középső sorban a nyírás után kapott kísérletek közül a két legnagyobb mértékben eltérő profil van bemutatva, a reprodukálhatóság jellemzésére). A felső sorban három: 75(zöld), 80(kék) és 85(piros)% -os, nem nyírt referencia rendszerek Bragg csúcsai

A reoblokkban a használt átlagos nyírási sebesség 4.2 1/s volt. Ennek a nyírási sebességnek megfelelő frekvenciánál nagyobb értékeken a reoblokk működtetésében zavarok léptek fel, annak mechanikus átvivő rendszere nem tudta követni az elektromos vezérlő jelet (nem volt célunk extrém nyírási sebesség alkalmazása). A nyírási igénybevétel hatásának a rendszer reológiai tulajdonságaiban való (a viszkozitás és a nyírási feszültség változása a nyírási sebesség függvényében) követésére oszcilloviszkoziméteren is végeztünk méréseket. A blokk két állapotának (állás; 10<sup>-4</sup> 1/s nyírási sebességgel "imitálva", mozgatás: a blokk használt átlagos nyírási sebessége; 4.2 1/s) beállításával, a röntgenmérések időtartamával megegyező ideig végezve a méréseket, a korábbi közleményekben megjelent és diszkutált reológiai görbékhez hasonló lefutású görbéket nyertünk [190,192]. Ezek alapján arra a megállapításra jutottam, hogy a reoblokkban végzett mérések körülményei megfelelnek a szokásos, széles körben alkalmazott reológiai tesztmérések körülményeinek.

A Bragg reflexiók kiszélesedésének általában két oka van: a rétegek közötti korrelációvesztés és a réteg-kötegek laterális irányú kiterjedésének csökkenése. A kisszögű röntgenszórás-diffrakció a vizsgált szórási tartományban, a vizsgált módon, ezeknek a

változásoknak a megkülönböztetésére nem alkalmas. A minta preparálása és kezelése során észlelhető volt, hogy a megfelelő módon készített és "pihentetett" minta üvegszerűen átlátszó, míg a kevert (levegő buborékok kizárása mellett is) minta zavaros, vagy egészen átlátszatlan fehér színű lett. Az észlelet magyarázata a mechanikus igénybevétel hatására kialakuló, a látható fény hullámhosszának megfelelő kiterjedésű domének kialakulása és fényszórása. A több mikrométer kiterjedésű domének összetöredezése, hibahelyek felhalmozódása a minta kisszögű szórásában az elsőrendű Bragg csúcs szélesedését és a másodrendű csúcs eltűnését okozta. A 63. ábra mutatja azokat a fagyasztvatöréssel előkészített felvételeket, amelyeken az összefüggő homogén szerkezet kismértékű deformálódása, a rétegek síkirányú kiterjedésének torzulásai, a rétegek görbületei láthatók.



63. ábra A Synperonic A7–víz rendszer fagyasztvatöréssel előkészített és transzmissziós elektronmikroszkóppal rögzített morfológiája. A felvételek egy hetes tárolás után, kíméletes minta-betöltés után készültek (a képek azonos nagyítással vannak bemutatva).

A reoblokk fagyasztvatöréses minták készítésére alkalmas változatával jutottunk a 64. ábra segítségével bemutatott sorozathoz, amelyen a nyírási igénybevétel hatása bekövetkező morfológiai változásokat követhetjük nyomon. A reoblokk ezen változatának a nyírási feszültséget kiváltó része ugyanolyan, mint a kisszögű szórásnál/diffrakciónál felhasznált változaté, de mintatartója hozzáférhető és abból hirtelen kis térfogatú minta kivehető, anélkül, hogy a minta többi részében lényeges változást okoznánk, tehát a felvételek közelítőleg ugyanolyan állapotú mintákról készültek, mint amelyek rétegszerkezetéről származó Bragg reflexiók profiljai a 61. ábrán láthatók.

Két óra nyírás után – ellentétben az alig változó kisszögű szórásképpel – a morfológiai kép lényeges változásról tanúskodik. A szabályosan pakolt alaphelyzetű rétegszerkezet töredezett. A rétegek laterális irányú kiterjedése a néhány μm-es értékről nyírás hatására 1 μm alá csökkent. A nyírás leállítása után 1 órával további változások következtek be: a morfológiai kép összetetté vált: kicsiny méretű domének mellett nagyobb méretű réteghalmazok alakultak ki.



64. ábra A Synperonic A7–víz rendszer morfológiájának változása a reoblokkban történt 2 órai nyírás és az azt követő lórai állás után (20°C)-on (a jobboldali kép az előző kinagyított részletét muttaja)

A réteges szerkezet minden esetben megfigyelhető volt, a legkisebb laterális irányú kiterjedés becsült értéke 100 – 200 nm. Ez utóbbi relatíve nagy érték a rétegek periódusához viszonyítva, ezért a Bragg csúcsok kiszélesedését a rétegek közötti korreláció csökkenésére vezetem vissza.

A rétegszerkezetben ("nanostruktúrában"), a morfológiában (μm-es szerkezetben) okozott hatása mellett a nyírásnak a rendszer energiaállapotában okozott változását is kimutattam. Kalorimetriás (DSC) méréseket végeztünk. Egy órai nyírás (20°C-on) a minta fázisátalakulási hőjében is mérhető jelentős változást okozott. A termikus görbéket<sup>16</sup> a 65. ábrán mutatom be. (A reprodukálhatóság jellemzésére két különböző nyírásból és mérésből származó görbéket mutatok be.) A fűtési ciklusban a nyírt mintára vonatkozó fázisátalakulási hő 0,62±0,07 J/g. A nem nyírt referencia minta esetében 0,98±0,03 J/g. A két érték különbsége felel meg a nyírással bevitt deformációs energiának. Hűtési ciklusban mind a referencia, mind a nyírt mintában azonos fázisátalakulási hőt (0,98±0,03 J/g) mértünk [193]. Megállapítottuk, hogy nyírás hatása a mechanikai előélet csak többszöri fűtés – hűtés követő ciklus után szűnik meg [194].

Az "in situ" szerkezet és morfológiai vizsgálatok árnyalt képet adtak a 80%-os Synperonic A7–víz rendszer tulajdonságairól. A rendszer reológiai (egyes esetekben tixotrop) sajátságainak értelmezése nem korlátozódhat a nanométeres szerkezet változásaihoz. A nyírási igénybevétel gyors viszkozitáscsökkenést okozó hatása döntő mértékben a mikrométeres doménszerkezet megváltozásából, összetöredezéséből ered és csak kismértékben a nanométeres mérettartományba eső rétegszerkezet változásából.

<sup>&</sup>lt;sup>16</sup> a referenciához képest, a hőmérséklet függvényében mért hőmennyiség változás, a fázisátalakulás (16. ábra)



65. ábra A Synperonic A7–víz rendszer (80%) DSC görbéi. A nyírásnak kitett rendszer (vékony vonal) és a referencia=nyírás nélküli minták (vastag vonal) olvadásgörbéi.

#### ÖSSZEGZÉS:

A Synperonic A7–víz rendszer fontos háztartási (mosószer) és kozmetikai alapanyag széles koncentráció tartományban jellemző réteges szerkezete nyírás hatására összetöredezik és 100 – 200 nm kiterjedésű, rétegekből álló domének alakulnak ki. A domének makroszkopikusan nem orientáltak, azaz a rendszer anizotrop egységei izotrop szórási képet mutatnak. A rétegek – hasonlatosan egy mozaikszerkezethez – síkirányú elcsúszása gátolt, hiszen torlódási pontok sokasága jellemzi a rendszert. Ennek nemcsak reológiai, hanem anyagátadási következménye is van, amit nanoreaktor funkcióként ki lehet használni.

# 5.2.2 Vezikulák kisszögű röntgendiffrakciójának számítása héjmodell alapján

A gömbszimmetrikus szerkezet feltételezése lehetővé teszi, hogy egyszerű, analitikus formát nyerjünk a szórási görbe kiszámítására. A szerkezet alapegysége a kettősréteg, a hozzá tartozó vízréteggel. Az egység radiális elektronsűrűség profilját lépcsőfüggvénnyel írtam le. A lépcsők elektronsűrűség értéke a lipid kémiai összetételének függvényében meghatározható. A továbbiakban a DPPC/víz alapú rendszerekkel foglalkozom. A lipid kettősréteg belső szerkezetéről a nagyszögű diffrakció ad információt, ami a radiális elektronsűrűség profiljának rekonstruálásához szükséges. A vezikula rendszerekben, azok gél állapotaiban általában egy csúcsot mérünk a q=15,03 1/nm körüli szórási változó közelében. Ez a lipidláncok hexagonális elrendeződését bizonyítja. A DPPC-víz rendszer esetében a csúcs összetett, az ortorombos alrácsnak megfelelően (a széles csúcs centruma q=14,96 1/nm-nél van, aminek egyik oldalán, q=15,40 1/nm-nél egy váll van).

A lipidek szénláncai, mint "rudak" (az egymásra halmozott fahasábok módjára) közel hexagonálisan állnak be. A rétegnormális irányából felülről a síkra "nézve" a 23. ábra által vázolthoz hasonló kép tűnik a szemünkbe.

A lipid szénláncainak, mint rudaknak a keresztmetszete kör. Két kört összekötő fekete szakasz a DPPC molekula glicerin "hídja" (ezeken ül a teljes fejcsoport, de a szénlánc pakolódásának geometriáját a szénláncok helyzete szabja meg). A 23. ábra által bemutatott kép egy általános kép. Ha a lipid molekulák berendeződnek, akkor az ábrán ez azzal a változással járna, hogy a fekete szakaszok egymással párhuzamosak lennének és kialakulna a szabályos ortorombos rács. Tehát, ha a nagyszögű képen az előbb említett diffrakciós csúcsnak határozottan megjelenik a válla, akkor az ortorombos forma megjelenésére gondolhatunk. A diffrakciós maximum q=14,96 1/nm -es értékével számolva (az ábrán bemutatott piros szakasz hossza 0,42 nm) a síkbeli Wigner-Seitz cella felülete 0,203 nm<sup>2</sup> (az egy lipid rúdra jutó felület). Mivel két rúd egy lipid, a DPPC felületigénye 0,406 nm<sup>2</sup>. Sun és munkatársai részletes profilanalízist végeztek, az ő munkájukban 0,4080±0,0004 nm<sup>2</sup> szerepelt [195]. Megadták a lipid térfogatát (1,148 nm<sup>3</sup>, külön fejcsoportra: 0,319 nm<sup>3</sup>), a molekula dőlésszögét, ami 31,6°. A DPPC molekulában a fejben 164, a szénláncban 242 db elektron van, innen adódik a szénlánc és a fejcsoport régióinak elektronsűrűsége (a vízé: 333 elektron/nm<sup>3</sup>). A lépcsőalakú elektronsűrűség (66. ábra) felhasználásával szabályos vezikulák diffrakcióját a (8)-as összefüggés felhasználásával számítottam ki.



66. ábra A DPPC/víz vezikula átlagos, lépcsőfüggvénnyel jellemzett radiális elektronsűrűsége. A periódustávolság 6,4 nm.

A rétegek görbületi sugara a d periódustávolsághoz képest nagy, ezért a Scherrer képlet analógiájára a  $D=(N-1)d \approx \lambda/\cos\theta \Delta(2\theta)$  közelítő formulát alkalmazva (ahol  $\theta$  az elsőrendű Bragg csúcs helye, N a liposzóma rétegeinek száma), a félértékszélességre  $a \Delta q \sim 2\pi/Nd$ összefüggést nyerjük (figyelembe véve,  $\Delta q \sim \Delta \theta (4\pi/\lambda)\cos\theta$ , és N>>1). Szabályos, gömb

alakú liposzómákra modellszámítások alapján is ezt az összefüggést kaptuk vissza [196–198]. Egy 1 és 4 µm közötti átlagos sugarú vezikula esetében (amelynek a belső vízmagja 15 – 50 nm, átlagos rétegvastagsága 6,5 nm) a kettősrétegek száma ~ 300. Ez alapján a félértékszélesség  $\Delta q/2\pi = \Delta s \sim 5 \cdot 10^{-5}$  értékű lenne. A gyakorlatban ilyen keskeny Bragg csúcs nem mérhető. A reális rendszerek Bragg csúcsainak kiszélesedését a rétegszerkezet szabálytalanságára vezethetjük vissza. Az irodalom ezzel kapcsolatban két esetet különböztet meg: az elsőfajú és a másodfajú rácshibát [199]. Az első eset az ideális rácspontok körüli Gauss eloszlással jellemezhető kimozdulások, amikor is minden kimozdulás független a többitől. Ebben az esetben a reflexiós rendek nagymértékben csökkennek. A másodfajú hiba esetében a liposzóma mérete is megváltozik. Ennek a hibának a következtében a reflexiók félértékszélessége a reflexiók rendjével nő.



67. ábra A rétegszám hatása a kisszögű diffrakció görbék alakjára (DPPC gél fázisának esetére)

A 67. ábra a rétegszám kisszögű diffrakciós görbén tapasztalható hatását mutatja be. A számítás 2000 db vezikula szórásának összegzésével készült, a vezikulák belső vízmagjának sugara 30 nm ennek szórása ±50 %. Az unilamellás esetben a kettősréteg formafaktorának megfelelő diffúz forma jelenik meg. A következő 68. ábra a kettősréteg elektronsűrűség változásának a hatását szemlélteti. A kettősrétegben különböző mértékű fluktuációkat engedtem meg (a hőmozgások és egyéb szennyezők hatásának figyelembe vétele). Az ábrán a fluktuáció mértékének hatása drasztikus változásokat eredményez a diffrakciós görbe profilján: a fluktuáció mértékének növekedésével a "Bragg csúcsok" pozíciója eltolódik és diffúzzá válnak. A liposzóma rétegszerkezetében előforduló hibákat a modellszámításokban olyan módon vettem figyelembe, hogy a liposzómák nagyszámú rétegrendszerét blokkokra

bontottam. A centroszimmetrikus rendszert m $\pm\Delta m$  db blokkból és minden blokkot n $\pm\Delta n$  db kettősrétegből, a hozzátartozó vízrétegből építettem fel. A blokkot a szomszédos blokktól az különbözteti meg, hogy a közöttük lévő határoló vízréteg vastagsága véletlenszerűen, kétszer – háromszor nagyobb, mint a szabályos fázisra jellemző érték. Blokkon belül a szabályos rétegszerkezet kismértékű fluktuációját tételeztem fel [200,201].



68. ábra A kettősréteg elektronsűrűség ingadozásának a hatása

A 69. ábra olyan paraméterekkel végzett számításokat mutat, amelyek a gyakorlatban sokszor előforduló esetet imitálnak. Összesen 50, blokkonként 3–5 réteget tartalmazó vezikulák széles Bragg csúcsokat tartalmazó diffrakciós képet mutatnak (piros vonallal jelölve). Csökkent összrétegszám (N=20) és redukált blokk méret (1–3 réteg) esetén a diffrakciós mintázat eltűnik. A blokkon belüli fluktuáció növekedése (20%-ról 50%-ra) az egyszeres kettősréteg szórásához hasonlító alakot eredményez (fekete vonal). A blokkokat elválasztó vízréteg vastagságát egyenletes eloszlással a  $d_{viz}(blokk-blokk) = d_{viz}$  (kettősréteg kettősréteg) + (0–300%)  $d_{viz}$  értékekre állítottam be. A vezikulák átlagos belső sugara 30 nm volt. Megfigyelhetjük, hogy ha az átlagos rétegszám blokkonként kicsi: 1–5 között van, akkor kevés rétegszám változás is lényeges csúcsprofil-változást okoz. A modellszámításnak megfelelő eseteket a valós vezikuláknál is megfigyelhetünk a fejezet végén található fagyasztvatöréses képeken (71. ábra).



69. ábra Kevés rétegszámú blokkokat tartalmazó vezikulák számított szórása lineáris és logaritmikus ábrázolásban (3-5 réteg:piros, 1-3 réteg 20%-os fluktáció:kék, 1-3 réteg 50%-os fluktuáció:fekete)

A 70. ábra a disszertációban gyakran szereplő DPPC-víz rendszer gél és hullámos gél fázisainak klasszikus Kratky kamerával mért szórási görbéit mutatja be [202].



70. ábra Az  $L_{\beta'}$  és  $P_{\beta'}$  alapfázisok vonalfókuszú berendezéssel mért (alsó görbe), majd pontfókuszra átszámított szórásgörbéi (felső görbe)

Az első Bragg reflexió félértékszélessége alapján, (a Scherrer képlet segítségével becsülve) az  $L_{\beta'}$  alapfázisban 6 – 8, a  $P_{\beta'}$  alapfázisban pedig 4 – 6 között van az átlagos rétegszám. Ez a rétegszám az átlagos liposzómaméret alapján nagyon kicsi. A rétegszámok különbsége alapján az  $L_{\beta'}$  szabályosabb, a  $P_{\beta'}$  kevésbé szabályos rétegszerkezetű (a szimmetrikusabb fázis). A fagyasztvatöréses képek tanulmányozása során a hullámos gél (P<sub>β</sub>,) fázis fagyasztvatöréssel feltárt, felületi sajátosságra figyeltem fel (71. ábra harmadik, jobboldali képe). A hullámos felületi morfológia együtt fut a szorosan illeszkedő, kisszámú rétegből álló réteghalmazokban. A törés miatt feltárult, a rétegnormális irányában a szemrevételezett réteghalmaz fölött és alatt, a P<sub>β'</sub> fázis felületi hullámainak (redőinek) iránya megváltozott. Az egységek nyilvánvalóan nem függnek össze, mert a szomszédosakban a felületi hullám eltérő irányokban fut. A korábban ismertetett modellfinomításban ezeket a szomszédos kevés számú rétegeket tartalmazó egységeket neveztem el blokkoknak. Az egységek rétegszámára a képi megfigyelések alapján csak durva becslést tudok adni (N<10; 3 és 10 között), ennek ellenére a félértékszélesség alapján számolt N-nel való egyezés meglepő. Az egyezés azt bizonyítja, hogy a blokkok között a diffrakció szempontjából nincs korreláció (a különálló egységek szórása inkoherensen adódik össze). Az  $L_{\beta}$ , fázisban a blokkokat az elektronmikroszkópos felvételeken nem lehet egyértelműen észlelni (ha azok a rétegeket felülről mutatják), mert az  $L_{\beta}$ , fázis rétegei simák, felületi mintázat nélküliek (a törési felület mindig lépcsős, a lépcsőmagasság pedig önmagában nem igazolja a blokkok létét).



71. ábra Liposzómák belsejében kialakuló blokkok (1., 2. kép). A hullámos gél fázis "felülnézeti" morfológiája, amelyen egymásra pakolódott blokkok különíthetők el (3. kép)

# 5.2.3 A DPPC/víz alapú vezikulák előátmenetének sajátságai és következményei

#### 5.2.3.1 Termikus előélet, memória effektus

Az előátmenet, a gél és a hullámos gél állapotok közötti átmenet a DPPC molekula relatíve nagyméretű (~0,60 nm<sup>2</sup>), poláris, kolincsoportot tartalmazó fejcsoportjának jelenlétére vezethető vissza (22. ábra). A hőmérséklet növekedésével a fejcsoportok közötti nagyobb egyensúlyi távolság a szomszédos lipid molekulákat arra kényszeríti, hogy a kettősréteg által alkotott sima gömbhéjból kimozduljanak és így a gömbhéj egészének periodikus gyűrődését okozzák. A fázisátmenet átalakulási hője (a mért entalpiaváltozás 4,2 kJ/mol lipid) lényegesen alacsonyabb, mint a főátmeneté (38 kJ/mol·lipid) [203].

A lassú (kis fűtési vagy hűtési sebességű hőkezeléseket "kvázi egyensúlyi" körülményeknek nevezik. Méréseim során a gyakorlatilag kivitelezhető legkisebb fűtési sebességnél is tapasztaltam a termikus előélet jelenségét (a vizsgált állapotot megelőző állapot hőmérsékletének hatása). A vizsgálat tárgyát képező előátmenet hőmérséklettartománya a DPPC-víz rendszer esetében 30 - 36°C közötti intervallumban van. Az előátmenet diszkrét pontjainál néhány nap – hét nagyságrendű termosztálások után alakult ki az egyensúlyi állapot, pontosabban az ahhoz tartozó szerkezet. (Egyensúlyi állapot alatt azt az állapotot értem, ami az időben állandósul, nem mutat változást.) A 3 napig termosztált gél (L<sub>6</sub>', 28 °C) és hullámos gél (P<sub>B'</sub>, 38 °C) mintákat az előátmenet tartományában, 30,0; 31,1; 32,2; 33,5; 34,7; 35,9; 37,1°C hőfok értékeken termosztáltam. 1 nap termosztálási idő után, a rétegszerkezet Bragg csúcsainak változása alapján az átmenet hőmérsékletére (az a hőmérsékleti érték, ahol a csúcs alakja átmeneti formát mutat) becsülhető érték függ a hőkezelés módjától, a melegített (fűtött) minta esetében ~ 33,5 °C, a hűtött minta esetében ~ 31 °C. A mintákat hosszú időn át termosztálva a termikus előélet megszűnt. A Bragg profilok alapján a minták szerkezete 8 nap után állandósult. A szórásgörbék diffrakciós Bragg csúcsait a 72. ábra mutatja be, az első nap és a nyolcadik napon kialakult állapotokra vonatkozóan. Az átmenet hőmérséklettartománya széles, kb. 4 – 4,5°C.



72. ábra Az előátmenethez tartozó hőmérséklettartományában kialakult átmeneti szerkezetek szórásgörbéi (A: 1 nap termosztálás után, B: 8 nap termosztálás után, fűtés=vastag, hűtés=vékony vonal)

A 72. ábrán bemutatott 1. rendű Bragg profilokat a két egymásba alakuló szerkezet (az  $L_{B'}$ , és a  $P_{B'}$ ) Bragg profiljainak összegeként írtam le. A Bragg csúcsokat Lorentz típusú függvénnyel illesztettem:

$$I(q) = A / [1 + 4 \cdot ((q - q_{csúcshelv}) / fwhm)^{2}] + C$$
(36)

ahol *fwhm* a csúcs teljes szélessége a csúcsmaximum felénél (röviden: félértékszélesség), *A* és *C* konstansok. A fázisok állapotának jellemzésére az első Bragg csúcs fwhm-jének reciprokát választottam. A félértékszélesség a 5.2.2. pontban ismertetett módon a konstruktívan interferáló rétegek átlagos számával arányos. A vizsgált két alapfázis közül az  $L_{B'}$  a rendezettebb, ezért ennek 28 °C-on (mint referencia állapothoz viszonyított) meghatározott értéket, 1/fwhm-et, 1-re normáltam, és ehhez az n=1 kontroll-paramétert rendeltem. A teljesen rendezetlen állapot félértékszélessége végtelen lenne, amelyhez az n=0 kontroll-paraméter tartozik. A P<sub>B'</sub> fázis (38 °C-on mért) kontroll-paramétere n=0,75 (±0, 01). Az 73. ábra a termikus előélet hatását mutatja be a kontroll-paraméter segítségével [202].



73. ábra A termikus előélet hatása az előátmenet tartományában rövid (1 nap) és hosszabb ideig (8 nap) termosztált DPPC – víz rendszer rétegszerkezetére, a kontroll-paraméterrel (n(T)) jellemezve

Praktikus okok miatt áttértem rövidebb ideig tartó (10-14 nap helyett 5 napig tartó) hőkezelési folyamatok hatásának tanulmányozására [153,201]. A további rétegszerkezet változása mellett a 73. ábrán bemutatott állapotokban a minták teljes kis- és nagyszögű szórásának diffrakciós reflexióit vizsgáltam. A Bragg reflexiók profilanalízisével, a 39 –es összefüggés felhasználásával meghatároztam az átmeneti állapotok fázisösszetételét, amelyet az 74. ábra segítségével mutatok be.



74. ábra Az  $L_{\beta'}$  és a  $P_{\beta'}$  fázisok réteg- és alrács arányainak változása az előátmenet hőmérséklettartományában (új minták preparálásával, 3 független mérési sorozat eredményei). A kerek szimbólum a  $P_{\beta'}$ , a háromszög az  $L_{\beta'}$  fázisokra, az üres szimbólum a rétegrácsra, a teli szimbólum az alrácsra vonatkozik.

Az  $L_{B'}$  fázis esetében a rétegszerkezet és a rétegen belüli szerkezet (alcella) szimultán változik a fázisátmenet során (az 50 %-os arány kb. 31,3 ±0,2 °C-nál van). A  $P_{B'}$  fázisnál a rétegszerkezet és az alrács nem azonos arányban változik, a rétegszerkezet 50 %-os aránya 33

°C-ra tolódik. Tehát az előátmenet során az alrács átrendeződésével járó rövidtávú rend alacsonyabb hőmérsékleten (~31°C) alakul ki, mint a rétegszerkezet átformálódásával járó hosszútávú rend (~33°) [201].

A termikus előéletnek egy összetettebb (további hőkezelések során is megjelenő) formáját figyeltem meg, amit memória effektusnak neveztem el. Az effektust háromlépéses hőkezelési folyamat váltotta ki. Először egy átmeneti szerkezeti forma alakult ki a fázisátmeneti hőmérséklettartományban, ami hűtés után (28°C-on) L<sub>g'</sub> fázisállapotnak megfelelő formába jutott (második lépés). Harmadik lépésben, 38°C-on, a várakozással ellentétben, nem a  $P_{\beta}$  állapotra jellemző rétegszerkezet, hanem az első állapotra jellemző, vizsgálatot rosszul korrelált struktúra tért vissza. А az előátmenet teljes hőmérséklettartományában (30 – 35 °C) elvégeztem. Hosszú ideig (legalább 3 napig) termosztált mintákat készítettem elő (1. lépés), majd minden mintát 28 °C-ra hűtöttem, és legalább 1 napig termosztáltam az  $L_{\beta'}$  fázisnak megfelelő szerkezet kialakításához (2. lépés). Végül a 3. lépésben minden mintát 38 °C-ra melegítettem és legalább 1 napig termosztáltam  $P_{\beta'}$  fázis szerkezetének kialakításához. A sorozatos hőkezelés után az öt darab minta (ami az első lépésben 5 különböző hőmérsékleten került termosztálásra) lényegesen eltérő rétegszerkezetet mutatott. A 2. és a 3. lépéshez tartozó rétegszerkezet-változást a kontrollparaméter hőmérsékletfüggése alapján az 75. ábrán mutatom be.



75. ábra A rétegszerkezet formálódásának memóriája (az első és a harmadik lépésben formálódott szerkezetek hasonlatossága = a minta 38°C-on "emlékezik" két hőkezelést megelőző állapotára). A memória "nagyságát" a második (n(T=28°C)) és a harmadik (n(T=38°C)) kezelés kontroll-paraméter görbéinek különbsége illusztrálja (n(T=38°C)) (az első hőkezelés az 73. ábra által bemutatott kontrollparaméter görbéjéhez (n(T)-hez) hasonló)

A 75. ábra "x" tengelyén a hőmérséklet van, az első lépés értékeinek (mint vizsgált paraméter) bemutatására. A piros vonalnak 100%-os reverzibilitás esetén az n=1 kontroll paraméternél, mint vízszintes kellene futnia (az  $L_{B}$  referencia állapotnak megfelelően). Ezzel

szemben n(T)=0.95±0.02 egyenes figyelhető meg, ami a mérési hibahatárt tekintve, az elvárt szerkezeti változást tükrözi. Egyedül a T=31°C környezetének minimuma mutat az első hőkezelésre, azaz "termikus előéletre" utaló jelet. A harmadik lépés (38°C-os termosztálás) eredményét a fekete színű vonal mutatja. Az összehasonlíthatóság és egyben az effektus bemutatásának érdekében mindkét alapfázis (L<sub>6</sub>°,) kontroll-paraméterét 1-re normáltam (  $n_{P_p}(T)_{normált} = n_{P_p}(T)/0.75$ ). 100%-os reverzibilitás esetén ennek a vonalnak is konstansnak, n(T)=1-nek kellene lennie, ezzel szemben egy kifejezett minimumot mutató görbe adódik. A két (a piros és fekete) görbe különbsége mutatja a perturbált rétegszerkezet visszatérését mutató "memória", effektust. Az effektus az átmeneti tartományban keletkezett és a szomszédos fázisokban eltérő mértékben alakuló szerkezeti hibák képződésével magyarázható. A 75. ábra alapján bemutatott jelenség a rétegszerkezet kisszögű diffrakcióval megfigyelt hőmérséketfüggő változásaira vonatkozik. A kisszögű vizsgálatokkal egyidőben elvégzett nagyszögű mérésekkel az alrácsban semmiféle termikus előéletre utaló effektust nem tapasztaltam [201].

A  $P_{\beta}$  fázis rétegszerkezete széles hőmérsékleti intervallumban változik. A 74. ábrán bemutatott szerkezeti jellemzők alapján e fázis aránya a 30,5 és 36°C közötti tartományban, 0-ról, a 38°C-os állapothoz viszonyított, hozzávetőlegesen a 70%-os értékig növekszik. Formálódása döntően az alcellája kialakulásához szükséges hőmérséklet (~31.3°C) feletti tartományban zajlik. A megfelelően kivitelezett DSC mérések alapján ebben a tartományban az entalpiaváltozás csekély, tehát a rétegváltozást nem kíséri jelentős hőváltozás. Mindemellett a megnövekedett termikus fluktuációk, hibahelyek (réteghibák) kialakulásának kedveznek. A hibahelyes rétegszerkezet képződéséhez szükséges energiatöbbletet a konfigurációs entrópia növekedéséből származó energiatag fedezi. A hibahelyek kialakulása a rétegek korrelációvesztésével és a rétegkötegek alakjának deformációjával, görbülésével jár együtt. A P<sub>ß'</sub> fázisban a hibahelyek kialakulása nagyobb szabadentalpia csökkenéssel jár, mint az  $L_{\beta'}$  fázisban, ezért a hibahelyek képződése a hullámos gél ( $P_{\beta'}$ ) fázisban kedvezményezett, a gél (L<sub>b'</sub>) fázisban pedig kevésbé kedvezményezett [204]. A különbség vezet a hibahelyek kialakulásának és azok "tárolódásának" (="befagyásának") egyfajta aszimmetriájához a két fázisban, ami termodinamikai magyarázatot szolgáltat a réteghibák memória effektusára. A termikus fluktuációk mellett a mindig jelenlévő szennyezők hatása sem hanyagolható el. A szennyezők a határrétegben koncentrálódnak és lokális jelenlétükkel a hibahelyek kialakítását és formálását jelentős mértékben befolyásolják [205,206].

# dc\_511\_12 $\int \int \frac{14 \text{ m}}{14 \text{ m}}$

76. ábra A gél és a hullámos gél fázisok felületi morfológiája, nagyméretű liposzómák felületének részletei

#### 5.2.3.2 A 2,4-diklórfenol hatása a DPPC-víz rendszer előátmenetére

A DPPC-víz rendszerhez adott harmadik komponens a fejcsoport közelében elhelyezkedve az előátmenet kialakulásához vezető alapvető kölcsönhatási formákat megváltoztatja, vagy azt lényegesen befolyásolva az elsőrendű fázisátmenetet teljesen meg is szüntetheti. A kifejtett hatás mértéke a hozzáadott "vendégmolekula" kémiai karakterétől és koncentrációjától függ. A poláris vagy amfoter kémiai karakterű molekulák várhatóan a kettősréteg fejcsoportjaihoz közeli, vagy kifejezetten a fejcsoportok közötti térrészekben lokalizálódnak. Az előátmenetet a szakirodalom szerint számos molekula befolyásolja. Az előátmenet karakterének változása, a változás mértéke és a "vendégmolekula" koncentrációja közötti összefüggések a biológiai membránok működése szempontjából lényegesek. A harmadik komponens koncentrációjának növekedésével az előátmenet entalpiaváltozása végletesen csökken (a fázisátmenet karaktere az elsőrendű helyett gyengén elsőrendű lesz) és elérheti a nullát is (a fázisátmenet karaktere régebbi szóhasználattal "másodrendű", újabb szóhasználattal, folytonos lesz). A fázisátmenet hőmérsékleti tartománya kiszélesedik. Az átmeneti állapotok szerkezete nagymértékben eltér az alap lipid-víz rendszer fázisátmenete során kialakuló formákétól. A folytonos fázisátmenetre jellemzően a fluktuációk megnőnek, a rendszer "frusztrált" állapotba kerül. A hibahelyek száma drasztikusan megnő, a nyomnyi szennyezők koncentrálódnak és lokálisan olyan szerkezetek alakulhatnak ki, amelyek tipikusan csak a szennyező lényegesen nagyobb arányánál fordulnak elő.

A 2,4-diklórfenol "vendégmolekula" (továbbiakban DCP-vel jelölve) hatását a DCP/DPPC mólaránnyal kifejezett széles koncentrációtartományban (~ $10^{-5} - 10^{0}$  DPC/DPPC között változtatva) tanulmányoztam 20 tömegszázalékos lipid rendszerben. A 2,4-diklórfenol kis koncentrációnál is megfigyelhető változást okozott a DPPC-víz rendszer termotróp sajátságaiban, amelyet a 77. ábra mutat. A változás mind az előátmenetben, mind a fő átmenetben jelentős volt [207]. A 77. ábra alapján megfigyelhetjük, hogy a főátmenet az

104

egész vizsgált tartományban megjelenik, az előátmenet DCP/DPPC=0,02 mol/mol arány felett nem detektálható. Ebből arra a következtetésre juthatunk, hogy az előátmenet elsőrendű fázisátmeneti karaktere megváltozott. Ennek oka az lehet, hogy a klórfenol molekulák beépülésével mind a gél, mind a hullámos gél fázisok szerkezete módosul és az azok közötti különbség eltűnik.



77. ábra A DPPC/2,4-diklórfenol/víz rendszer DSC görbéinek a fázisátmenetekhez tartozó kiemelt részletei (1 °C/perc felfűtési sebesség)

A kalorimetrikus mérések után szerkezetvizsgálatokat végeztünk [171,208]. A DCP/DPPC=0.02 arányú rendszer kisszögű röntgenszórását mértük a tiszta rendszer előátmenetére jellemző tartomány alapján három különböző hőmérsékletén: 28°C-on (gél fázis), 30°C-on (átmeneti állapot), és 32°C-on ("hullámos" gél fázis). (A választott értékek alacsonyabbak, mint azt a 77. ábra hőmérsékleti tengelye mutatja. Figyelembe vettem a pontos, termodinamikai egyensúlyi helyzetnek megfelelő értékeket, valamint azt is, hogy a DCP hatására a fázisátmenet a kisebb hőmérsékleti értékek irányába tolódik.) A szórási görbék 1. rendű Bragg csúcsainak tartományát a 78. ábrán mutatom be. A reflexió mindhárom hőmérsékleten összetett, azokat a karakterisztikus L<sup>g,</sup> és P<sup>g,</sup> fázisoknak megfelelő csúcsprofilokra bontottuk szét. A 28°C-on mért összetett csúcsprofilban a gél (L<sup>g,</sup>) fázisnak megfelelő tag a domináns, ugyanakkor a P<sup>g,</sup> fázisnak megfelelő profil is megjelenik, jelezve, hogy 28°C az átmeneti tartományba esik. A 32°C-on mért összetett csúcsprofilban megfordul a két karakterisztikus profil aránya: a P<sup>g,</sup> fázis a domináns, és az (L<sup>g,</sup>) fázis aránya kicsi. A két fázisra jellemző csúcspozíciók eltérnek a tiszta DPPC-víz rendszer értékeitől, ami bizonyítja, hogy a DCP molekulák beépültek a kettősrétegbe és abban változást okoztak. A kisszögű

diffrakció eredményeit megerősítették a fagyasztvatöréssel kombinált elektronmikroszkópiával, mint független technikával nyert felvételek. A mintát ~30°C-ról kvencseltük a törés hőmérsékletére. A befagyott szerkezeti formák rögzültek és a töréssel feltárt jellemző felületi morfológiák alapján kétféle doméntípust lehetett megkülönböztetni: sima és hullámos felszínűeket, amelyek a gél és a hullámos gél fázisra jellemzőek. Az eredményt a 79. ábra mutatja. A két felületi karakter típusból a hullámos gél fázisé számszerűsíthető. A felületi hullámok periódusa 24-30 nm között van, ami lényegesen nagyobb, mint a DCP-mentes rendszeré, ami jelzi, hogy a "vendégmolekula" módosítja a  $P_{B'}$ fázis szerkezetét.



78. ábra A kisszögű diffrakciós görbéjének összetett csúcsprofilja a DPPC-DCP-víz rendszer fázisátmeneti tartományában (0,02 DCP/DPPC mólarány)(T=32°C)



79. ábra A gél és a hullámos gél fázisok együttes előfordulása a 2,4-diklórfenol tartalmú vezikulában (DCP/DPPC=0.02, 30°C)

A DSC eredménye – arra vonatkozóan, hogy a DCP/DPPC=0.02 arányú hidratált DPPC rendszer előátmenetét nem kíséri entalpiaváltozás – nem elégséges bizonyíték arra, hogy DCP jelenlétében az előátmenet folytonos fázisátalakulás (a DSC mérés érzékenysége korlátozott). A gyengén elsőrendű ("majdnem folytonos") karakter más észleletek alapján is igazolódott. A folytonos fázisátmenetre jellemző megnövekedett fluktuációk, a "frusztrált" állapot következményei mind morfológiailag, mind a rétegszerkezet változásaival tettenérhetők

voltak. A 80. ábra mutatja azokat a lokális és "különleges" formákat, amelyek sem az  $L_{B'}$ , sem a  $P_{B'}$ a fázisokra nem jellemzőek.



80. ábra A DPPC-DCP-víz rendszer (2·10<sup>-2</sup> mol/mol DCP/DPPC) morfológiája 30°C-on

Az 80. ábra baloldali fényképén cső formában feltekeredett alakzat figyelhető meg, amelynek felszínén szögletes, néhol hatszögletes formában kitöredezett részek vannak. S. Chiruvolu és munkatársai hasonló többrétegű csöves alakzatot figyeltek meg DMPC/geraniol/víz rendszerben (a DMPC a DPPC-hez hasonló lipid: dimirisztoil-foszfatidilkolin, a geraniol egy elágazó szénláncú, egyértékű alkohol) [209]. Hasonló hatszögletes formák a replikák többi részén is megfigyelhetők voltak. A hatszögletes rész kinagyított formája látható a 80. ábra másik részén. A hatszögek belsejében az anyag szemcsés felszínű, maga a hatszögletes forma felületi mintázatnak látszik. A gyengén elsőrendű karakter következményei konkrét adatok formájában is jelentkeztek. A DCP, lipidre nézve 2 %-os átlagos aránya a fluktuációk és a hibahelyek lokális környezetében megnőtt és szerkezeti változást okozott. A bemutatott, összetett Bragg csúcsok tartalmaznak olyan komponenseket, amelyeknek helyei 5,49 nm (30°C), illetve 56,5 nm (32°C) réteg periódusoknak felelnek meg (78. ábra). Ezek az értékek az összetolt ("egymásbatolt", "összefésült", "összeépült", angol kifejezéssel interdigitated) fázis jelenlétét igazolták.

#### ÖSSZEGZÉS:

A DCP jelenlétében megváltozott fázisátmeneti karakter jelentősége nagy, az amfipatikus lipid molekulák önrendeződését, idegen molekulák hatására bekövetkező szerkezeti változékonyságát teremti meg. Ezek a spontán folyamatok megváltoztatják a sejtmembránképletek érzékenyen lokális szerkezetét, így magát a biológiai folyamatokat is befolyásolják.

A DCP kis koncentrációja által kiváltott hatás megfigyelése (a DCP/lipid arány ~10<sup>-5</sup> nagyságrendben van, míg a felhasznált DPPC tisztasága ~99%), tekintettel annak biológiai rendszerekben feltételezett szerepére, további munkákat inspirált és azokról spektroszkópiai területen készültek jelentős közlemények [210–212].

# 5.2.4 A 2,4-diklórfenol-DPPC-víz rendszer szerkezetének tanulmányozása, fázisdiagramjának meghatározása

A 2,4-diklórfenol (továbbiakban DCP), mint vendégmolekula kis koncentrációban befolyásolja a DPPC-víz rendszer gél fázisainak szerkezetét és annak előátmenetét. Az észlelt változásokat és következtetéseket az előző (5.2.3.2) pontban foglaltam össze. A DCP, mint egy "szennyező", kis koncentrációban jelenlévő harmadik komponens, más molekulák esetében is tapasztalható, általánosítható hatását tanulmányoztam a DPPC-víz rendszer előátmenetére vonatkozóan. A DCP molekula szerkezetformáló sajátságának feltárásához, a lipid molekulához viszonyított nagyobb mólarány értékekig kellett vizsgálódni. A felső érték kijelölésének gyakorlati meggondolások szabnak határt. Méréseink során a DCP/DPPC arányt ~10<sup>-5</sup>-től 1,2·10<sup>0</sup> között változtattuk, minden esetben lipidre nézve 20 tömegszázalékos (DPPC/(DPPC+víz)) rendszerben [208]. A növekvő DCP/DPPC arány függvényében a DSC mérések alapján a következőket lehetett megállapítani: DCP/DPPC=0,1 mol/mol aránynál egy fázisátalakulást jelző csúcs 35,9°C-nál (fő átmenet). 0,2 aránynál két fázisátalakulást jelző csúcs jelent meg: 31,2°C-nál (fő átmenet) és 23,7°C-nál. Az utóbbi gyenge endoterm csúcs. Tovább növelve a DCP mólarányát, DCP/DPPC=0,5 értéknél eltűnt a fő átmenet és a kisebb arányoknál megfigyelt szatellit csúcs megnőtt, ami nagyobb DCP/DPPC arányoknál 25°C-nál markáns, éles fázisátmeneti csúcsalakot mutatott. A 25°C-on észlelt fázisátalakulásban megszűnő és megjelenő fázisok szerkezetének megállapításához kisszögű szórásvizsgálatokat végeztünk a DCP/DPPC=1 mólarányú rendszeren. Az eredményt a 81. ábra mutatja. A szórásgörbék több rendben Bragg reflexiókat mutatnak mindkét hőmérsékleti formában. A csúcspozíciók arányai rétegrendszerről tanúskodnak. 30°C-on a periódus 6,7 nm, ami pontosan a folyadékkristályos állapotnak megfelelő karakterisztikus érték. 20°C-on a periódus 5,35 nm. A lipidek kettősrétegen belüli pakolódásának megfelelő nagyszögű tartományban is elvégeztük a mérést, ami alapján 30°C-os állapot nem rendezett (nem volt reflexió). 20°C-on határozott diffrakciós csúcsot detektáltunk, 0,417 nm-nek megfelelő rácsálladóval. Tehát a 25°C-os fázisátmenet a folyadékkristályos fázishoz és egy "új" gél fázishoz tartozik. A DCP nem ismert új tulajdonságát ismertük fel: lipidhez viszonyított, 0,2-nél nagyobb arányú jelenlétében, az alap DPPC-víz rendszertől idegen, összetolt gél szerkezetű fázist eredményezett.


81. ábra A DPPC-DCP-víz rendszer (1 mol/mol DCP/DPPC) összetolt gél (20°C) és folyadékkristályos (30°C) fázisainak kisszögű diffrakciós görbéi (a diffrakciós profilon szembeötlő az első és másodrendű Bragg reflexiók csúcsarányának megváltozása, ami a kettősréteg elektronsűrűség-profiljának jelentős módosulásának a következménye)

A "gél" fázis periódusa lényegesen kisebb, mint a DPPC kettősréteg rendszereké. Emellett az alrács a lipidláncainak rétegen belüli szoros pakolódását jelzi. Tehát összetolt (*interdigitated*) fázis formálódott. A fázis felületi morfológiája a folyadékkristályos állapot sima felszínéhez hasonlatos, amit az alábbi 82. ábra mutat.



82. ábra A DPPC-DCP-víz rendszer összetolt (interdigitated) gél fázisának morfológiája (1 mol/mol DCP/DPPC)

Az összetolt fázis szerkezetének pontos megismerésére a kettősréteg részletes megismerését biztosító röntgenvizsgálatokat végeztünk. A hagyományos kisszögű technikát kontrasztvariációs módszerrel bővítettük, és 2,4-diklórfenol mellett 2,4-dibrómfenolt használtunk. Feltételeztük, hogy a 2,4-dibrómfenol (továbbiakban DBrP) elhelyezkedése a kettősrétegben ugyanaz, mint a DCP-é. Ennek ellenőrzésére a dihalogénezett fenol/DPPC=1 arányú 20 tömegszázalékos rendszer "hagyományos" kisszögű röntgenszórását határoztuk meg szinkrotron állomásnál (HASYLAB/B1) [213,214]. Határozott diffrakciós csúcsokat mutató görbéket nyertünk (83. ábra). A DCP és a DBrP tartalmú mintákból származó, négy rendben megjelenő Bragg csúcsok pozíciói hibahatáron belül megegyeznek, azaz a két

rendszerben a periódustávolságok egyenlőek (5,12 nm). A csúcsok arányai viszont lényegesen eltérőek. Ennek oka, hogy a két halogén elem rendszáma eltérő és ennek következtében az elektronsűrűség profilok, következésképpen a csúcsarányok is eltérőek a két diffraktogrammban.



83. ábra A kisszögű kontrasztvariáció alapja: a DBrP és DCP tartalmú rendszerek Bragg reflexióinak aránya különböző (1 mol/mol DCP(DBrP)/DPPC), a SAXD-ból számított, a halogénezett fenolokra jellemző elektronsűrűség profil a kettősrétegben

A (31) összefüggés alapján rekonstruált elektronsűrűség profilt szintén a 83. ábra (annak jobboldali része) tartalmazza. A DPPC-víz rendszer 4,2 nm fej-fej csoport távolsága helyett a halogéntartalmú rendszerekben 3,6 nm, ami jó egyezésben van a molekuladinamikai számítás eredményeivel [215]. Felhasználva a klór atomok a bróm atomokkal való helyettesítésből elektronsűrűség különbséget, kiszámítottuk származó а halogén atomok radiális sűrűségfüggvényét. A sűrűségfüggvény alapján, ebben az esetben a halogén atomok távolságára 3,0 nm értéket tudtunk becsülni. A DBrP használata lehetővé tette az anomális kisszögű szórási technika alkalmazását. Elvileg a DCP esetében, a klór abszorpciós éle közelében is végezhető anomális mérés, de ennek kivitelezéséhez olyan berendezésekre lenne szükség, ami klór éle közeli mérést biztosítani tudná. A bróm éle (13474 eV) közelében  $(E_1=12970 \text{ eV}, E_2=13434 \text{ eV}, E_3=13470 \text{ eV})$  végeztük a méréseket. A DBrP nagy koncentrációja (0,1 és 1 mol/mol DBrP/DPPC) lehetővé teszi a tiszta rezonáns görbék meghatározását. A 84. ábra az ASAXS mérés "teljes" görbekészletét bemutatja. Egy anomális görbét, egy szeparált görbét és egy tiszta rezonáns görbét rajzoltam fel a 0,1 és 1 mol/mol koncentrációk esetére.



84. ábra A DPPC-DBrP-víz rendszerek anomális kisszögű, és az abból meghatározott szeparált, valamint tiszta rezonáns görbéi (0,1 DBrP/DPPC (bal oldal); 1 DBrP/DPPC (jobb oldal))

A 84. ábra mutatja a DPPC-DBrP-víz rendszer sajátságát, azt, hogy szeparált görbék elsőrendű Bragg csúcs profilja negatív. Ennek oka az, hogy az él közelében az elsőrendű csúcs magasabb, mint az éltől távolabb (pontosan ugyanolyan tendenciát mutat, mint a 83. ábra által bemutatott DCP-DPPC-víz és DBrP-DPPC-víz rendszerek reflexiói). A számítás végeredményét, a DBrP molekulák elektronsűrűség profilját a 85. ábra segítségével mutatom be. A számítás a parakristályos elmélet alapján történt, a DBrP molekulák helyét a kettősrétegben Gauss függvénnyel adtuk meg [216]. A 85. ábrán két koncentrációhoz tartozó eredményeket mutatok be. A 0,1 mol/mol DBrP/DPPC arányú rendszert, ami kalorimetrikus adatok alapján 20°C-on gél állapotban van, és a nagyobb 1/1 DBrP/DPPC arányú rendszert, ami összetolt (interdigitated) fázisban van. A DBrP arányoknak megfelelő eloszlásokat vehetjük szemügyre az ábrán. A kis DBrP koncentrációban a molekula helye kevésbé meghatározott, míg a nagy koncentráció esetében az elhelyezkedés szűkebb rétegnormális menti tartományra korlátozódik az összetolt fázisú, csökkent lipid-rétegyastagságnak megfelelően. A kontrasztvariációs és anomális eredmények nem voltak összhangban [214]. Az ASAXS eredmények alapján a DBrP molekulák a kettősréteg két oldalán 3,4 nm -re vannak egymástól, kontrasztvariációs módszerrel pedig az "átlagos" halogén atomok távolsága 2 és 3 nm közötti érték. Mindkét módszernek és azok technikáinak vannak nehézségei. Az ASAXS módszer és technika esetében az anomális korrekciós faktorok (a konkrét kémiai környezetre vonatkozó értékeinek) pontos ismerete hiányzik, továbbá

technikai nehézségek lépnek fel, valamint az anomális effektus (a kontrasztvariációs módszerhez képest) csekély. Egyértelmű előnye, hogy ugyanarról az elemről van szó, preparálási gondok és a helyettesíthetőség dilemmája nem lép fel. A kontraszthatás módszere nagy effektust eredményez. Ugyanakkor súlyos ellenérv, hogy alkalmazásakor biztosan független módon preparált mintákra van szükség. A DBrP és a DCP pontosan ugyanolyan elhelyezkedése nem biztosítható. A DCP vagy DBrP megoszlása a vezikulák belsejében és a vezikulák közötti vizes térben nem ismert. (Az erre vonatkozó irodalmi adatok ellentmondóak. A termotrop tulajdonságok szempontjából a hígabb 5 vagy 10 tömegszázalékos rendszer is a 20 tömegszázalékos rendszerhez hasonlóan viselkedik. A vizsgált rendszer kiválasztása során ezért választottam a töményebb formát, mert a vizes fázis növelése a vendégmolekulák hatásának vizsgálata szempontjából kedvezőtlen.) A kontraszthatás kihasználása érdekében 2,4-difluorfenollal is próbálkoztunk, eredménytelenül. Feltételezem, hogy a preparálási nehézségek<sup>17</sup> okozták a DCP-vel és a DBrP-lal még inkább nem konzisztens eredményeket.



85. ábra Az elektronsűrűség profil alapján megadott részecskesűrűség gél fázisra (0,1 DBrP/DPPC: fent) és az "interdigitated" fázisra (1 DBrP/DPPC: lent) (ASAXS mérés)

A DBrP-t kis koncentrációban tartalmazó minták anomális kisszögű vizsgálatát, a tiszta rezonáns görbék meghatározását biztosító módon, a kis effektus és a nagy mérési zaj miatt nem tudtuk elvégezni. Ugyanakkor a különböző energiákon nyert szórásgörbékből számolt szeparált görbék is értékes információval szolgáltak, amelyet a 86. ábra reprezentál. Az 5.2.3.2 pontban bemutattam, hogy a DCP/DPPC = $2 \cdot 10^{-2}$  arányú rendszerben az előátmenet elveszíti elsőrendű fázisátmeneti karakterét. DBrP/DPPC= $2 \cdot 10^{-2}$  arányú rendszert 20°C-on vizsgáltam [217]. A kapott kisszögű diffrakciós csúcs alapján a várakozásnak megfelelően d=6,64 nm, egy perturbált gél fázis periódustávolságának megfelelő értéket kaptunk. A szeparált görbén megfigyelt diffúz profilú Bragg csúcsok pozíciói ezzel szemben 7,22 nm-t adtak, ami a hullámos gél fázis periódusa közeli értéknek felel meg. Tehát a DBrP molekulák

<sup>&</sup>lt;sup>17</sup> A 2,4-difluorfenol illékony.

eloszlása a mintában nem homogén, a DBrP-ban "dús" domének szerkezete a hullámos gél fázisnak felel meg. A DBrP által indukált hullámos gél fázis, egy módosult hullámos gél fázis (periódusa nagyobb, mint a  $P_{B'}$ –é, kettősrétegeinek felületi hullámzása nagyobb (~30 nm), mint a  $P_{B'}$ –é (14-16 nm), ezért azt  $P_{B'(mod)}$ –nak neveztük el.



86. ábra A DPPC-DBrP-víz rendszer (2•10<sup>-2</sup> mol/mol DBrP/DPPC) anomális kisszögű, és szeparált görbéi, a bróm K abszorpciós éle közelében, valamint a fagyasztvatöréssel feltárt felületi morfológia is kétféle felületi karaktert mutat a kétféle fázisnak megfelelően.

Az anomális módszerrel megfigyelt, DBrP lokális koncentrációnövekedése folytán képződött  $P_{\beta'(mod)}$  szerkezetű részeket, hullámos felületükről ismerhetjük fel. A fagyasztvatöréssel készített képet a 86. ábrához illesztettem.

Összegzésül bemutatom a DPPC/DCP/víz rendszer fázisdiagramját a  $4,10^{-5}$  - 1 DCP/DPPC mólarány tartományban (87. ábra) [208]. A fázisok azonosítását kalorimetrikus (DSC), kis és nagyszögű diffrakciós (hagyományos, kontraszt, és anomális technikák), módszerek valamint fagyasztvatöréses alkalmazásával végeztük. А fázisdiagram meghatározásában alapvető szerepe a kisszögű diffrakciós méréseknek volt, hiszen a rendszer és minden szerkezeti formája lamellás, azok mindegyikének karakterisztikus periódustávolsága van. A fázisdiagram két sajátos tartományt mutat kis és nagy DCP/DPPC arányoknál. A kis DCP/DPPC mólarány (%-os nagyságrendű "szennyezés") tartományban összetett, egy hőmérséklet értéknél többféle szerkezet fordul elő. A "\*"-gal jelölt tartomány, az a tartomány, ahol az előátmenet megszűnik (az előző, 5.2.3.2 pontban leírtaknak megfelelően). A fázisok szerkezetvizsgálata alapján a DCP (és általában a halogénezett fenolok) a gél fázist alakítják hullámos gél fázissá. A DCP által indukált hullámos gél fázisban a felületi redő jellemzően 12-14 nm-es karakterisztikus periódusa 24 – 30 nm-re nő. A másik jellegzetessége a fázisösszetételnek a magas DCP koncentrációnál megjelenő összetolt gél fázis. Ez a fázis a növekvő DCP koncentrációval folyamatosan alakul ki. Követve a növekvő DCP/lipid arányt a fázisdiagramon (például 20°C-on), a gél fázis

hullámos géllé, majd az összetolt (interdigitated) gél fázissá alakul. A "szomszédos" fázisok széles tartományban léteznek egyidejűleg, ami analógiát mutat az eutektikumokkal.



87. ábra A DPPC/DCP/víz rendszer fázis<br/>diagramja a 0 (4·10-5)) – 1 DCP/DPPC mólarány tartományban

A vizsgálatokat DPPE alapú modellmembrán rendszerrel is elvégeztük. Megállapítottuk, hogy a gél fázis hőmérséklet tartományában a periódus távolság 5,7 nm-ről 5,1 nm-re csökkent a szemrevételezett  $10^{-3} - 10^{-1}$  DCP/DPPE mol/mol tartományban. Folyadékkristályos állapotban a periódus érték nem változott a tiszta rendszer jellemző értékéhez képest. A periódus ilyen mértékű változása szintén az összetolt fázis keletkezését mutatta [218].

# 5.2.5 Antimikrobiális szerek hatása foszfolipid alapú modellmembrán rendszerekre

### 5.2.5.1 Szulfadiazin hatása DPPE (DPPG)-víz alapú rendszerekre

Abból a feltételezésből indultam ki, hogy a sejtmembránok lokális DPPE/DPPG aránya szélsőséges mértékben eltérhet, ennek következtében a Szulfadiazin (SD, 88. ábra) a különböző összetételű helyeken eltérő szerkezetváltozást okozhat. Ennek megfelelően három különböző modell-rendszert vizsgáltunk, amelyekben a két lipid aránya (DPPE/DPPG) 95/5, 80/20, 50/50 (mol/mol) volt [219]. A kisszögű szórásgörbék a kezdeti tartományában, a szórásváltozó q~ 0,6 1/nm értékéig lecsengenek. A kisszögű szórásnak ez a tartománya a több tíz nm kiterjedésű inhomogenitások, eltérő összetételű tartományok (domének) szórásának következménye. Ezeknek a képződményeknek változatos formáit, sok esetben jellegzetes morfológiáit fagyasztvatöréses módszerrel figyeltük meg; a tipikus eseteket a következőkben mutatom be. A kisszögű szórásgörbék diffrakciós jelenséget is mutattak; a diffrakciós csúcsok a lecsengő szórásgörbén ültek. Tekintettel arra, hogy a 10 mM TRIS pufferben hidratált

DPPE rétegrendszere egyes esetekben, intenzív Bragg reflexiót csak az első rendben szolgáltat, a bemutatott ábrák ennek a csúcsnak a környezetére korlátozódnak. A Szulfadiazin arányát három nagyságrendben változtattuk, értékei a következők voltak: 0 (referencia), 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>0</sup> (mol/mol). Az eredményeket a 89. ábra mutatja. A lipidösszetételnek megfelelően, három oszlopba rendeztem a görbéket, balról jobbra haladva a DPPE/DPPG arányok 95/5, 80/20, 50/50. A rétegszerkezetre jellemző Bragg csúcsok (illetve korreláció híján szórásgörbe részletek) mellett a lipid alrács szórási/diffrakciós profiljai is fel vannak tüntetve. A méréseket a rendszerek gél és folyadékkristályos állapotainak megfelelően 40, 50, 60, 70 °C-on végeztük, és ennek megfelelően, egymás fölé csoportosítva vannak bemutatva a görbék (89. ábra). A SD molekula kémiai karakterének következtében liposzómán és a rétegen belüli elhelyezkedése - az előzőekben leírt dihalogénezett fenolokhoz hasonlítható részletességgel – nem volt meghatározható. A SD oldhatósága vízben és más oldószerekben is alacsony (az erre vonatkozó irodalmi adatok ellentmondóak) [220]. A molekula tulajdonságainak megfelelően a foszfolipidek fejcsoport-környéki régiójában lokalizálódik, de az adott rendszer minden komponense hatással van elhelyezkedésére, ezáltal a szerkezeti formák alakulására.



#### 88. ábra A szulfadiazin (SD) szerkezeti képlete

A SD készítmény tisztasági foka (99 és 99,8 % -os formákban vizsgáltuk), a pufferrendszer típusa, valamint annak kapacitása hatással voltak a vizsgált lipidrendszerek rétegszerkezetének alakulására [221]. A saját építésű "*SWAXS*" kamerával nyert nagyszögű tartománybeli eredményekkel a SD molekuláknak a lipidek pakolódására gyakorolt hatását tudtuk követni. Ez a magyarázata annak, hogy a bemutatott ábrák nagyszögű diffrakciós részletekkel is bővítve vannak.

A három lipidarány közül a 95/5 mólarányú rendszer mutat szabályos, korrelált rétegszerkezetet. A Szulfadiazin növekvő koncentrációja ezt megszünteti (89. ábra), de a karakterisztikus Bragg csúcs mind a négy SD/lipid aránynál, mindkét fázis hőmérséklettartományában detektálható.



89. ábra A DPPE-DPPG-SD-víz (10mM TRIS) rendszer (95/5,80/20,50/50 mol/mol DPPE/DPPG) kisszögű és nagyszögű diffrakciós szórási görbéinek karakterisztikus részletei lineáris ábrázolásban (a görbék csoportja a SD koncentrációja növekedésének megfelelően – a piros nyíl irányában felfelé – van ábrázolva; 0,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{0}$  SD/lipid)

Az alrácsokhoz tartozó Bragg profilok alakváltozása (minden DPPE/DPPG aránynál) egyértelműen mutatja a gél és a folyadékkristályos fázisok képződésével együtt járó változásokat. A 80/20 lipidarányú rendszerben a rétegek közötti teljes korreláció-vesztés figyelhető meg, a fázisátmenet során bekövetkező szerkezetváltozás csak a nagyszögű diffrakciós csúcs alakváltozásával követhető. A SAXS görbe alakja a kettősréteg formafaktorának megfelelő – nehezen karakterizálható- forma, ami semmi esetre sem feleltethető meg egy végletesen kiszélesedett Bragg reflexiónak. A korrelálatlan rétegek, nagyobb méretskálára kiterjedő esetleges sajátságos formái egy laboratóriumi kisszögű technikával nem tanulmányozhatók. Az 50/50 arányú lipidkeverék kisszögű szórásképe összetett. A kettősréteg formafaktorának megfelelő, q=0,6-tól q=1,2-ig [1/nm] terjedő alapgörbén több, kiszélesedett reflexió ül. Feltételezem, hogy néhány rétegszámú (5.2.2. szakaszban tárgyalt), eltérő rétegperiodicitású blokkok képződtek és azok szórása jelenik meg ilyen módon. A háromféle lipid arányú rendszer "nanorétegű" struktúráját összevetve, a 80/20 -as mutat legnagyobb mértékben korrelálatlan, rendezetlen formát. Másképpen fogalmazva és visszatérve a kiindulási hipotézisre, miszerint a lipidek aránya meghatározza a lokális szerkezeti formákat – a lipidek arányának hatása (adott SD koncentráció esetén) a rétegek közötti korreláció mértékében mutatkozik meg. A három rendszer tipikus morfológiáit az alábbi 90. ábra mutatja be, SD/lipid = 0,1 mólarány esetében.



90. ábra A DPPE-DPPG-SD-víz (10 mM TRIS) rendszerek (DPPG/DPPE mólrányok:95/5, 20/80, 50/50: fagyasztvatöréssel nyert morfológiái, a lipid és SD/lipid=0,1 rendszerek esetében

## ÖSSZEGZÉS:

Általánosan a SD jelenléte a vezikulák szabályos rétegszerkezetének leépüléséhez vezetett és nem tapasztaltunk más, kisszögű szórással, diffrakcióval jól karakterizálható nanostruktúra képződését. Általánosságban rosszul korrelált rétegrendszerekre jellemző komplex, sok kísérleti paramétertől függő szórási görbék alakultak ki. Szükség volt minden egyéb kiegészítő információra. Elsősorban a fagyasztvatöréssel feltárt morfológiára támaszkodhattunk, mellyel a morfológiai változatosságot valamint az ezzel járó, a SD molekulák inhomogén eloszlására utaló jeleket tudtuk megfigyelni.

### 5.2.5.2 Aminoglikozidok hatása foszfolipid-víz alapú modellmembránokra

A baktériumellenes, aminoglikozidok közé sorolt klinikai szerek közül három hatóanyagának a modellmembránokra kifejtett hatását tanulmányoztuk. Ezek a hatóanyagok a következők voltak: *streptomycin, tobramycin* és a *spectinomycin*. A molekulák szerkezeti képletét az alábbi, 91. ábra mutatja. A humángyógyászatban felhasznált szerek hatásait kétfajta sejtmembrán összetételnek megfelelő modellmembrán rendszerben vizsgáltuk: a DPPC alapú vezikulákkal az emberi sejtmembránok, a DPPE-DPPG-ből álló rendszerekkel pedig a szerek "targetjeinek" a baktériumok hasonló felépítésű sejtfalának viselkedését kívántuk tanulmányozni. A biológiai relevancia érdekében a mérések 10mM (pH=7.4) koncentrációjú foszfát pufferban készültek.



91. ábra A modellmembránokra kifejtett hatásuk vizsgálata céljából tanulmányozott hatóanyagok szerkezeti képlete: streptomycin (STR), tobramycin (TOB) és spectinomycin (SPE)

## 5.2.5.2.1 Aminoglikozidok hatása DPPC-víz alapú vezikulákra

A DPPC-víz rendszer három alapfázisának megfelelő hőmérsékleti értékeken végeztük a méréseket: 26°C-on (gél fázis formálódik), 37°C-on (hullámos gél fázis alakul ki) és 45°C-on (folyadékkristályos fázis keletkezik, humán szervezetre gondolva a "lázas állapot"). A hatóanyagok DPPC-re viszonvított mólaránya 0, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-1</sup> és 10<sup>0</sup> volt. Az aminoglikozidok ("AG") kisebb koncentráció tartományukban (AG/DPPC=10<sup>-2</sup>, 10<sup>-1</sup>) a DPPC-víz alapú liposzómák tipikus, multilamellás szerkezetét alapvetően nem befolyásolták [222]. Mindhárom hőmérsékleti tartományban, több rendben, megfigyelhetők a kisszögű diffrakció jelei a Bragg csúcsok, ahogy azt a 92. ábra mutatja. Szignifikáns változás a spectinomycin (SPE) esetében, annak vizsgált legnagyobb koncentrációjánál (SPE/DPPC=1) lépett fel. Gél fázisokban (L<sub>B'</sub> és P<sub>B'</sub> fázisok) teljes korrelációvesztés következett be. Kihasználva SWAXS készülékünk előnyeit, az alrács Bragg csúcsait is rögzítettük. A tobramycin (TOB) és a streptomycin (STR) nagyon hasonló röntgen képeket eredményezett, ezért a 92. ábra csak a két "szélsőséges" eredményeket mutató görbesereget tartalmazza, a spectinomycin és a streptomycin hatásainak bemutatására. A TOB és a STR hatásainak hasonlósága azzal a ténnyel magyarázható, hogy szerkezetét tekintve mindkettő "igazi" aminoglikozid. Nem meglepő, hogy az "osztályidegen" SPE indukált eltérő változásokat.



92. ábra A streptomycin (STR) és a spectinomycin (SPE) hatása a DPPC-víz alapú liposzómák szerkezetére. Az AG/DPPC rendszerek kisszögű és nagyszögű diffrakciós szórási görbéinek karakterisztikus részletei lineáris ábrázolásban (a görbék csoportja az AG koncentrációja növekedésének megfelelően – a piros nyíl irányában felfelé – van ábrázolva, 0,  $10^{-2}$ ,  $10^{0}$  AG/DPPC)

A 92. ábra alapján megfigyelhető, hogy a SPE rétegszerkezet-leépítő hatása, az alrácsban okozott zavarral párosul. Utóbbi magyarázata a SPE molekulák kettősrétegbe való beépülése. Feltételezhető, hogy a lipid molekulákkal kialakult erős kölcsönhatás következményeképpen a lipidek szabályos hexagonális pakolódása sérül. A SPE molekulák lokalizálódása a fejcsoport régiójának töltésviszonyait megváltoztatja és ennek következtében a réteg – réteg közötti kölcsönhatásokat perturbálva eredményezi a szabályos rétegrács torzulását. Az egydimenziós rétegrács részleges és nagyobb mértékű torzulásának következményeit a kisszögű diffrakciós görbe alakjára nézve, az alábbi, 93. ábra illusztrálja. A blokkok méretének változtatásával, a héjmodell alkalmazásával számítottam ki a görbéket.



93. ábra A spectinomycin jelenlétében kialakult SAXS profil (felső görbe) és rekonstruálása a héj modell alapján

#### 5.2.5.2.2 Aminoglikozidok hatása DPPE/DPPG-víz alapú rendszerekre

Az vizsgálatokat egyféle aminoglikozid aránynál (AG/lipid= $10^{-1}$ ) és a lipidkeverék kiterjedt hőmérsékleti fázistartományának megfelelő hőmérsékleteken, 40, 50, 60 és 70 °C-on végeztük. Kétféle lipidarányt tanulmányoztunk: a DPPE/DPPG=95/5 és 80/20 mólarányú rendszereket [223]. Az általános megfigyelés az volt, hogy az AG-ok (streptomycin (STR), tobramycin (TOB), spectinomycin (SPE)) hatása lényegesen különbözött a két lipidarányú rendszerben [224]. A DPPE/DPPG=95/5 rendszer esetében az AG-ok nem befolyásolják a rétegszerkezetet, csak az alrácsot. Ez a megfigyelés azt bizonyította, hogy a "vendégmolekulák" megjelentek a kettősrétegben, tehát a vezikula egészében is. Ennek ellenére nem okoztak változást a rétegrácsban. A 80/20 mólarányú rendszer (emlékeztetőül: a korábban vizsgált DPPE-DPPG összetételű rendszerek közül legkevésbé korrelált rétegrendszer) esetében meglepő eredményt kaptunk: AG-ok jelenlétében szabályos, a 95/5 arányú rendszerhez hasonló formává alakultak, amit a több rendben detektálható Bragg reflexiók jeleztek. A három AG közül a spectinomycin (SPE) által indukált szerkezet eltért a lamelláris szerkezettől. 60 °C alatt hexagonális nanoszerkezet alakult ki. Ezt a hatást azért kell külön kiemelni, mert a SPE – a DPPC-víz alapú liposzómákban mutatott, a többi AG-hoz képest eltérő – viselkedése ismét tapasztalható volt (a SPE kémiai szerkezetét tekintve nem AG, hanem az AG-ok közé sorolt aminocyclitol). Az antibiotikumok rétegszerkezetre kifejtett hatásainak eltérése azt mutatta, hogy ezeknek a szereknek a kémiai jellemében lévő különbségek az összetett membránrendszerek mátrixában eltérő lokális környezetet indukálhatnak, ami a szerek hatásmechanizmusát befolyásolja. A szerkezetvizsgálatok eredményét a 94. ábra foglalja össze. Az ábrán jól látható, hogy a DPPE-DPPG (80/20 mol/mol arányú) rendszer diffúz kisszögű szórás profilja mindhárom AG esetében a rendezett nanostruktúráknak diffrakciójának megfelelő alakot vesz fel.

A röntgenszórás (diffrakció) eredményeit az elvégzett morfológiai vizsgálatok egyértelműen alátámasztották. A DPPE-DPPG (80/20) rendszer szabálytalan, összetett törési felszínei helyett kötegekbe rendezett, szorosan pakolódó rétegsíkok sokasága jelenik meg tobramycin hatására (95. ábra).



94. ábra A DPPE-AG-víz rendszerek (DPPE/DPPG= 80/20, 95/5 mol/mol arányok) kisszögű és nagyszögű diffrakciós görbéinek karakterisztikus részletei (a görbék csoportja a növekvő hőmérsékletek 40, 50, 60 és 70 °C irányában felfelé van ábrázolva, AG/lipid= $10^{-1}$ )



95. ábra A tobramycin hatása a DPPE-DPPG (80/20 mólarány) lipidösszetételű modellmembrán felületi morfológájára. A:DPPE-DPPG víz rendszer, B,C:tobramycin jelenlétében szabályosan pakolódott rétegek kötegei jelennek meg.

A spectinomycin hatására formálódott hexagonális szerkezetet SAXD csúcsok pozíciói valamint – független módszerként - a TEM felvételek igazolják (96. ábra).



96. ábra A spectinomycin hatása a DPPE-DPPG (80/20 mólarány) rendszerben. Hexagonális fázis formálódik amit a karakterisztikus Bragg csúcsok analízise és a fagyasztvatörés bizonyít

#### ÖSSZEGZÉS:

A baktériumellenes aminoglikozidok közé sorolt klinikai szerek két típusa ("valódi" aminoglikozidok és aminocyclitol) eltérő szerkezeti változást okoz a humán és bakteriális membránok modellrendszereiben.

# 5.2.6 Salmonella minnesota (R595) lipopoliszacharid hatása modellmembrán rendszerekre

#### 5.2.6.1 A felhasznált hidratált lipidkeverékek általános tulajdonságai

Különböző összetételű, kettősréteget (DPPC, DPPE, DPPG) és nem kettősréteget képző (DPPA, DPG) lipidek keverékéből preparált modell membránokat vizsgáltunk (22. ábra) [225]. A DPPE-DPPG alapú vezikulák szabálytalanok, rétegrendszerük rosszul korrelált, ahogy ezt a 5.2.5 fejezetben bemutattam. A hidratált DPPE-DPPG rendszer (különös tekintettel annak 80/20 mólarányú lipid keverékére) sajátos elegyedési tulajdonságokkal rendelkezik [86]. A rendszerben kialakuló domének összetétele (DPPE/DPPG aránya) és ezzel összefüggő kiterjedése a felépítő lipidek eltérő karakteréből adódóan nagymértékben változik minden egyéb paraméter hatására. A legfontosabb tényező a felépítő komponensek tisztasága valamint az alkalmazott pufferrendszer fajtája, koncentrációja. A biológiai környezethez való hasonlatosság érdekében nátrium-foszfát pufferrendszert (10 mM PBS, pH=7,4) használtunk. A pufferrendszer alkotói befolyásolják a rendszer rétegeinek elhelyezkedését. A DPPE-DPPG 80/20 mólarányú rendszer rétegszerkezete nagyobb mértékben korrelált PBS pufferrendszerben, mint TRIS pufferrendszerben. A DPPE-DPPA alapú modellmembrán esetén, általam eddig egyik rendszerben sem tapasztalt mértékű, nagyfokú rendezettség lépett fel. A tapasztalat magyarázatára ismét a 22. ábra szolgál (a két lipid az ellentétes karakterű régiók irányában csonka kúp alakú). A DPPE-DPG rendszernél a

szabályos liposzómák mellett kis görbületi sugárban előforduló lamellák is megtalálhatók. Ez a tulajdonság a DPG erősen kúpos geometriai alakjából következik. A DPG a nemkettősréteget képező lipidekhez tartozik, mégsem bontja meg a gél állapotú lamelláris szerkezetet, hanem stabilizálja a DPPE molekulák közötti hidratációs és elektrosztatikus kölcsönhatásokat. A folyadékkristályos állapotban a rendszer fluktuációja megnő, a molekulák - mind a DPPE, mind a DPG - nem-kettősréteget kialakító tulajdonsága dominánssá válik, a lamelláris szerkezet megbomlik és az egyes lipidek által kedvezményezett inverz (hexagonális, köbös) struktúrák alakulnak ki. A DPG által indukált szerkezeti változás összefüggésbe hozható bioaktív tulajdonságaival, miszerint transzmembrán szignálok átvitelében, valamint különböző membránhoz kötött enzimek aktiválásában és fúziós folyamatokban játszik fontos szerepet.

#### 5.2.6.2 Lipopoliszacharid jelenlétében kialakult nanoszerkezetek

Kisszögű röntgenszórással egyértelműen megállapítható, hogy a lipopoliszacharid (a következőkben LPS-sel rövidítem) molekulák vízben spontán módon alakítanak ki nanoszerkezeteket. Ezek a szerkezetek szintén a liotróp folyadékkristályos rendszerekhez tartoznak. Az irodalomban széles körben tanulmányozták a lipid-A, az R-LPS molekuláinak viselkedését [119,226,227]. Ezen belül számos publikáció jellemzi a munkánkban vizsgált *Salmonella minnesota* R595 LPS biológiai és biofizikai sajátságait. A teljesen hidratált R595 LPS 32 °C környezetében mutat fázisátmenetet gél és folyadékkristályos állapota között. A láncolvadási folyamat igen széles, 20 és 35 °C közötti hőmérséklet tartományra terjed, amely a biológiai eredetű LPS heterogenitását mutatja [117,228]. Közel fiziológiás körülmények között, teljesen hidratált állapotban e molekulák köbös vagy inverz hexagonális szerkezeteket alakítanak ki. Kétértékű ionok (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) jelenlétében, vagy alacsony víztartalom esetén a réteges szerkezet válik dominánssá [118,229]. Kísérleteinkben a *Salmonella minnesota* R595 mutáns baktériumtörzsből előállított endotoxin hatását vizsgáltuk, amely csak lipid-A-ból és két KDO molekulából épül fel<sup>18</sup> (97. ábra).

Az LPS humán modellmembránra (DPPC/víz rendszer) kifejtett hatását vizsgálva megállapítható, hogy az LPS kis koncentrációban a szabályos rétegszerkezet leépüléséhez vezet [230]. A vizsgált legnagyobb LPS koncentrációnál (1/1 LPS/lipid mólarány  $\approx$  3,40

<sup>&</sup>lt;sup>18</sup> "szokatlan" cukormolekula: 3-dezoxi-D-manno-2-oktulónsav

LPS/lipid tömegarány<sup>19</sup>) a lamelláris és a köbös szerkezetek együttes előfordulását figyeltük meg.



97. ábra A Salmonella minnesota R595 LPS szerkezeti felépítése

Ez azt jelenti, hogy a kisszögű szórásgörbék alakja összetett volt és a Bragg csúcsok profiljának leírása a réteges és a köbös fázisokra jellemző szórásgörbék összegeként volt lehetséges. A rendszer keverék, két szerkezeti típusból álló összetett jellege a DPPC-víz fluid fázisának hőmérséklettartományában (46°C felett) is megmaradt. A rendszerben az LPS által kedvezményezett köbös szimmetria tisztán nem jelent meg. Feltételezem, hogy a DPPC molekula fázisátmenet során bekövetkező alakváltozása ellensúlyozza az LPS molekulák által preferált nagyobb görbületű struktúrákat.



98. ábra A DPPC alapú rendszerek kisszögű szórási görbéi az alaprendszer gél (bal oldali görbék), hullámos gél (középső görbesereg) és folyadékkristályos (jobb oldali görbék) állapotának megfelelő hőmérsékleteken. A görbéken feltüntetett értékek az LPS/DPPC tömegarányt jelölik.

<sup>&</sup>lt;sup>19</sup> A tömegarány szerepeltetése a korrekt, mert az LPS minták esetében a móltömegre vonatkozó adatok csak téjékoztató jellegűek.

Az LPS kis mennyiségben a DPPE-DPPG alapú modellmembránban fázisszeparációt okozott. A megfigyelést úgy értelmezem, hogy DPPE-ben gazdag, belső szerkezetükre nézve réteges domének és köbös szerkezetű, LPS-ben dús régiók alakultak ki [231]. A kisszögű alakjának figyelembevételével levont következtetést erősíti meg a röntgenszórás fagyasztvatöréssel nyert képi információ, amelyet a 99. ábra együttesen mutat be. A vizsgált 1/1 LPS/lipid mólarány (3,4 tömegarány) a rendszer egészére kiterjedő köbös fázist indukál. A hőmérséklet függvényében rögzített kisszögű görbéken a korrelálatlan rétegszerkezetnek és annak formafaktorának megfelelő összetett szórási görbe figyelhető meg. A görbealak kritikusabb szemrevétele után a lokális csúcsok, mint a köbös fázis karakterisztikus csúcsainak diffúz változatai figyelhetők meg. A lokális csúcsok indexelése a 99. ábrán van feltüntetve, ami a következő sorozatnak felel meg:  $\sqrt{2/a_0}$ ,  $\sqrt{4/a_0}$ ,  $\sqrt{6/a_0}$ ,  $\sqrt{8/a_0}$ ,  $\sqrt{12/a_0}$ ,  $\sqrt{14/a_0}$ , ahol a<sub>0</sub>=11,2±0,08 nm, a rácsállandó. A vizsgált modellrendszer lipid összetétele megközelíti a bakteriális sejtmembrán összetételét, ezért az LPS által indukált köbös szerkezet nagy valószínűséggel a reális rendszerekben is bekövetkezhet. Az LPS membránba történő beépülése után lokálisan felhalmozódhat, vagy akár domináns mennyiségben is jelen lehet, például az LPS-t "hordozó" mikroba esetében. Kétértékű ionok jelenléte nélkül a membránban jelenlévő DPPE és DPPG lipidekkel lokálisan köbös fázist indukálhat, mellyel áteresztővé teszi az egyébként impermeábilis kettősréteget. Ezzel a mechanizmussal a sejt fiziológiai egyensúlya felborul, mely annak pusztulásához is vezethet.



99. ábra A 3,540 LPS/DPPE-DPPG tömegarányú rendszer kisszögű "elmosódott" diffrakciós görbéi a fázisátmeneti hőmérséklet tartományban, valamint a jellemző morfológiák; 70 °C-on (felső kép), 24 °C-on (alsó kép)

A DPPE-DPPA alapú rendszerben az LPS kis koncentrációban a rétegszerkezet leépülését okozta. A köbös struktúra kialakulását az LPS/lipid=1/10 mólarány (0,374 tömegarány) feletti értékeknél figyelhetjük meg. A kisszögű szórásgörbék (ez esetben a nanoszerkezeti periódusok okaként diffrakciós görbék) határozott három LPS koncentrációhoz tartozó alakjait, valamint a - független információként rendelkezésre álló fagyasztvatöréssel nyert morfológiai képeit a 100. ábrán vehetjük szemügyre. Az 1/1 LPS/lipid mólaránynál egyértelműen a Q<sup>224</sup>-es tércsoportba tartozó köbös fázis alakult ki, ami egy "szivacsos jellegű" struktúra, poláris és apoláris karakterű molekulákra is áteresztő képességű [232]. A csúcsok pozíciói az alábbi sorozatot követik:  $\sqrt{2}/a_0$ ,  $\sqrt{3}/a_0$ ,  $\sqrt{4}/a_0$ ,  $\sqrt{8}/a_0$ ,  $\sqrt{10/a_0}$ , ahol  $a_0=7,99\pm0,07$  nm. Ennek megfelelően e köbös szerkezetnek markáns biológiai szerepe van, ami feltételezhetően - hasonlóan a DPPE-DPPG alapú rendszerhez - az LPS beépülése során a sejtek membránjában létrehozott lokális szerkezeti módosulásból adódhat.



100. ábra A DPPE-DPPA alapú rendszerek morfológiái és kisszögű szórási görbéi a fázisátmeneti hőmérséklet alatt (baloldali ábra) és fölött (jobboldali ábra). (A görbéken feltüntetett értékek az LPS/DPPE-DPPA tömegarányt jelölik.)

A DPPE-DPG modellmembrán rendszer gél állapotú réteges szerkezete az LPS molekulák kis koncentráció tartományban szabályos [233]. Annak ellenére, hogy egy "kettősréteg" lipid (DPPE) mellett két "nem-kettősréteg" lipid (DPG, LPS) is jelen volt, a lamelláris szerkezet rendezetté vált. A DPPE/DPPA rendszer szabályos pakolódására emlékeztető, éles kisszögű diffrakciós csúcs jelent meg, amit a 101. ábra bal oldalán kirajzolt görbén láthatunk. Az eltérő alakú DPG és LPS molekulák együttes jelenléte okozta a megfigyelt sajátos szerkezeti változást: a komplex rendszerben szabályos, diffrakciós

jelenséget okozó nanoszerkezetek formálódnak. A szabályos szerkezet kialakításához szükséges arány torzulásával, az LPS arányának növekedésével, további szerkezetváltozást észleltünk. Az LPS már nem, mint "vendégmolekula", hanem "gazdamolekula" viselkedik. Saját kémiai jellemének és önrendeződési hajlamának megfelelően, a környezeti lipid molekulákat bevonva, szabályos köbös struktúrát formált. A "tiszta" lipid rendszer a folyadékkristályos hőmérséklettartományban összetett: hexagonális és köbös fázisok alakultak ki (csúcspozíciók a köbös fázisban:  $\sqrt{2}/a_0$ ,  $\sqrt{4}a_0$ ,  $\sqrt{8}/a_0$ , a rácsállandó  $a_0$ ,=7,33±0,1 nm, hexagonális fázisra vonatkozóan:  $1/a_{\rm HI}$ ,  $\sqrt{3}/a_{\rm HI}$ ,  $\sqrt{4}/a_{\rm HI}$ ,  $\sqrt{7}/a_{\rm HI}$ , a rácsállandó  $a_{\rm HI}$ = 5,85±0,08 nm; a DPPE-DPG rendszer jellemző kisszögű diffrakciós szórási képét a 101. ábra alsó görbéin vehetjük szemügyre). A hidratált DPPE-DPG lipidrendszer LPS jelenlétében, annak koncentrációjától függően átalakul. A gél állapotra jellemző hőmérséklettartományban LPS jelenlétében, a LPS/lipid=~1 mólarányánál köbös forma jön létre (a karakterisztikus pozíciók:  $\sqrt{2}/a_0$ ,  $\sqrt{8}/a_0$ ,  $\sqrt{16}/a_0$ ,  $\sqrt{28}/a_0$ ,  $\sqrt{30}/a_0$ , a rácsállandó  $a_0=14,0\pm0,08$  nm). A folyadékkristályos állapot hőmérséklettartományában a köbös és a hexagonális formák aránya módosul és az LPS koncentráció növekedésének hatására a karakterisztikus paraméterek megváltoznak: az inverz hexagonális nanoszerkezetnek a tiszta lipid esetében megfigyelt periódusa 5,85 nm-ről 6,37±0,08 nm-re növekedik, miközben a köbös fázis leépül. A LPS/lipid=~1 mol/mol értéknél komplex és diffúz szórási kép figyelhető meg, aminek azonosítása nem volt lehetséges.



101. ábra A DPPE-DPG alapú rendszerek szórási görbéi fázisátmeneti hőmérséklet alatt (baloldali ábra) és fölött (jobboldali ábra). (A görbéken feltüntetett értékek az LPS/DPPE-DPG tömegarányt jelölik.) A folyadékkristályos állapot hőmérséklettartományában fagyasztvatöréssel is megfigyelhető a hexagonális és a köbös nanoszerkezetek morfológiája

A kísérletsorozat eredményei rámutattak arra, hogy a *Salmonella minnesota* R595 LPS eltérő hatást fejt ki a különböző lipidösszetételű modellmembrán rendszerekre. A DPPE alapú rendszerekben 20%-ban jelenlévő kísérő lipid komponens cseréjével a három amfipatikus molekula és a víz önrendeződése lényegesen eltérő szerkezet kialakulásához vezet (2. táblázat). Ez alapjául szolgál az LPS közvetlen hatásmechanizmusát feltárni célzó, összetettebb rendszerek vizsgálatának. Megismerhetjük az LPS által a membránban indukált nem–lamelláris fázisok pontos szerepét a lipid-fehérje kölcsönhatásokban, valamint tisztázhatják e toxikus molekuláknak a sejtek fiziológiás folyamataira kifejtett hatását.

az LPS jelenlétében	láncolvadás alatti	láncolvadás feletti
indukált	hőmérséklet	hőmérséklet
nanoszerkezet	tartományban	tartományban
/lipid összetétel:		
DPPC	amorf réteges és köbös	amorf réteges és köbös
DPPE-DPPG	réteges és köbös (köbös)	amorf réteges és köbös
DPPE-DPPA	réteges és köbös (köbös)	réteges és amorf
DPPE-DPG	réteges (köbös)	köbös és hexagonális
		(amorf)

2. táblázat A lipidösszetétel függvényében kialakult szerkezeti típusok

## ÖSSZEGZÉS:

A fejezetben bemutatott, kisszögű eredményeket laboratóriumi SWAXS készülékünkkel értük el. A kolloid rendszerek esetében megfigyelhető, általában diffúz szórási képek helyett határozott diffrakciós profilokat mértünk. A diffrakciós profilok analízise lényegesen nagyobb gondosságot követelt meg a kisszögű szórási szögek tartományában, mint az atomi szerkezet felderítésében nélkülözhetetlen pordiffrakciós módszer esetében. Kihasználva berendezésünk maximális lehetőségeit, jellemeztük a liotróp rendszerek változatos nanostrukturális formáit. Ezek a szerkezeti formák szinkrotron nyaláb, vagy a kor színvonalának megfelelő berendezések használata során, ideális technikai paraméterek biztosításával, a szórási kép elkenésének mellőzésével<sup>20</sup> minden bizonnyal szebb, élesebb, karakterisztikusabb szórási információval szolgáltak volna. Ennek ellenére az eredmények igazolják a nanovilág sokszínűségét, azt, hogy abban változatos – az amorf formától a perfekt kristályos formákig terjedő – szerkezetek fordulnak elő.

<sup>&</sup>lt;sup>20</sup> pontfókusz alkalmazása vonalfókusz helyett

#### 5.2.7 Polialmasav tartalmú egyrétegű vezikula jellemzése

A polialmasav hatását hidratált DPPC rendszerben (20 tömegszázalék) tanulmányoztuk, polialmasav/DPPC=0,01 és 0,05 tömegarányok esetében. Az almasav és a polialmasav képletét a 102. ábrán mutatom be.



102. ábra Az almasav és a polialmasav képlete

A polialmasav (a továbbiakban PMA) vizes oldata savas kémhatású, a 0,05 tömegarányú rendszernek megfelelő koncentrációjában pH=2,8. Savas kémhatású rendszerben a DPPC alapú liposzómák rétegpakolódása rendezetlenné válik. Az irodalom szerint a pH<4 tartományban a foszfolipidek savas hidrolízise következik be, amelynek következtében felszabaduló bomlástermékek a szabálytalan rétegszerkezet kialakulását okozzák. Ellenőrző mérést végezve azt tapasztaltuk, hogy a pH=2,2 kémhatású (HCl-val beállítva) rendszerben valóban korrelálatlan rétegszerkezet alakult ki. A röntgenvizsgálatokat a DPPC-víz rendszer jellemző három fázisának (L<sub>β</sub>', P<sub>β</sub>', L<sub>α</sub>) megfelelően 25, 38 és 46°C-on végeztük. A PMA-t tartalmazó rendszer esetében is hasonló méréseket végeztünk. Azt tapasztaltuk, hogy a PMA valamint a HCl jelenlétében nyert szórási görbék alakja, mind a három karakterisztikus hőmérsékleten nagyon hasonló volt. A PMA-t tartalmazó rendszerhez NaCl vizes oldatát adtam (olyan térfogatban, hogy a 20 tömegszázalékos rendszer kb. 14%-osra hígult, valamint a rendszer víztartalmát alapul véve, NaCl-ra nézve 100 mM koncentrációjú lett), amelynek hatására, a tiszta DPPC rendszerének kisszögű diffrakciós profiljához hasonló szórási mintázatok jelentek meg. A mérések összefoglalóját a 103. ábra mutatja be.

A NaCl hatására történő rétegrendeződést a DPPC/HCl rendszerben is tapasztaltuk. A mérések azt mutatták, hogy a feltételezett hidrolízis csak kismértékű lehet, a rétegek szétcsatolódása a lipidek és a vendégmolekulák (PMA ill. HCl) közötti kölcsönhatásokra vezethető vissza. Fontosnak tartom megjegyezni, hogy a sók – így ez esetben a PBS puffer sótartalma is – perturbáló hatással vannak a lipidek rendezettségére. Ennek igazolására mutatom be a "tiszta" DPPC–víz rendszer és a PBS rendszerben preparált DPPC liposzómák diffrakciós görbéit (10 mM PBS, pH=7,4). Különbség a Bragg reflexiók szélességében van (103. ábra első oszlopa).



103. ábra A polialmasav hatása a DPPC-víz rendszerre 25, 38 és 48°C-on, NaCl jelenlétében és anélkül. A PBS puffer, a HCl (pH=2,2) és a HCl, NaCl együttes jelenlétének hatása.

A PBS tartalmú rendszer P $\beta$ ' fázisának diffrakciós csúcs-alakja diffúzabb formát mutatott, mint a tiszta DPPC rendszerben. Ez lényeges észrevétel, mert a P $_{\beta}$ ' fázis formálódásának lényegét érinti: az oldat ionjai által a fejcsoportok közötti kölcsönhatásokban okozott változását jelzi. FTIR spektroszkópiai vizsgálatok, valamint az ahhoz kapcsolódó kvantumkémiai számítások alapján megállapítottuk, hogy a PMA a foszfolipid fejcsoportjához kötődik, a lipid membrán felületének dipólus potenciálját megváltoztatja. A PMA kötődése szabad hidroxil csoportja és a DPPC foszfodiészter csoportok között kialakuló hidrogén-híddal valósul meg [155]. A következő 104. ábra mutatja a 0,05 tömegarányú PMA/DPPC rendszerben, a PBS jelenlétében formálódott liposzómák egy tipikus példányát.



104. ábra Polialmasavat(PMA) tartalmazó sokrétegű liposzóma morfológiája, 25°C, PMA/DPPC=0,05(tömegarány), 20 tömegszázalék DPPC-víz

A bemutatott, sokrétegű liposzómák esetében szerzett tapasztalatok alapján gondoltam arra, hogy a sztérikusan stabilizált liposzómák készítésénél szokásos komponenseket, arányokat felhasználva, a DSPE-PEG polimer helyett PMA-t használva készítetünk el egy

rendszert. A PMA pontos móltömeg értékének <sup>21</sup> hiányában az arányokat tömegre vonatkoztatva adom meg. A preparálásnál 0,05 és 0,1 PMA/DPPC tömegarányokat alkalmaztunk. Szárazanyag-tartalomra nézve 2 tömegszázalékos rendszert preparáltunk, amelyet 100 nm-es szűrőn extrudáltunk. A kitapadás miatt az extrudálás után a rendszer koncentrációja hozzávetőlegesen 1%-ra csökkent. A liposzóma rendszer tiszta, átlátszó volt, fényszórást nem mutatott és több hónapon keresztül stabilnak mutatkozott. A PMA felhasználásával elkészített rendszer fagyasztvatöréses fényképeit a 105. ábrán mutatom be. Az ábrán két kép tekinthető meg, az egyik az extrudálás előtti, a másik az extrudálás utáni állapotot rögzítette. Az extrudálás utáni állapot közel monodiszperz, gömb alakú, ~100 nm átmérőjű részecskéket mutat. A képen a liposzómák összetapadt csoportja figyelhető meg, amelyről nem lehet eldönteni, hogy a kvencselés során alakultak-e ki, azaz egyszerűen összesodródott liposzómák vagy a vezikulák fúzióját mutatja.



105. ábra Polialmasavat tartalmazó vezikula fagyasztvatörés utáni elektronmikroszkópos fényképe, extrudálás előtt (baloldali kép) és extrudálás után (jobboldali kép)

A rendszeren az ESRF szinkrotronállomás (Grenoble) *ID02*-es berendezésénél végeztünk kisszögű szórásvizsgálatokat. A nyert szórási görbét a 106. ábrán mutatom be. A mérőállomás extrém kis szórási változó tartományban is lehetővé tette a mérést<sup>22</sup>, továbbá a híg rendszer ellenére is jó minőségű ("high quality synchrotron data"), megfelelő statisztikájú (alacsony mérési zajjal terhelt) szórás görbe meghatározását biztosította.

A nyert szórási görbe alakja több jellegzetességet mutat, amelyekre az alábbiakban tételesen térek ki. A szórási görbe eleje több nagyságrendet csökkenve, a liposzóma egészéről szolgál információval. Egy lokális minimumot követően széles, Bragg reflexióknak semmiképpen nem nevezhető csúcsok figyelhetők meg, amelyek a korábbi fejezetekben többször bemutatott kettősréteg formafaktorából származó alakot mutatnak, tehát a liposzóma belső szerkezetére vonatkozó adatokat hordoznak.

<sup>&</sup>lt;sup>21</sup> M~1500 g/mol

<sup>&</sup>lt;sup>22</sup> USAXS, ultra kisszögű szórás



106. ábra Polialmasav (PMA) tartalmú vezikula (~1 tömegszázalék) vizes rendszerének kisszögű röntgenszórása, és a szórási kép jellegzetességeinek bemutatása (közel monodiszperz, gömb alak: A, B; egyszeres kettősréteg: D, C; többszörös kettősrétegek részleges előfordulása: E, F)

Részletesen kifejtve, az első lehajló "könyök" szakasz (az ábrán "A"-val jelölve), valamint egy, azt követő váll ("B") a bevezetőben ismertetett, valamint a 4. ábrán bemutatott, nanorészecskék szórására jellemző alakhoz hasonló. Tehát ennek a szakasznak az analízisével a liposzómák méreteloszlását határozhatjuk meg. A vezikula héjszerkezetének megfelelően a "C" pont környezetében egy széles "púpot" várnánk, de a valóságban az "E" és a "F" -el jelölt helyeken lokális maximumok figyelhetők meg, amelyek többszörös kettősrétegek előfordulására utalnak. A "D" pontban a szórási intenzitás nem nagyon kicsiny, amely azt jelzi, hogy vezikula kettősrétege esetleg aszimmetrikus. A liposzóma kettősrétegének modellezése az 5.2.2. pontban bemutatott lépcsőfüggvény helyett Gauss függvényekkel történt [100-102]. A PMA kémiai karakterének ismeretében feltételeztük, hogy a PMA a lipidek fejcsoportjainak régiójában, az annak megfelelő gömbhéjban helyezkedik el. Erre vonatkozóan konkrét adataink vannak. A sokrétegű és az egyrétegű vezikulákon elvégzett spektroszkópiai vizsgálatok egyértelműen igazolták a PMA molekulák "beágyazódását" [155]. Ennek megfelelően az ún. 2 Gauss közelítéssel élve modelleztem a kettősréteg elektronsűrűségének profilját [128,129]. Az egyik Gauss függvény a PMA elhelyezkedésének (koleszterin mellett), a másik a DPPC fejrégiójának továbbá egy a láncrégió radiális irányú elektronsűrűség profilját adja (a fejcsoport tulajdonképpen kettő Gauss függvényből áll, tehát a "2 Gauss közelítés" öt Gauss függvényt tartalmaz). Az elektronsűrűség-profil összetevőit a 107. ábrán illusztrálom.



107. ábra A PMA tartalmú vezikula kettősrétegének elektronsűrűség profilja, az víz elektronsűrűségéhez viszonyítva

A következő modell görbéken, amelyeket a 108. ábra tartalmaz, azt mutatom be, hogy hogyan haladtam lépésről lépésre (az A, B, C, D, E, F pontoknak megfelelően) a mérési görbe leírásában és annak illesztésében.



108. ábra Modell kisszögű szórásgörbék: monodiszperz vezikula szórása (bal oldal), öt lipid kettősréteget tartalmazó különböző méretű vezikulák (középső), 90%-ban ULV és 10%-ban két kettősréteget tartalmazó heterodiszperz vezikulák (jobb oldal)

A fagyasztvatöréses képek alapján monodiszperz, egyszeres kettősrétegű vezikula szórását számoltam ki (108. ábra, balról az 1. görbe). A 106. ábra jellegzetességei közül rögtön felismerhető a kezdeti tartomány lehajló könyök formája ("A"). A "B" váll hasonlóan, q~10<sup>-1</sup> 1/nm-nél figyelhető meg. Egy széles "púp", a "C"-nek megfelelően, a q~1 1/nm környezetében van. A számított görbe sűrűn hullámzó "fésűs" alakja a vezikulák monodiszperz jellegéből következik<sup>23</sup>. A második görbe többszörös kettősréteget tartalmazó liposzómákra vonatkozik (108. ábra, balról a 2. görbe). A liposzómák méretére egy log-

<sup>&</sup>lt;sup>23</sup> lásd 12-es összefüggés

normál eloszlást adtam, amelynek hatására a görbén a minimumhelyek száma lecsökkent, és az első váll ("B") lett domináns. A többszörös kettősréteg szórása diffrakciós jegyeket hordoz: a formafaktorból következő alapgörbére periodikus elhelyezkedésű lokális csúcsok ülnek, amelyek kvalitatív magyarázatul szolgálnak az "E"-vel és "F"-fel jelölt, a 106. ábrán bemutatott jellegzetességekre. A továbbiakban a liposzómák méretére vonatkozóan a monodiszperz eloszlás helyett heterodiszperz eloszlást írtam be, továbbá feltételeztem a liposzómák 10%-ában, hogy kétszeres kettősréteggel rendelkeznek. Ennek megfelelően kiszámítva és összeadva a görbéket, nyertem a 108. ábra jobboldalán lévő görbét. (Tulajdonképpen az első görbe több méretű liposzómára összegezett formája valamint 10%ban figyelembevett két kettősréteget tartalmazó vezikulák szórásának összege.) Ez a görbe kvalitatíve visszaadja a mért szórási görbét. A 108. ábrán bemutatott "próbálgatások" hasznosnak bizonyulnak a reális paraméterek megtalálásában. Ezek után a több-paraméteres illesztési eljárás könnyebbé válik, mert lehetőség nyílik jobb kezdeti értékekkel indítani a minimumkereső rutint.

A "két" Gauss profilnak<sup>24</sup> megfelelően az öt régió tagjait leíró elektronsűrűség profil alakja:

$$\rho(R_0) = \sum_{i=1}^{5} \rho_i \cdot e^{-\frac{(R_0 + \varepsilon_i - r)^2}{2\sigma_i}},$$
(37)

ahol R<sub>0</sub> a vezikula sugara a középpontból a kettősréteg szénláncának közepéig, ɛ<sub>i</sub>, az iedik régió közepe az R<sub>0</sub> végpontjából mérve, p<sub>i</sub>, az i-edik régió elektronsűrűsége (relatív érték, a szénlánc régiójának elektronsűrűségét rögzítettük,  $\rho_i$ = -10 elektron/nm<sup>3</sup>)  $\sigma_i$  az i-edik régió félértékszélessége. A régiók sorrendben – a liposzóma belsejétől kifelé haladva – az alábbiak: adalékmolekulák régiója a kettősréteg belső oldalán, a fej-régió a kettősréteg belső oldalán, a kettősrétegű lipid szénláncának régiója, a fej-régió a kettősréteg külső oldalán, az adalékmolekulák régiója a kettősréteg külső oldalán. A fenti (37) kifejezést a (8)-ba kell helyettesíteni<sup>25</sup>, és egyetlen darab  $R_0$  sugarú vezikula, egyetlen Gauss régiójának szórási amplitúdóját nyerjük:

$$A_{i}(q) = F_{i}(q) = 4 \cdot \pi \sqrt{2\pi\sigma_{i}^{2}} \cdot e^{-\sigma_{i}^{2}q^{2}/2} \cdot (\frac{R_{0}}{q} \cdot \sin(qR_{0}) + \sigma_{i}^{2} \cdot \cos(qR_{0})).$$
(38)

A vezikula egészére vonatkozóan mind az öt régiót figyelembe vettem, azaz a program írásánál előre nem tételeztem fel szimmetriát sem a belső és külső fejcsoport régiókra, és a

<sup>24</sup> öt Gauss függvényt tartalmaz
<sup>25</sup> az integrálási határt [0;R] –ről ki kell terjeszteni [- $\infty,\infty$ ]-re, mert az analitikus átírás ezt megköveteli.

<sup>2.</sup> Függelék

PMA-t tartalmazó belső és külső régiókra vonatkozóan. A vezikulák között feltételezhetően nincs korreláció (az 1 tömegszázalékos vizes vezikula rendszerben a vezikulák rendezetlenek). A vezikulák méreteloszlását lognormál függvénnyel ( $P(R_0)$ -lal) írtuk le. Ennek felhasználásával a liposzómák sokaságának intenzitása:

$$I(q) = \int P(R_0) \cdot F^2(q, R_0, \rho, \varepsilon, \sigma) \cdot dR_0,$$
ahol
(39)

$$F(q, R_0, \rho, \varepsilon, \sigma) = 4\pi \cdot \sqrt{2\pi} \sum_{i=1}^{5} \rho_i \sigma_i \cdot e^{-\frac{\sigma_i^2 q^2}{2}} \left( \frac{(R_0 + \varepsilon_i)}{q} \cdot \sin(q(R_0 + \varepsilon_i)) + \sigma_i^2 \cdot \cos(q(R_0 + \varepsilon_i)) \right)$$

A lognormál eloszlású liposzómák maximális  $R_0$  értékét a preparálásnál felhasznált extruder szűrőjének pórusmérete (=100 nm) alapján 50 nm alatt várjuk. Az integrált numerikusan az  $R_0$  [0,  $R_{max}$ ] tartományában végeztük el, ahol  $R_{max}$ -ot a  $P(R_{max})=P_{max}\cdot\lambda$ kitétel alapján számoltuk ( $\lambda$ =0,01 értéknél); ld. Függelék.

Az illesztendő modellnek összesen 19 paramétere van, ami túlságosan soknak bizonyult. Sok paraméter ezek közül nem független. Ésszerű meggondolások alapján a vezikula foszfolipid fejcsoportjait szimmetrikusnak tételeztem fel. A vezikulák rétegszámát rögzítettem: csak egyszeres és kétszeres kettősrétegű vezikulák előfordulását tételeztem fel. A kétszeres kettősréteg távolságát minden liposzómában azonos értékűnek vettem. A fejcsoport és a PMA-t tartalmazó régiókat leíró Gauss függvények félértékszélességét állandó értékekre állítottam. A 108. ábra információjának megfelelően először a vezikula méretét és ennek eloszlását jellemző értékeket kerestem. Ennek megfelelően az illesztés csak a  $[q_{min}, 0, 2]$  1/nm szórásváltozó tartományban történt (az illesztés nem érzékeny a további, a kettősréteg belsejét jellemző paraméterek értékére). A méreteloszlásra kapott értékeket konstansnak véve az illesztést a  $[0,4, q_{max}]$  1/nm tartományban folytattam. A mért szórásgörbe végén megjelenő (lásd 106. ábra) két kicsiny "púpot" nem tudtam illeszteni. Ennek oka a háttér, a víz szórásából ered, ugyanis a víz egyrészt "oldószer" másrészt, mint szerkezeti elem is szerepet játszik. A két funkció aránya ismeretlen. Továbbá a szórási görbének az értéke ebben a tartományban négy nagyságrenddel kisebb, mint a görbe elején. Ennek figyelembe vételével a szórásgörbe illesztését a [0,018 – 2,8] 1/nm –es tartományban végeztem el. Az illesztett és a mérési görbét az alábbi 109. ábra mutatja be. Az illesztett paramétereket a 3. táblázat tartalmazza. Az illesztés, a vezikulák preparálásánál felhasznált szűrő pórusméretének megfelelő méretet, a fagyasztvatöréssel kombinált transzmissziós elektronmikroszkópia alapján meghatározott méreteloszlás adatnak megfelelő értéket adott.



109. ábra Polialmasavat(PMA) tartalmazó vezikulák kisszögű röntgenszórási görbéje és annak "2Gauss" modellel történő illesztése

A szerkezeti jellemzést ún. "két G" illesztés alapján határoztam meg a vezikula sugarától is függő formafaktor figyelembevételével.

3. táblázat	Polialmasavat(PMA)	tartalmazó	vezikulák	kisszögű	röntgenszórási	görbéjének
paramétere	i					

A vezikula egészét jellemző paraméterek												
intenzitás	faktor	hátté	tér, bg jellemző vezikula sugár			gár,	; eloszlási görbe szélessége, dR					
					R <sub>0</sub> [nm]							
5,27.10-12	$\pm 4.10^{-14}$	0,004	41±0,	0003	337±4				0,242±0,009			
A vezikula kettősrétegét jellemző paraméterek												
d, PMA	ρ, ΡΜΑ	d, P	PMA ρ, PMA		A	d, fej		ρ, fej	σ, s	zénlánc	d,	φ
belső	belső	küls	ő	külső							periódus	vezikulák
												aránya
2,538	0	2,62		16		2,239		357	0,9	79	7,45	0,088
±0,08	$\pm 8$	±0,0	)7	±5	±0,01		±9	±0,	002	±0,06	±0,01	
A vezikula kettősrétegét jellemző rögzített paraméterek												
σ, ΡΜ	Α σ, ΡΜ	ΙA	σ, f	5, fej		σ, fej dd,		Többszörö		OS .		
belső	belső külső belső		ső	külső ke		kettő	tősrétegek k		kettősrétegek száma			
							fluktuációja					
0,4	0,4		0,2		0,2	2	0		2			

A polialmasav a lipidek külső, fejcsoport régiójában aszimmetrikus módon helyezkedik el. Lokalizációjuk Gauss függvénnyel jellemezve  $2\sigma=0.8$  nm széles, a lipid két oldalán mért

távolságuk 5,16 nm, ami azt jelenti, hogy a fejcsoportok külső oldalán – a spektroszkópiai eredményekkel összhangban – van. A kétszeres kettősréteg távolsága 7,45 nm, ami gyengén szétcsatolt rétegszerkezetet jelez. Ennek alapján feltételezem, hogy a többszörös kettősrétegű vezikulák nem stabil képződmények, további adalékanyag hozzáadása révén annak egységes unilamellás formája előállítható lesz.

A polialmasavat tartalmazó vezikula kisszögű szórásának számítógépes modellillesztéséről általánosságban meg kell említenem, hogy a probléma túlhatározott. A modell leírásához használt tizenkilenc paraméter között egyrészről nagyfokú korreláció állhat fönt, mely a paraméterek független meghatározását megakadályozhatja. Másrészről bizonyos paraméterek hatása a szórási görbének csak bizonyos tartományában érvényesül, így ezek meghatározása egy rész-illesztésből megoldható. A szóráskísérlettől független, "a priori" információk (spektroszkópiai adatok, molekuladinamikai számítások, morfológiai vizsgálatok) bevonásával az illesztési eljárás paramétereinek kezdeti értékeit jobban meg lehet választani, így több esély van a globális minimum megtalálására. Ezen felül e független adatok még az illesztés eredményeképpen kapott értékek validálására is használhatóak.

#### ÖSSZEGZÉS:

Szinkrotron állomásoknál, laboratóriumi berendezéseken el nem érhető szórásváltozó tartományban szerezhetünk szerkezeti információkat (ultrakisszögű és kisszögű tartományban). A jó minőségű, megfelelő statisztikájú adatok a teljes szórási görbe modellillesztését biztosítják.

#### 5.3 Nanoreaktor

#### 5.3.1 Cu<sup>2+</sup> ion tartalmú domének formálódása DPPC-víz rendszerben

## 5.3.1.1 Cu<sup>2+</sup> ionok hatása a liposzóma rétegrendszerére

A  $Cu^{2+}$  ionok a sokrétegű modellmembránok szerkezetére gyakorolt hatását DPPC-víz rendszerben (20 tömegszázalék) tanulmányoztam [234]. Disszertációmban a CuCl<sub>2</sub> formájában adagolt rézion által előidézett szerkezeti sajátosságokat ismertetem. A CuCl<sub>2</sub> tiszta vizes rendszerben eltérő hatást okozott a DPPC rétegrendszerében, mint pufferrendszerben (50 mM, TRIS, pH=7,4). A különbség több okra vezethető vissza, melyek a következők. Tiszta vízzel készített CuCl<sub>2</sub> oldat savas<sup>26</sup>. Ennek következtében az elkészített

<sup>&</sup>lt;sup>26</sup>3,7 mM, ez a 20 tömegszázalékos lipidrendszer esetében Cu<sup>2+</sup>/DPPC=1/100 arányt jelent és szobahőfokon a pH≈3,8.

rendszerben, a DPPC hidrolízise folytán, további komponensek lehetnek jelen  $^{27}$ . Pufferrendszer jelenlétében annak komponensei megváltoztatják a Cu<sup>2+</sup> ion és a fejcsoportok közötti kölcsönhatásokat (a pufferrendszerrel bevitt TRIS: 2-amino-2-hidroximetil-1,3-propándiol konkurál a Cu<sup>2+</sup> ionnal) [235]. A pufferrendszer jelenléte "tisztább" viszonyokat teremt, ellensúlyozza a felhasznált komponensek szennyeződéseinek hatását és ennek következtében a minták reprodukálható módon állíthatók elő. A vezikula rendszer rétegszerkezetének változását, a SAXS görbék alapján a 110. ábra segítségével mutatom be.



110. ábra A DPPC-CuCl<sub>2</sub>-víz és a DPPC-CuCl<sub>2</sub>-50 mM TRIS rendszer kisszögű diffrakciós és kisszögű szórás görbéinek részletei, a  $Cu^{2+}$  ionok hatásának bemutatására, a DPPC/Cu<sup>2+</sup>mólarányok feltüntetésével

Vizes rendszer esetében a rétegszerkezet perturbációja a kis  $Cu^{2+}$  koncentráció tartományban megfigyelhető.  $Cu^{2+}/DPPC =0,02$  mol/mol aránynál a karakterisztikus Bragg csúcs intenzitása alacsony, alig emelkedik ki a szétcsatolt réteg formafaktorának megfelelő alakból. Teljes korrelációvesztés, azaz a formafaktor négyzetének megfelelő kisszögű szórási profil a  $Cu^{2+}/DPPC =0,05$  mol/mol aránynál alakul ki. Pufferrendszer alkalmazása esetén a rézionok hatása lényegesen szűkebb koncentráció tartományon belül figyelhető meg. A 0,02 mólaránynál a diffrakciós profil alakja megegyezik a tiszta DPPC rendszerével. A  $Cu^{2+}$  ionok lokalizálódásának vizsgálatára molekuladinamikai számításokat végeztünk [215], amelyekből a  $Cu^{2+}$  ionoknak a fejcsoportokkal formált atomi környezetét mutatom be a 111. ábra segítségével. Az ábra alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy a  $Cu^{2+}$  ionok jelenléte megváltoztatja a fejcsoport régiójának töltésviszonyait, ezáltal a réteg – réteg

<sup>&</sup>lt;sup>27</sup> Ez szabad szemmel is megfigyelhető. Néhány hetes tárolás után, a vezikula rendszer fehér színe eltűnik, átlátszó és folyékony lesz.

kölcsönhatásokban meghatározó szerepet játszó elektrosztatikus kölcsönhatásokat perturbálja, és végeredményképpen a rétegek szétcsatolódásához vezet [217,236,237]. Ennek következménye a kisszögű szórásban jelentkezik, és a diffrakciós helyett szórási profil figyelhető meg, ahogy azt a 110. ábra mutatja.



111. ábra A Cu<sup>2+</sup> ion elhelyezkedése a lipidek fejcsoportjának régiójában [215]

A liposzóma szétcsatolt rétegeit közvetlen módon, a fagyasztvatörés alkalmazásával figyeltük meg, amelynek tipikus képeit a 112. ábra mutatja be.



112. ábra A  $Cu^{2+}$  ionok jelenlétében megfigyelhető rétegek közötti szétcsatolódás DPPC-víz alapú vezikulákban,  $Cu^{2+}/DPPC = 0,002$  arány (baloldali kép), és  $Cu^{2+}/DPPC = 0,01$  arány (középső és jobboldali kép) esetében

A szétcsatolódást a Cu<sup>2+</sup> ionok okozzák, de annak mértéke hőmérsékletfüggő. A Cu<sup>2+</sup>/DPPC =0,02 mólarányú rendszert (6,8 mM CuCl<sub>2</sub>) az alap DPPC-víz rendszer három alapfázisának megfelelő hőmérsékleténél vizsgáltuk. A hőmérséklet függvényében a Bragg csúcsok eltérő mértékű kiszélesedését tapasztaltuk (113. ábra). A kiszélesedés alapján a korrelációvesztés, azaz a rétegrendszer szempontjából lényeges szétcsatolódás a gél fázisban nem volt tapasztalható, de az a hullámos gél és a folyadékkristályos állapotokban bekövetkezett. A hőmérséklet függvényében (25 és 46°C között) történő vizsgálatokat a Cu<sup>2+</sup>/DPPC =0 – 0,05 mólarányú tartományban végeztük el. A gél-, hullámos gél és a folyadékkristályos (fluid) karakterisztikus állapotok fázisátmenetei mellett párhuzamosan egy csatolt-szétcsatolt fázisátmenetet figyeltünk meg. A diffrakciós illetve szórási profilok illesztése alapján meghatározott, a csatolt és nem csatolt állapotokban lévő kettősrétegek aránya alapján egy fázisdiagramot szerkesztettünk, amit szintén a 113. ábra mutat. Az ábrán

példaként a  $Cu^{2+}/DPPC = 0,05$  rendszer jellemző diffrakciós, ill. szórási profiljait is bemutatom, a csatolt (korrelált) és szétcsatolt (nem korrelált) szélsőséges eseteinek jellemzésére.



113. ábra A DPPC/CuCl<sub>2</sub>/víz(TRIS) összetételű vezikulák kisszögű diffrakciója és szórása rendezett és szétcsatolt állapotban

A réz ionok okozták a szétcsatolódást, a fagyasztvatöréses képeken az egymástól eltávolodott rétegeket, a közöttük képződött, megvastagodott, de szabálytalan alakú és méretű vizes régiókat figyelhettünk meg, amelyek a szorosan, és valószínűleg szabályosan pakolódott rétegkötegeket választják el egymástól<sup>28</sup>. A kérdés az, hogy a réz ionok egyenletesen töltik-e ki ezt a térrészt, vagy a rétegek felszínén (pontosabban fejcsoportjaik közelében) elhelyezkedve, a kettősrétegek "kontúrját" adják? A kérdésre a választ a Cu<sup>2+</sup> ionok lokális elhelyezkedésére érzékeny ASAXS módszerrel kívántam megadni [234,238]. A Cu<sup>2+</sup>/DPPC =0,01 arányú rendszert tanulmányoztam a réz K héjának abszorpciós éle alatti energiatartományban. Az eredményt az 114. ábra foglalja össze (E=8510, 8972, 8979, 8984,5 eV, a kémiai eltolódást CuCl<sub>2</sub> oldatban mért értékhez képest határoztuk meg, aminek értéke ~5 eV volt). Az ábra alapján megállapítható, hogy a szeparált görbék hibája nagy, így a tiszta rezonáns görbéé is. A rezonáns adatokból származó további adatok és következtetések csak tájékoztató jellegűek lehetnek. Az a tény, hogy rezonáns görbe csak a kezdeti szórási tartományban (q<0,3 1/nm) volt meghatározható, azt jelzi, hogy réz ionok a szétcsatolt vizes régiókban voltak jelen. A rézionok "szabályos", elvárt módon való fejcsoporthoz közeli elhelyezkedésére nem kaptunk választ. Ennek oka a Cu<sup>2+</sup> ionok kis koncentrációjából következő csekély anomális effektus. A Cu<sup>2+</sup>/DPPC =0,05 arány esetében az anomális effektus növekedett, amelynek alapján a réz ionokat tartalmazó domének méretére vonatkozó

<sup>&</sup>lt;sup>28</sup> A Cu<sup>2+</sup> ionok által, a rétegek pakolódásában okozott zavar ebben az esetben is kétféle jellegzetességgel jár, az egydimenziós domének belsejében szabályosan pakolódott, de redukált számú réteg, míg a doméneket a szabályos vízrétegnél lényegesen vastagabb vizes térrészek választják el.

eloszlást tudtuk megbecsülni. A gömb alakkal közelített réz ionok által kitöltött térrészek, domének méretére vonatkozó eloszlásfüggvényt a 115. ábra mutatja.



114. ábra A 0,01 Cu/DPPC rendszer anomális kisszögű görbéi, valamint az anomális korrekciók energiafüggése (a piros és fekete vonalak a kémia eltolódást mutatják)

A Cu<sup>2+</sup> ionok tehát inhomogén módon, a vezikulák szétcsatolódott rétegei között formálódó nagyméretű (hozzávetőlegesen 30,0 nm átmérőjű gömbökkel jellemzett) doménekben (is) elhelyezkednek. A domének formálódására utaló, független képi megfigyelések is hasonló méretű, a rétegek között megjelenő "öblösödések", kerekített formájú rések képződését mutatták, amit a 115. ábrához illesztve mutatok be.



115. ábra A tiszta rezonáns görbe alapján nyert, a rézionokban gazdag domének méreteloszlása, a lipidrétegek szétcsatolódásával létrejövő rések (fagyasztvatörés alapján megfigyelve)

#### 5.3.1.2 CuO nanorészecskék formálódása DPPC-víz alapú liposzómákban

A réz ionok szeparált, méretében nm-es dimenziójú, doménekben történő elhelyezkedése adta a lehetőséget a kompakt nanorészecskék előállítására [238]. Vizes NaOH oldatot adtam a Cu<sup>2+</sup>/DPPC =0,05 arányú rendszerhez (1:1 térfogati arányban, pH≈12), a preparálást követő

órákban a változásokat szinkrotronsugárzással tanulmányoztuk (a kémiai eltolódás a CuCl<sub>2</sub> oldatban mért értékhez képest nem változott meg). A reagens hatására Cu(OH)<sub>2</sub> keletkezett. A kétdimeziós szórási képeket a 116. ábra mutatja. A NaOH hozzáadása után a szórási kép megváltozott: Bragg gyűrűk jelentek meg, a rendszer kiindulási rétegszerkezetéhez viszonyított szabályosabb forma jelenlétét igazolva, amelynek periódusára 6,16 nm adódott. Ebben az állapotban a rendszer színe fehér volt, majd a szín (levegő jelenlétében) melegítés hatására megváltozott, a minta elsötétedett, barnás színű lett, ami CuO képződését jelezte<sup>29</sup>. A mintát kapillárisokba töltve nyertük a 116. ábra 3. képét. Az előző állapot röntgenszórási mintázatához hasonlítva az éles Bragg gyűrűk más pozíciókban jelentek meg<sup>30</sup>. A diffrakciós csúcs alapján a periódus 4,33 nm-re csökkent, ami az "összetolt" gél fázis képződését bizonyította.



q (1/nm)

116. ábra A réz ion tartalmú hidratált DPPC (20 tömegszázalék, Cu<sup>2+</sup>/DPPC =0,05 aránv) rendszer változásának követése a valós és a reciprok térben. Felső sor: fagyasztvatörés jellegzetes képei a szintézis három lépésében. Alsó sor: kétdimenziós SAXS képek változása a réz-nanorészecskék előállítási lépéseiben. A kiindulási állapot: vezikulák CuCl<sub>2</sub> tartalommal (baloldali kép, A), NaOH adagolása után a Cu(OH)<sub>2</sub> képződését követően (középső kép, B), melegítés után, CuO képződése mellett (jobboldali kép, C)

Maguknak a réz-tartalmú nanorészecskéknek a jellemzésére az ASAXS módszer szolgált. Anomális effektust (szeparált ASAXS görbék különbsége) csak a szórási görbe legelején tapasztaltunk. A tiszta rezonáns görbe kiszámítása után az adatból egy lognormál típusú függvényt illesztettünk a kompakt réz-nanorészecskék méretének jellemzésére. A gömb alak feltételezése nem megalapozott, mert a közlemények, hasonló reakcióúttal, de más

<sup>&</sup>lt;sup>29</sup> Cu(OH)<sub>2</sub> vagy vegyes oxid-hidroxid jelenlétét nem zárhatjuk ki

<sup>&</sup>lt;sup>30</sup> A mérőállomás geometriája korlátozta a megfigyelést, 3 rendben detektáltuk a Bragg csúcsokat.

körülmények között rúd alakú nanorészecskék képződéséről számolnak be [239]. A tiszta rezonáns görbe alakját és a méreteloszlási függvényt a 117. ábrán mutatom be. Az eloszlással jellemzett méret azt bizonyította, hogy lényegesen nagyobb kiterjedésű kompakt nanorészecskék keletkeztek, mint a prekurzor doménméretei és réztartalma alapján elvárható lett volna (ezekben a doménekben a réz ionok sűrűsége lényegesen kisebb, mint a kompakt nanorészecskék képződését a mátrix egyidejű változása kísérte. Végeredményképpen a nanoreaktor funkció a DPPC rendszer fázisátalakulásával meghiúsult, ezzel magyarázható a nagyméretű részecskék kialakulása.



117. ábra A kompakt réz nanorészecskék anomális röntgenszórás alapján nyert tiszta rezonáns görbéje. A részecskék méreteloszlása betétábraként van feltüntetve. Fagyasztvatöréssel nyert kép illusztálja a reakcióközeg morfológiáját, ahol a rétegek mellett szemcséket figyelhetünk meg.

#### 5.3.2 CdS nanorészecskék előállítása DPPC-víz alapú liposzómákban

DPPC alapú vezikulákat vizes  $Cd(NO_3)_2$  oldattal készítettem ( $Cd^{2+}/DPPC=0,05$  mólarány), közvetlenül a mérés helyén, a szinkrotron állomásnál, (*HASYLAB*) [240]. Kisszögű szórással vizsgálva a DPPC-víz alapú, szabályos, gömbszimmetrikus vezikulák legalább 5 Bragg reflexiót mutató diffrakciós görbéje helyett gyengén korrelált rendszerre jellemző, diffúz szórási képet kaptunk. A két rendszer és annak röntgenszórásainak összehasonlítására két ábrát használok fel, a 118. és a 119. ábrát.



118. ábra A DPPC-víz (20 tömegszázalék) rendszer 2D SAXD (ASAXD) szórásképe, a rendszer fagyasztvatöréses TEM képe, valamint a modellezett szerkezet

A kétdimenziós képeken a radiális szórási görbéket is feltüntettem, amelynek alakja a  $Cd^{2+}$  iont tartalmazó rendszer esetében az unilamellás forma szórására jellemző, diffúz alakot mutatott. A  $Cd^{2+}$  ion elhelyezkedésének feltérképezésére ASAXS technikát alkalmaztunk. A mérést a  $Cd^{2+}$  éle (26711 eV) közelében, három energián végeztük el ( $E_1$ =26120,  $E_2$ =26653,  $E_3$ =26711 eV). A 119. ábra "A" jelű betétábráján a szórási görbe mellett egy szeparált ASAXS görbét (az  $E_1$  és az  $E_3$  energiákon mért ASAXS görbék különbségét) is mellékeltem. A szeparált görbe kezdeti szakasza nagyméretű domének formálódására utalt (hasonló módon, mint azt a 5.3.1.1 fejezetben, a  $Cu^{2+}$  ionok elhelyezkedésével kapcsolatban említettem). A fagyasztvatöréses kép ezzel összhangban szabálytalan rétegszerkezetet mutatott. A mellékelt képen egymással nem szorosan érintkező hullámos rétegkötegek sokasága és azok közötti "nyiladékok" figyelhetők meg (119. ábra középső, B-vel jelölt kép). Az ábra jobb oldala modell-elképzelésemet mutatja, amely szerint a  $Cd^{2+}$  ionok a korrelálatlan kettősrétegek felületén, valamint esetenként nagyméretű (több tíz nm kiterjedésű) doménekben, a kettősrétegek közötti vizes régiókban helyezkednek el.



119. ábra A DPPC-Cd( $NO_3$ )<sub>2</sub>-víz rendszer kétdimenziós szórási képe (az "A"-val jelölt betétábrán egy ASAXS görbe és egy szeparált görbe "kék" színnel. A középső kép (B) egy kettétört vezikula szabálytalan rétegszerkezetét mutatja. A jobboldali sematikus ábra a modell-elképzelést mutatja be.

A DPPC- Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-víz rendszerhez sztöchiometriai arányt meghaladó 20%-os feleslegben (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S vizes oldatát adtam. Az ezáltal megjelenő enyhe sárga szín a CdS képződését mutatta. A minta kétdimenziós szórási képén Bragg gyűrűk jelentek meg, ami
120. ábra baloldali képén figyelhető meg. A mellékelt betétábrán az is szembetűnik, hogy a radiális szórási görbe három rendben tartalmaz Bragg reflexiókat. A reflexiók pozíciói követik az  $n \cdot 2\pi/d$ , a rétegszerkezetre jellemző összefüggést, ugyanakkor egy intenzív, monoton lecsengő, nanorészecskék kisszögű szórására emlékeztető alapvonalon ülnek. Mind a szórási, mind a diffrakciós jelenségek okára megtaláltuk a magyarázatot a fagyasztvatöréses képeket szemlélve. A 120. ábra második (B) részén mutatok be egy jellemző törési morfológiát, ahol a széttört liposzóma héjai közötti kicsiny méretű, a CdS nanorészecskékkel azonosítható objektumokat figyelhetünk meg. A képen mind a vezikulák szabályos rétegkötegei (blokkok), mind a rétegkötegek közötti elszórt nanoszemcsék jelen vannak. Az előző a diffrakciót, az utóbbi a szórást igazolja.



120. ábra A hidratált DPPC-CdS rendszer kétdimenziós szórási képe (az "A" betétábrán egy ASAXS görbe profilja a Bragg reflexiók hangsúlyozására), egy kettétört vezikula belső morfológája rétegekkel és CdS részecskékkel (B), valamint a modell-elképzelés a szórás/diffrakciós jelenségek értelmezésére

A modell-elképzelés alapján a kompakt CdS nanorészecskék kialakulásával egyidőben a kettősrétegek közötti (többé-kevésbé) szabályos pakolódás is helyreállt, amelynek eredményeképpen a kisszögű diffrakciós mintázat megjelent.

A kvalitatív kép ismertetése után áttérek a kvantitatív tárgyalásra. A CdS részecskék szerkezeti jellemzését az ASAXS módszer tette lehetővé. Az  $E_1$ =26120,  $E_2$ =26653 és  $E_3$ =26711 eV röntgenenergiákon elvégzett mérések eredményét, a nyert három ASAXS görbét a 121. ábrán mutatom be.

A 121. ábra az anomális módszer "majdnem" minden szépségét megvilágítja. Nevezetesen, a szórási ASAXS görbe (ebben az esetben nevezhetjük diffrakciós görbének is) fő jellegzetessége, a Bragg csúcs, hiszen a vizsgált rendszer legfőbb tulajdonsága, hogy réteges szerkezetű.<sup>31</sup> Az anomális szórás, az energiafüggés a CdS tartalomra érzékeny. A bemutatott három ASAXS görbe közötti különbség a növekvő szórási változó irányába haladva csökken. A Bragg csúcs pozíciójánál közel zérus, rámutatva arra a tényre, hogy az

<sup>&</sup>lt;sup>31</sup> A bemutatott ábra kinagyított részletet tartalmaz, ezért csak 1 reflexió látható.

anomális effektust előidéző CdS részecskék szórása, így elhelyezkedése is, független a vezikuláris rendszer réteges szerkezetétől.



121. ábra A hidratált DPPC-CdS rendszer ASAXS görbéi  $E_1$ =26120,  $E_2$ =26653,  $E_3$ =26711 eV energiákon mérve (baloldali ábra) és a szeparált (ASAXS) szórás- és tiszta rezonáns görbék (jobboldali ábra).

A szeparált és a tiszta rezonáns görbéket a 121. ábra jobb oldala tartalmazza. A görbék egyike sem mutat Bragg csúcsot, ami azt jelenti, hogy a rendszer kisszögű szórása domináns módon a CdS részecskék szórása, míg a diffrakciós jelenség a mátrix rétegeiből származik. A szeparált görbék lefutása meredekebb, mint egy ASAXS görbéié, a tiszta rezonáns görbéé még inkább, és az utóbbi a megfigyelt szórási tartomány kezdeti tartományára korlátozódik. A tiszta rezonáns görbe alapján meghatároztuk a CdS részecskék méreteloszlását, amit a 122. ábrán mutatok be. A CdS nanorészecskék méretére nyert, a fagyasztvatöréses képek alapján becsült 5-10 nm-es kiterjedés, nagyon jó egyezésben van a gömb alak feltételezésével nyert méreteloszlással. Elválasztás után a CdS részecskék méretét elektronmikroszkóppal is ellenőrizték. A nagy nagyítású képen a szabályos gömb alak helyett annak inkább kissé deformált változata volt megfigyelhető. A részecskék átmérője 6–7 nm közötti értékre volt becsülhető, szinte tökéletesnek mondható egyezésben az ASAXS módszerrel meghatározott méreteloszlással [241].

A CdS nanorészecskék vizes szuszpenziója hónapokig stabilnak mutatkozott, abból a részecskék könnyedén kinyerhetők voltak. A bemutatottak alapján a reakciólépések sorozata, a CdS formálódása a szinkrotron sugárzással követhető volt. A CdS méreteloszlását anélkül határoztuk meg, hogy az összetett reakcióelegytől elválasztottuk volna. A mérések gondos kivitelezése, ahogy erre a Raney-típusú nikkel katalizátor kapcsán rámutattam, a tiszta rezonáns, vagy az abszorpciós görbék alapján mennyiségi meghatározásra is lehetőséget ad.

A bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a szinkrotronsugárzás kihasználása új utakat kínál a nanorészecskék szintézisének kidolgozásában.



122. ábra CdS anomális kisszögű szórással meghatározott, részecskeméret eloszlása (A) és az elválasztott nanorészecskék elektronmikroszkópos (TEM) fényképe (B)

Az anomális technika révén a reakció időben követhető és a kívánt nanorészecske előállításához szükséges paraméterek megismerését biztosítja.

#### 5.3.3 CdS nanorészecskék előállítása Synperonic A7-víz rendszerben

Az előző pontban bemutattam, hogy a kétértékű réz, ill. kadmium ionok a liposzómák rétegeinek eltávolodásához vezet. Limitált méretük alapján a keletkezett rések ("gap-ek") nanorészecskék előállítására nanoreaktorokként hasznosíthatók. C. Tao és munkatársai réteges szerkezetű tenzid vizes rendszerben állítottak elő néhány nanométer vastag lemezes formájú CdS kristályokat. [242]. Az alaprendszer 2,5 – 5,0 nm periodicitással rendelkezett, míg a CdS termék kiterjedése több száz nanométer volt, ami arra mutat, hogy a rendszer, mint nanoreaktor a részecskék vastagságát határolta le. Az előző pontban ismertetett tapasztalatokat felhasználva a CdS nanorészecskék előállítását Synperonic A7-víz rendszerben tanulmányoztam [243]. A rendszert Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> vizes oldatával készítettem olyan módon, hogy a Synperonic A7 ("SynA7") tenzid átlag móltömegét<sup>32</sup> figyelembe véve a Cd<sup>2+</sup>/SynA7= 0,01 ill. 0,05 (mol/mol) legyen. A 16. ábrán bemutatott fázisdiagramra utalok, amely alapján a SynA7-re nézve 70, 80 és 90 tömegszázalékos rendszereket preparáltam, így lamellákat és micellákat tartalmazó fázisokat nyertem. A hexagonális fázist (amelyben 25°Con a tenzid koncentrációja 30 és 55% között van) nem vizsgáltam, mert ebben a vizes régió összefüggő és így a rendszer nanoreaktorként való alkalmazását nem tartottam valószínűnek. A 70 és 80 %-os összetétellel a tenzid koncentrációjának a hatását, a 90%-os inverz micellás rendszerrel az alapmátrix térformájának befolyását kívántam megfigyelni. A kadmiumsó hozzáadása a rendszerhez nem járt lényeges változással, amit morfológiai valamint szinkrotronnál kivitelezett kisszögű röntgenszórásos mérésekkel kontrolláltunk. Ennek igazolására először a Cd<sup>2+</sup>/SynA7= 0,01 és 0,05 mólarányú rendszerekről készített

<sup>&</sup>lt;sup>32</sup> átlagos mótömeg: 522 g/mol

fagyasztvatöréses képeket mutatom be. Laterálisan nagy kiterjedésű lemezes szerkezet figyelhető meg az elektronmikroszkópos képeken. Az összefüggő domének kiterjedését az intenzív keverés csökkentette, ami a  $Cd^{2+}/SynA7=0,01$  arányú rendszernél megfigyelhető. Pihentetés után – még a nagyobb koncentráció  $Cd^{2+}/SynA7=0,05$  esetén sem – volt tapasztalható a rétegek szétcsatolódása.



123. ábra A Synperonic A7 ("SynA7")-  $Cd(NO_3)_2$  rendszer fagyasztvatöréssel megfigyelt morfológiája a  $Cd^{2+}/SynA7=0,01$  és 0,05 mólarányú esetekben. (a kisebb koncentrációnál az intenzív keveréssel járó mintakészítés után, "a nagyobb koncentrációnál pedig pihentetés után történt a kvencselés)

A rendszerhez  $(NH_4)_2S$  vizes oldatát adtam kétszeres sztöchiometrikus mennyiségben, olyan koncentrációban, hogy a rendszer felhígulásával járó adagolás ne okozzon fázisváltozást. A tapasztalatok alapján a SynA7-víz rendszerhez történő adagolás módja váltotta ki a legnagyobb hatást. Ha a "pihentetett" SynA7-víz rendszerhez óvatos kevertetés közben adtam a reagenst, akkor nagyobb méretű részecskék keletkeztek. Evvel szemben, ha intenzív kevertetés közben gyorsan adagoltuk az  $(NH_4)_2S$ -ot, akkor kisebb méretű nanorészecskék keletkeztek. A részecskék méretének alakulását szemmel is követhettük. Nagyobb részecskék esetében "kadmium sárga" szín keletkeztet, míg a kisebb méret kialakulását citromsárga – zöldes, (fluoreszkáló) szín megjelenése kísérte.

NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S-nak a szinkrotron mérőhelyen történő adagolásával CdS részecskéket "frissen" állítottuk elő. A szórási képek minden esetben tartalmaztak Bragg gyűrűket, amelyek a rendezett sokrétegű domének jelenlétének volt a bizonyítéka. A CdS részecskéket tartalmazó minták szórási képeinek középén - a kisebb szórási változó tartományában - intenzív kisszögű szórás jelent meg, ami a kompakt, nagy elektronsűrűségű részecskék megjelenésének a következménye. Ezt a rögtön érzékelhető változást mutatom be a 124. ábra segítségével. Az ábrán mellékelem a rendszerből elkülönített CdS részecskékről készített elektronmikroszkópos fényképet is.



124. ábra A CdS megjelenésével járó erős kisszögű szórás megjelenése a kétdimenziós detektoron. A jobboldali betétábrán a CdS nanorészecskékről készített TEM felvétel látható.

A Synperonic A7-víz, a Synperonic A7-Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-víz, valamint a reagens hozzáadása után CdS-ot is tartalmazó rendszerek kisszögű szórásgörbéit szinkrotron mérőállomáson határoztuk meg [243]. A lamellás (80%) és az inverz hexagonális (90%) fázisok szerkezetét 25°C-on tanulmányoztuk a Cd<sup>2+</sup>/SynA7= 0,05 mólarány esetében. A SAXS görbéket a 125. ábrán mutatom be. A megfigyelt szórási változó tartományban<sup>33</sup> a lamellás fázishoz tartozó Bragg reflexiók két rendben tűnnek fel. Ez azt igazolja, hogy a diffrakciós jelleg hangsúlyos (hasonlóan а 17. ábrán bemutatott alapgörbéhez), következésképpen rendezett rétegszerkezetnek kell jelen lennie. A Synperonic A7-víz és a Synperonic A7-Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-víz rendszereket összehasonlítva azt állapíthatjuk meg, hogy a Cd<sup>2+</sup> ion jelenléte nem okozott változást sem a rétegek pakolódásában (annak szabályos vagy nem szabályos jellegét nem befolyásolta), sem a periódustávolság értékében (125. ábra, baloldali betétábra). Az inverz micellás rendszer esetében a szórási görbék alakja lényegesen megváltozott. Az éles Bragg csúcsok helyett diffúz csúcsalak (korrelációs csúcs) jelent meg. Magasabb rendű reflexiók megfigyelését a korlátozott q mérési tartomány nem biztosította (125. ábra, jobboldali betétábra). A CdS jelenléte esetében mindkét fázis szórási képén – az ismertetett kétdimenziós detektor kijelzésének megfelelően - erős kisszögű szórás lépett fel, ami a szórásváltozó kezdeti tartományában volt megfigyelhető.

<sup>&</sup>lt;sup>33</sup> A Cd karakterisztikus K élének megfelelő energia értékéből következően a qmin értéke nő, a szokásos 10 keV energiánál adódó qmin-hoz képest.



125. ábra A Synperonic A7-víz, a Synperonic A7-Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-víz, valamint CdS-ot tartalmazó rendszerek kisszögű szórásgörbéi az alaprendszer két fázisállapotában

Ennek, a CdS részecskékből származó erős kisszögű szórásnak az analízisét teszi lehetővé az anomális technika alkalmazása. A rendszer szórását több energián meghatároztuk és így az ASAXS görbék meghatározásához jutottunk. Az ASAXS görbéket, valamint azok szeparált változatait a mutatom be a 126. ábrán.



126. ábra A CdS nanorészecske tartalmú vizes Synperonic A7 rendszer anonomális szórási görbéi. A betétábrákon a kisszögű tartomány van kinagyítva. Ezeken az anomális effektusnak megfelelően, a növekvő energiával az intenzitás csökkenése figyelhető meg.

A szeparált görbe alakja eltér az ASAXS görbék alakjától, az dominánsan a CdS nanorészecskék szórásának felel meg, hasonlatosan a vezikulákban képződött részecskék esetében megfigyelt esethez (5.3.2 pont). A CdS nanorészecskék könnyűszerrel elválaszthatók a tenzid rendszertől. A szeparált ASAXS görbék alapján átlagosan 8-10 nm átmérőjű, monoform, közel gömb alakú részecskék keletkeztek. Az eddigi mérési eredmények alapján a réteges és micellás rendszerben előállított nanorészecskék mérete és eloszlása lényeges mértékben nem különbözött egymástól.

# 5.3.4 Rúd alakú CdS nanorészecskék előállítása Synperonic A7–víz rendszerben

A félvezető nanorészecskék, kvatumpontok (quantum dots) nemlineáris optikai tulajdonságai befolyásolhatók a részecskék alakmódosításával. Ebből kiindulva anizotrop, rúd alakú CdS részecskék előállítását céloztuk meg. Az előző pontban ismertetett preparációs műveletek során tapasztaltam, hogy intenzív keverés közben adagolva az (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S reagens oldatát anizotrop alakú részecskék is keletkeznek. További inspirációt adott a mikrofluidtechnikában használatos eszközök és módszerek megismerése. A legnagyobb nehézséget a viszkózus reaktáns rendszer áramoltatása jelentette. "Cső a csőben" reaktorokat építettünk és próbáltunk ki, de reprodukálható terméket (rúd alakú nanorészecskéket) nem sikerült előállítani. A megoldást egy nagyméretű forgó tárcsa alkalmazása jelentette. Plexi-lapból készített nagyméretű tárcsát asztali fúrógépen nagy sebességgel forgattam. A tengelynél adagolt reaktáns a tárcsán szétterült, közben arra a reagenst spriccelve, rúd alakú részecskék képződtek [244,245]. A körülmények megismerése céljából morfológiai vizsgálatokat végeztünk. A Synperonic A7-Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-víz rendszer forgatása és a reagens hozzáadása után a tárcsát leállítottuk (6 másodperc után). A felkenődött anyagból óvatosan mintát vettünk és azt fagyasztvatöréses módszerrel vizsgáltuk. A tárcsa tengely közeli és pereme közeli részeiről vett mintákat lefagyasztottuk. A kapott elektronmikroszkópos felvételeket a 127. ábrán mutatom be.



127. ábra A A Synperonic A7-Cd( $NO_3$ )<sub>2</sub>-víz rendszer ( $Cd^{2+}/SynA7=0,05$ ) törési felszíneinek morfológiája, a fagyasztvatörés a forgatott mintából készült, a forgási tengely közelében (balról jobbra az 1. és 2. kép)és a tárcsa szélén (balról jobb a 3. és 4. kép)

A fagyasztvatöréssel nem tárultak fel a részecskék. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a CdS részecskék felületén erősen tapad a vizes tenzid (tudatában annak, hogy a törés mindig a leggyengébb pontokon, határfelületeken következik be). A tárcsa közepéről származó részben a rétegek, a rétegek kötegei irányfüggést nem mutatnak (1. és 2. kép). A tárcsa széléről származó mintákban a hosszanti lefutású törési felszínek irányában anizotrópiát vélek felismerni. Az anizotrop részecskék képződésének oka a centrifugális tér következtében

fellépő radiális irányú erő. A nanoreaktorban kicsapódó CdS kicsiny méretű részecskék (nukleuszok) "meghúzzák" a nanoreaktor rugalmas falát és a részecskék növekedése irányítottá válik. A rendszerből a CdS részecskéket etilalkohollal kimostuk és azok transzmissziós fényképei a 128. ábrán láthatók.



128. ábra A forgó tárcsa különböző részein leválasztott CdS részecskék transzmissziós elektronmikroszkópos fényképei: balról jobbra az 1. kép:a tárcsa közepén (kis centrifugációs erő, 2. kép: a tárcsa széle(nagy centrifugális erő), 3. kép: a tároló edény fala (ahová mindehonnan kicsapódik az anyag)

Az anizotrop alakú CdS nanorészecskéket nagyobb nagyítással vehetjük szemügyre (129. ábra). Két független preparáció eredményét mutatom be, valamint egy csatolt ábra segítségével azt is bemutatom, hogy ha a felhasznált reaktánst és reagenst főzőpohárban kevertem össze, akkor nem keletkeztek rúd alakú részecskék.



129. ábra A Synperonic A7 rendszerben szintetizált CdS nanorészecskék elektronmikroszkópos felvétele (két független preparáció eredménye: 1. és a 2. kép, kontroll, forgatás nélkül: 3. kép)

A CdS részecskéket tartalmazó rendszer SAXS és ASAXS eredményeit a 130. ábra összegezi. A CdS éle közelben, a különböző energiákon végzett mérés 5 – 10% közötti effektussal járt, ahogy ez az ábrán is megfigyelhető. A mérési eredmények eddigi feldolgozása alapján a

részecskék jellemző mérete kisebb – a Shull–Roess - féle illesztés alapján nyert eloszlás szerint – , mint a liposzómában preparált nanorészecskék esetében volt.



130. ábra A CdS nanorészecskéket tartalmazó Synperonic A7 rendszer ASAXS és szeparált ASAXS görbéje (baloldali kép), valamint a szeparált görbéből meghatározott, CdS részecskékre vonatkozó méreteloszlás

Az eddigi eredmények azt mutatták, hogy az anizotrop jelleg nem olyan mértékű, mint azt a 129. ábrán megfigyelt objektuma alapján feltételeztük. Valószínű, hogy a "nagyméretű" (hozzávetőlegesen 50-80 nm hosszú és 10-20 nm átmérőjű) részecskék nem homogén képződmények, hanem a mellékelt méreteloszlásnak megfelelő, átlagosan <4 nm átmérőjű nanorészecskékből álló összetett alakzatok.

#### ÖSSZEGZÉS:

A bemutatott eredmények határozzák meg a soron következő munkát. Az elérhetővé váló fényesebb szinkrotronnyalábok újabb lehetőségeket teremtenek. Például az 5.2.7. pontban bemutatott mérések 100 ezredmásodperc expozíciós idővel készültek az *ID 02* (ESRF/Grenoble) mérőnyalábnál, miközben a minta folyamatosan áramlott a sugárkárosodás csökkentése céljából. A gyors mérés új lehetőségeket teremt a nanorészecskék keletkezésének "in situ" követésére és a szintézis részleteinek felderítésében. Időben követhetjük a folyamatokat, a részecskék formálódásának lépéseit, a szintézis paramétereinek hatását ismerhetjük meg. A szerkezeti- és dinamikai tulajdonságok további részleteire derülhet fény.

### 6 Összefoglalás

Az aktívszén szénváza anizotrop. Az anizotrop tulajdonságot a hozzávetőlegesen 100 nm kiterjedésű halmazok hordozzák. Az anizotrópia az aktívszén előállítására felhasznált alapanyag textúrájából ered és az a karbonizálási folyamat révén alakul ki az aktívszén vázszerkezetében. Az anizotrópia mértékét a kis konverzióval (hozzávetőlegesen 10 – 20 %) együtt járó aktiválási folyamatok csökkentik, míg nagy konverzió esetében megszűntetik. Az 1 nm átmérőjű gömbök, mint szerkezeti egységek elegendően kisméretűek ahhoz, hogy a belőlük felépített alakzatok alkalmasak legyenek a fa-alapanyagú aktívszenek anizotrop tulajdonságainak rekonstruálására. A felépített alakzatok elméleti kisszögű szórási képének és a valós rendszer szórási képének összehasonlítása módszerként szolgál a szénváz anizotrop jellegének és annak – a hőkezelési és aktiválási folyamatok során bekövetkező – változásainak magyarázatára.

Egy újfajta nem piroforos, alumínium-oxid hordozós Raney-típusú nikkel katalizátor, legalább négy összetevőt tartalmazó komplex rendszerének kisszögű szórásából, az anomális kisszögű röntgenszórás módszerének felhasználásával, a katalitikus hatás szempontjából leglényegesebb komponens, a nikkel nanorészecskék jellemzése végezhető el, amelyek 4,16 nm átmérőjű ( $\sigma$ =0,24) gömb alakú, átlagosan két részecskét tartalmazó aggregátumok. Az anomális röntgenszórás, mint roncsolásmentes vizsgálati módszer a szintézis hatékonyságát, a kitermelési százalék megállapítását is lehetővé teszi.

A Synperonic A7 - víz (80 tömegszázalék) nem-ionos tenzid-víz rendszer nyírási igénybevétel során kivitelezett "in situ" kisszögű röntgenszórásos valamint morfológiai vizsgálatok lehetőséget teremtenek a nyírási igénybevétel során a rendszer rétegszerkezetében bekövetkező változásainak nyomonkövetésére és információval szolgálnak a folyás és viszkozitásgörbék értelmezésére. A hozzávetőlegesen 100 – 200 nanométeres, szabálytalanul pakolt domének határozzák meg a rendszer reológiai sajátságait. A doménszerkezet formálódása együtt jár a nanométeres periódusú rétegszerkezet változásaival, de ezeknek nincs lényeges hatása a reológiai tulajdonságokra.

Blokkokból felépülő centroszimmetrikus modellt vezettem be sokrétegű vezikulák (liposzómák) szerkezetének és kisszögű szórásának jellemzésére. A szabályosabban pakolódott gömbszimmetrikus rétegek halmazát definiáltam blokként. A blokkok között nincs korreláció, teljesen szétcsatolt állapotban vannak. A blokkokat a kettősréteg közötti, nagymértékben és véletlenszerűen megvastagodott vízrétegek választják el. A blokkok rétegeinek száma tipikusan 1 és 10 között van. A blokkok kisszögű szórása jellemző a

154

liposzóma egészének szórására. A modell alkalmas sokrétegű vezikulák kisszögű diffrakciós csúcsainak a fázisátmenetek hőmérséklettartományában kialakuló, valamint idegen molekulák által befolyásolt alakjának értelmezésére.

A dipalmitoilfoszfatidil-kolin (DPPC: 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-foszfatidilkolin)/víz alapú vezikulák gél és hullámos gél fázisai közötti előátmenete során a kettősrétegen belüli (rövidtávú) és a kettősrétegek közötti (hosszú távú) szerkezeti formák nem szimultán változnak. Az átmeneti szerkezeti formák a termikus előélet hatását mutatják. Termikus előélethez kapcsolódó memória effektust figyeltem meg. A vendégmolekulák jelenlétében (a 2,4-diklórfenol példáján bemutatva) az előátmenet elsőrendű fázisátmeneti karaktere gyengén elsőrendű (közel folytonos) karakterűvé változik és ennek következményei a kisszögű röntgenszórás módszerével megfigyelhetők.

A DPPC-víz-2,4-diklórfenol rendszer nanoszerkezetei kisszögű röntgenszórással hatékonyan vizsgálhatók és lehetőség van a rendszer fázisdiagramjának meghatározására, amit a 20-45 °C hőmérséklethatárok és [0 – 1] 2,4-diklórfenol/DPPC mol/mol tartományban végeztünk el. A 2,4-diklórfenol pontosabb (lokális) elhelyezkedésének meghatározását a kisszögű röntgenszórás speciális változatai; a kontraszt variációs kisszögű röntgendiffrakció és az anomális kisszögű röntgendiffrakció módszerei biztosítják. Azonosítottuk a 2,4-diklórfenol hatására formálódott összetolt (angol elnevezéssel "interdigitated") gél fázist.

A szulfadiazin molekula elhelyezkedése a baktériummembránok lipidösszetételét modellező liposzómákban nem karakterisztikus. A szulfadiazin jelenlétében kialakuló kettősrétegek morfológiáját a lipidek aránya valamint az alkalmazott pufferrendszer és a rendszer komponenseinek tisztasági foka nagymértékben befolyásolja. A szulfadiazin jelenlétében létezik a membránlipidek (DPPG/DPPE) arányának egy intervalluma, amelyben a rétegszerkezet szétcsatolódása nagymértékű (ez az intervallum 0,1 és 0,4 közötti értékre becsülhető).

A humán sejtmembránt modellező DPPC-víz rendszerek karakterisztikus rétegszerkezete és a kettősrétegen belüli szénlánc pakolódása a tobramycin és a streptomycin (aminoglikozidok) hatására nem változik meg, ugyanakkor spectinomycin (egy nem "igazi aminoglikozid" =aminocyclitol) rendezetlenséget okoz a kettősrétegekben. A tobramycin, a streptomycin és a spectinomycin egységesen szerkezetépítő hatást váltanak ki a bakteriális membránok modelljeiben. Tobramycin és streptomycin esetében szabályos rétegszerkezet, míg a spectinomycin esetében a biológiai membránok szerkezetétől idegen, hexagonális struktúra alakul ki.

155

A Salmonella minnesota R595 lipopoliszacharid (LPS) a humán sejtmembránt modellező DPPC/víz liposzómákban a főátmenet karakterét megváltoztatja, elsőrendű karakterét gyengén elsőrendűvé módosítja. A LPS nagy koncentrációban saját önszerveződésének megfelelően köbös fázist indukál. A LPS a bakteriális modellmembránokban a sejtmembrán rétegszerkezetétől eltérő köbös nanoszerkezetet alakít ki. A rendszerhez 0,2 lipid/lipid arányban adott egyéb lipidek (DPPG, DPPA, DPG) hatása a biológiailag nem releváns folyadékkristályos állapotban válik jellegzetessé (DPPG jelenlétében köbös, DPPA jelenlétében amorf, DPG jelenlétében hexagonális és köbös szerkezetek alakulnak ki).

DPPC foszfolipidből, koleszterinből és polialmasavból stabilis unilamellás vezikula állítható elő. Részletes – a polialmasav lokális elhelyezkedését is leíró – szerkezetvizsgálat csak nagy precizitású szinkrotron mérések alapján és az azt követő, a teljes szórási görbét modellező ún. "két G" illesztés alapján lehetséges. Az illesztés alapján a vezikulák mérete, eloszlása, egyszeres és hozzávetőlegesen 8-10 %-ban jelenlevő kétszeres kettősrétegű liposzómák előfordulása állapítható meg. A polialmasav a lipidek külső, fejcsoport régiójában aszimmetrikus módon helyezkedik el. Lokalizációjuk Gauss függvénnyel jellemezve  $2\sigma=0,8$ nm széles, a lipid két oldalán mért távolságuk 5,16 nm. A kétszeres kettősréteg távolsága 7,45 nm, ami gyengén szétcsatolt rétegszerkezetet jelez. A röntgenszórással és a fagyasztvatöréssel kombinált elektronmikroszkópos képi megfigyelések egyeznek.

 $Cu^{2+}$  ionok hatására DPPC/víz alapú vezikulák rétegrendszere szétcsatolódik. A  $Cu^{2+}$  ionok elhelyezkedésének tanulmányozására az anomális kisszögű szórás alkalmazható. A rézionok eloszlása a liposzómában inhomogén és az eloszlás formája a  $Cu^{2+}$ /DPPC arány és a hőmérséklet függvénye: a  $Cu^{2+}$ /DPPC=0,02 mol/mol mólarány alatt a rézionok periodikusan, a liposzómák rétegeinek megfelelően helyezkednek el. Ennél nagyobb koncentráció esetében, a rézionok gömb alakú doménekben (hozzávetőlegesen 30 nm átmérőjű) vannak jelen. NaOH és hőkezelés hatására a liposzómás rendszerben CuO (részben Cu(OH)<sub>2</sub> tartalmú) nanorészecskék keletkeznek.

A DPPC alapú vezikulák  $Cd^{2+}$  ionok hatására szétcsatolódnak és további reagens adagolása során nanoreaktorokként viselkednek. A hidratált DPPC/Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> rendszerbe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S reagenst adagolva, szűk méreteloszlású CdS nanorészecskék állíthatók elő. A CdS nanorészecskék alakja közelítőleg gömb, átlagos átmérője 6 – 7 nm. Az anomális röntgenszórással részecskék jellemzése szeparálás nélkül, a reakcióelegyben közvetlenül elvégezhető.

A Synperonic A7 – víz rendszerben a Cd-ion jelenléte a rendszer lamellás fázisában a rétegek szétcsatolódásához vezet. A rendszerhez (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S reagens oldatát adagolva 8-10 nm

átlagos átmérőjű, monoform, közel gömb alakú CdS nanorészecskék keletkeznek. Anomális röntgenszórással a nanorészecskék szeparálása nélkül a reakcióelegyben jellemezhetők. Forgó tárcsás eszközzel, a centrifugális erő kihasználásával rúd alakú, átlagosan 50-60 nm hosszú 8-14 nm átmérőjű CdS nanorészecskék állíthatók elő.

Kisszögű és nagyszögű röntgenszórás egyidejű detektálására alkalmas (SWAXS) kombinált, nyitott mintatartó-terű kamera egyidejűleg biztosítja a liposzómák lipidrétegeinek nanométeres és lipid kettősrétegeinek "tized nanométeres" méretskálájú szerkezetvizsgálatát. Pordiffrakciós berendezéshez illesztett kisszögű és nagyszögű röntgenszórás mérésére alkalmas kollimációs és egyéb kisegítő egységek használatával a teljes kis és nagyszögű szórási szögtartományban 0,1 – 130° szöghatárok között, holt intervallum nélkül, mind transzmissziós, mind reflexiós mérési geometriában végezhető mérés, amellyel három nagyságrendet meghaladó szerkezeti információ érhető el.

### 7 Irodalomjegyzék

- 1. Bragg WH. X-Rays and Crystals. Nature. 1912 Nov 28;90(2248):360–1.
- 2. Bragg WL. The Specular Reflection of X-rays. Nature. 1912;90:410.
- 3. Krishnamurti P. Studies in X-ray diffraction. I. The structure of amorphous carbon. Indian Journal of Physics. 1930;5:473–86.
- 4. Warren BE. X-Ray Diffraction Study of Carbon Black. The Journal of Chemical Physics. 1934;2(9):551–5.
- 5. Vineyard GH. Concerning Certain Anomalous Small Angle Diffraction Effects. Physical Review. 1951;82:453–453.
- 6. Guinier A, Fournet G. Small-angle scattering of X-rays. Wiley; 1955.
- 7. Jackson JD. Klasszikus Elektrodinamika. Budapest: TypoTEX; 2004.
- 8. Koch MHJ, Vachette P, Svergun DI. Small-angle scattering: a view on the properties, structures and structural changes of biological macromolecules in solution. Quarterly reviews of biophysics. 2003;36(02):147–227.
- 9. Friedrich W, Knipping P, Laue M. Interferenzerscheinungen bei Röntgenstrahlen. Annalen der Physik. 1913;346(10):971–88.
- 10. Schultz JM. Az anyagvizsgálat diffrakciós módszerei. Budapest: Műszaki Könyvkiadó; 1987.
- 11. Guinier A. X-ray diffraction in crystals, imperfect crystals, and amorphous bodies. New York: Dover; 1994.
- 12. Pálmai M, Nagy LN, Mihály J, Varga Z, Tárkányi G, Mizsei R, et al. Preparation, purification and characterization of aminopropyl-functionalized silica sol. Journal of Colloid and Interface Science [Internet]. 2012 Sep [cited 2012 Oct 8]; Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002197971201034X
- 13. Wacha A. Szemcsés rendszerek vizsgálata kisszögű röntgenszórással: kísérlet és szimuláció [diplomamunka]. [Budapest]: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem; 2008.
- 14. Wacha A. Private communication. 2010.
- 15. Kittel C. Bevezetés a szilárdtest-fizikába. Budapest: Műszaki Könyvkiadó; 1966.
- 16. Capelle A, Vooys F de. Activated Carbon... Norit N.V.; 1983.
- 17. Marsh H, Rodríguez-Reinoso F. Activated carbon. Amsterdam; London: Elsevier; 2006.
- 18. Rodríguez-Reinoso F, Molina-Sabio M. Activated carbons from lignocellulosic materials by chemical and/or physical activation: an overview. Carbon. 1992 Jan;30(7):1111–8.
- 19. Bóta A, László K, Valyon J, Nagy LG, Subklew G, Schwuger MJ. Activated carbon from waste materials. Periodica Polytechnica-Chemical Engineering. 1997;41(1):19–24.
- 20. Franklin RE. Crystallite growth in graphitizing and non-graphitizing carbons. Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences. 1951;209(1097):196–218.
- 21. Hirsch PB. X-ray scattering from coals. Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences. 1954;226(1165):143–69.
- 22. Gregg SJ, Sing KS. Adsorption, surface area and porosity. London [u.a.]: Academic Press; 1995.
- 23. Dubinin MM, Kadlec O, Zukal A. Carbon Adsorbents with Molecular Sieve Properties. Nature. 1965 Jul 3;207(4992):75–6.
- 24. Kadlec O, Dubinin MM. Comments on the limits of applicability of the mechanism of capillary condensation. Journal of Colloid and Interface Science. 1969;31(4):479–89.
- 25. Dubinin MM. Fundamentals of the theory of adsorption in micropores of carbon adsorbents: characteristics of their adsorption properties and microporous structures. Pure and Applied Chemistry. 1989;61(11):1841–3.
- 26. Marsh H, Rand B. The characterization of microporous carbons by means of the Dubinin-Radushkevich equation. Journal of Colloid and Interface Science. 1970 May;33(1):101–16.
- 27. Spitzer Z, Bíba V, Kadlec O. The complete pore structure analysis of fine porous solids. Carbon. 1976 Jan;14(3):151–6.

- 28. Setoyama N, Ruike M, Kasu T, Suzuki T, Kaneko K. Surface characterization of microporous solids with helium adsorption and small angle x-ray scattering. Langmuir. 1993 Oct;9(10):2612–7.
- 29. Bóta, László K, Nagy LG, Copitzky T. Comparative Study of Active Carbons from Different Precursors. Langmuir. 1997;13(24):6502–9.
- 30. László K, Bóta A, Nagy LG, Cabasso I. Porous carbon from polymer waste materials. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 1999;151(1-2):311–20.
- 31. László K, Bóta A, Nagy LG. Comparative adsorption study on carbons from polymer precursors. Carbon. 2000;38(14):1965–76.
- 32. Horváth G, Kawazoe K. Method for the calculation of effective pore size distribution in molecular sieve carbon. Journal of Chemical Engineering of Japan. 1983;16(6):470–5.
- 33. Gauden PA, Terzyk AP, Jaroniec M, Kowalczyk P. Bimodal pore size distributions for carbons: Experimental results and computational studies. Journal of Colloid and Interface Science. 2007 Jun;310(1):205–16.
- 34. Juhola AJ. Iodine adsorption and structure of activated carbons. Carbon. 1975;13(5):437–42.
- 35. NORIT N.V. Measuring Adsorptive Capacity of Powdered Activated Carbon [Internet]. Measuring Adsorptive Capacity of Powdered Activated Carbon. 2012 [cited 2012 Jul 27]. Available from: http://www.norit-americas.com/pdf/Isotherm\_Test\_rev2.pdf
- 36. Ergun S. X-ray studies of carbon. In: Walker PL, editor. Chemistry and Physics of Carbon. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1968. page 211–88.
- 37. Hosemann R. Theorie der Röntgenstrahlenstreuung an Partikelhaufen. Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei. 1939;113(11):751–68.
- 38. Shull CG, Roess LC. X-Ray Scattering at Small Angles by Finely-Divided Solids. I. General Approximate Theory and Applications. Journal of Applied Physics. 1947;18(3):295–307.
- 39. Roess LC, Shull CG. X-Ray Scattering at Small Angles by Finely-Divided Solids. II. Exact Theory for Random Distributions of Spheroidal Particles. Journal of Applied Physics. 1947;18(3):308–13.
- 40. Janosi A, Stoeckli HF. Comparative study of gas adsorption and small angle X-ray scattering by active carbons, in relation to heterogeneity. Carbon. 1979;17(6):465–9.
- 41. Dubinin MM. Microporous structures of carbonaceous adsorbents. Carbon. 1982;20(3):195-200.
- 42. Bóta A, László K, Simay Á, Nagy LG, Frischkorn K, Schmidt H. Aktívszén előállítása hulladékanyagokból. Kémiai Közlemények. 1993;76(1-2):139–46.
- 43. Bóta A, László K, Nagy LG, Subklew G, Schlimper H, Schwuger MJ. Adsorbents from waste materials. Adsorption. 1996;3(1):81–91.
- 44. Bóta A, László K, Nagy LG, Schlim. Barackmagból előállított aktív szén jellemzése [Active carbon from apricot pits]. Magyar Kémiai Folyóirat Kémiai Közlemények. 1997;103(9):470–9.
- 45. Bóta A, László K, Schlimper H, Nagy LG. Active Carbon from Apricot Pits. Ach-Models in Chemistry. 1997;134(2-3):169–87.
- 46. Bóta A, László K. Preparation of Activated Carbon from Apricot Pits. Periodica Polytechnica-Chemical Engineering. 1997;41(1):25–41.
- 47. Bóta A. Modification of the Structure of an Active-Carbon by Heat-Treatment. Journal of Applied Crystallography. 1991;24(5):635–7.
- 48. Bale HD, Schmidt PW. Small-angle X-ray-scattering investigation of submicroscopic porosity with fractal properties. Physical review letters. 1984;53(6):596–9.
- 49. Wong P, Bray AJ. Porod scattering from fractal surfaces. Physical Review Letters. 1988;60(13):1344–1344.
- 50. Schmidt PW. Small-angle scattering studies of disordered, porous and fractal systems. Journal of Applied Crystallography. 1991;24(5):414–35.
- 51. Lichtenegger H, Reiterer A, Stanzl-Tschegg SE, Fratzl P. Variation of Cellulose Microfibril Angles in Softwoods and Hardwoods--A Possible Strategy of Mechanical Optimization. Journal of Structural Biology. 1999;128(3):257–69.

- 52. Jakob HF, Fratzl P, Tschegg SE. Size and arrangement of elementary cellulose fibrils in wood cells: a small-angle X-ray scattering study of Picea abies. Journal of Structural Biology. 1994;113(1):13–22.
- 53. Jakob H, Fengel D, Tschegg S, Fratzl P. The elementary cellulose fibril in Picea abies: comparison of transmission electron microscopy, small-angle X-ray scattering, and wide-angle X-ray scattering results. Macromolecules. 1995;28(26):8782–7.
- 54. Sarén M-P, Serimaa R. Determination of microfibril angle distribution by X-ray diffraction. Wood Science and Technology. 2005 Dec 15;40:445–60.
- 55. Devred F. A nanostructural study of raney-type nickel catalysts. Delft: Delft University Press; 2004.
- 56. Devred F, Hoffer BW, Sloof WG, Kooyman PJ, Van Langeveld AD, Zandbergen HW. The genesis of the active phase in Raney-type catalysts: the role of leaching parameters. Applied Catalysis A: General. 2003;244(2):291–300.
- 57. Petró J, Bóta A, László K, Beyer H, Kálmán E, Dódony I. Új alumínium-oxid-hordozós nempiroforos Raney-típusú katalizátor. Magyar Kémikusok Lapja. 2000;55(8-9):318–22.
- 58. Petró J, Bóta A, László K, Beyer H, Kálmán E, Dékány I. A new alumina-supported, not pyrophoric Raney-type Ni-catalyst. Applied Catalysis A: General. 2000;190(1):73–86.
- 59. Feigin LA, Svergun DI. Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering. 1st ed. Springer; 1987.
- 60. Waseda Y. Novel application of anomalous (resonance) X-ray scattering for structural characterization of disordered materials. Berlin; New York: Springer-Verlag; 1984.
- 61. Stuhrmann HB, Goerigk G, Munk B. Anomalous X-ray Scattering. In: Ebashi S, Koch M, Rubenstein E, editors. Handbook on Synchrotron Radiation. 1st ed. Elsevier Science Publ. Co.; 1991. page 555–80.
- 62. Tatchev D. Structure analysis of multiphase systems by anomalous small-angle X-ray scattering. Philosophical Magazine. 2008 Apr 21;88:1751–72.
- 63. Goerigk G, Haubold HG, Schilling W. Kinetics of decomposition in copper-cobalt: A timeresolved ASAXS study. Journal of applied crystallography. 1997;30(6):1041–7.
- 64. Goerigk G, Williamson D. Quantitative ASAXS of germanium inhomogeneities in amorphous silicon-germanium alloys. Journal of non-crystalline solids. 2001;281(1-3):181–8.
- 65. Haug J, Kruth H, Dubiel M, Hofmeister H, Haas S, Tatchev D, et al. ASAXS study on the formation of core–shell Ag/Au nanoparticles in glass. Nanotechnology. 2009;20:505705.
- 66. Haubold HG, Gruenhagen K, Wagener M, Jungbluth H, Heer H, Pfeil A, et al. JUSIFA—A new user-dedicated ASAXS beamline for materials science. Review of Scientific Instruments. 1989;60(7):1943–6.
- 67. Tadros TF. Self-organized surfactant structures. Weinheim: Wiley-VCH; 2011.
- 68. Bohlin L, Fontell K. Flow properties of lamellar liquid crystalline lipid-water systems. Journal of Colloid and Interface Science. 1978;67(2):272–83.
- 69. Oswald P, Allain M. Rheology an structural defects in a lyotropic lamellar phase. Journal of colloid and interface science. 1988;126(1):45–53.
- 70. Alcantara MR, Vanin JA. Rheological properties of lyotropic liquid crystals. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 1995;97(2):151–6.
- 71. Valiente M. Influence of a cationic surfactant on the phase behavior of C12E4/hexanol/water system at low surfactant concentration. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 1995;105(2):265–75.
- 72. Cates ME, Milner ST. Role of shear in the isotropic-to-lamellar transition. Physical review letters. 1989;62(16):1856–9.
- 73. Mang JT, Kumar S, Hammouda B. Discotic Micellar Nematic and Lamellar Phases under Shear Flow. Europhysics Letters (EPL). 1994 Dec 1;28(7):489–94.
- Penfold J, Staples E, Lodhi AK, Tucker I, Tiddy GJT. Shear-induced transformations in the lamellar phase of hexaethylene glycol monohexadecyl ether. The Journal of Physical Chemistry B. 1997;101(1):66–72.
- 75. Dimitrova G, Tadros TF, Luckham P. Investigations of the phase changes of nonionic surfactants using microscopy, differential scanning calorimetry, and rheology. 1. Synperonic A7, a C13/C15 alcohol with 7 mol of ethylene oxide. Langmuir. 1995;11(4):1101–11.

- 76. Németh Z, Halász L, Pálinkás J, Bóta A, Horányi T. Rheological behaviour of a lamellar liquid crystalline surfactant-water system. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects. 1998;145(1-3):107–19.
- Németh Z, Pálinkás J, Halász L, Bóta A, Horányi T. Rheological And Structural Properties of Binary Nonionic Surfactant - Water Lamellar Systems. Tenside Surfactants Detergents. 1999;36(2):88–95.
- 78. Petty HR. Molecular biology of membranes□: structure and function. New York [etc.]: Plenum Press; 1993.
- 79. Cevc G, Marsh D. Phospholipid bilayers: physical principles and models. Wiley; 1987.
- 80. Cevc G. Phospholipids handbook. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1993.
- 81. Bangham AD, Horne RW. Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope. Journal of molecular biology. 1964;8:660.
- 82. Johnson SM, Bangham AD, Hill MW, Korn ED. Single bilayer liposomes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 1971;223(3):820–6.
- 83. Bangham AD. Surrogate cells or Trojan horses. The discovery of liposomes. BioEssays. 1995;17(12):1081-8.
- 84. Yeagle P. Membrane models and model membranes. The membranes of cells. Orlando: Academic Press; 1987. page 43–66.
- 85. Torchilin VP, Weissig V. Liposomes□: a practical approach. Oxford; New York: Oxford University Press; 2003.
- 86. Lohner K, Latal A, Degovics G, Garidel P. Packing characteristics of a model system mimicking cytoplasmic bacterial membranes. Chemistry and physics of lipids. 2001;111(2):177–92.
- 87. Lewis RNAH, Mannock DA, Mcelhaney RN. Membrane Lipid Molecular Structure and Polymorphism. In: Richard M. Epand, editor. Current Topics in Membranes. San Diego: Academic Press; 1997. page 25–102.
- 88. Epand RM. Lipid polymorphism and membrane properties. San Diego: Academic Press; 1997.
- 89. Weber FJ, de Bont JAM. Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Reviews on Biomembranes. 1996 Oct 29;1286(3):225–45.
- 90. Lohner K, Prenner EJ. Differential scanning calorimetry and X-ray diffraction studies of the specificity of the interaction of antimicrobial peptides with membrane-mimetic systems. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes. 1999 Dec 15;1462(1–2):141–56.
- 91. Luzzati V, Delacroix H, Gulik A, Gulik-Krzywicki T, Mariani P, Vargas R. The Cubic Phases of Lipids. In: Richard M. Epand, editor. Current Topics in Membranes. San Diego: Academic Press; 1997. page 3–24.
- 92. Lohner K. Development of novel antimicrobial agents □: emerging strategies. Development of novel antimicrobial agents □: emerging strategies. Wymondham, Norfolk, England: Horizon Scientific; 2001. page 149–65.
- 93. Staudegger E, Amenitsch H, Kriechbaum M, Lohner K. Interaction of antimicrobial peptides with microbial lipid extracts: evidence for cubic phase formation [Internet]. Interaction of antimicrobial peptides with microbial lipid extracts: evidence for cubic phase formation. 2012 [cited 2012 Sep 27]. Available from: http://scattering.tripod.com/Erich.html
- 94. Yeagle P. The lipids of cell membranes. The membranes of cells. Orlando: Academic Press; 1987. page 18–41.
- 95. Rand RP, Parsegian VA. Hydration forces between phospholipid bilayers. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Reviews on Biomembranes. 1989 Dec 6;988(3):351–76.
- 96. Winter R. Synchrotron X-ray and neutron small-angle scattering of lyotropic lipid mesophases, model biomembranes and proteins in solution at high pressure. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Protein Structure and Molecular Enzymology. 2002 Mar 25;1595(1–2):160–84.
- 97. Blondelle SE, Lohner K, Aguilar M-I. Lipid-induced conformation and lipid-binding properties of cytolytic and antimicrobial peptides: determination and biological specificity. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes. 1999 Dec 15;1462(1–2):89–108.

- 98. Lee AG. Membrane lipids: It's only a phase. Current Biology. 2000 May 15;10(10):R377-R380.
- 99. Small DM. The Physical Chemistry of Lipids: From Alkanes to Phospholipids. New York: Plenum Press; 1986.
- 100. Zhang R, Suter RM, Nagle JF. Theory of the structure factor of lipid bilayers. Phys. Rev. E. 1994 Dec 1;50(6):5047–60.
- 101. Pabst G, Rappolt M, Amenitsch H, Laggner P. Structural information from multilamellar liposomes at full hydration: full q-range fitting with high quality x-ray data. Physical Review E. 2000;62(3):4000.
- 102. Pabst G, Koschuch R, Pozo-Navas B, Rappolt M, Lohner K, Laggner P. Structural analysis of weakly ordered membrane stacks. Journal of applied crystallography. 2003;36(6):1378–88.
- Richardsen H, Vierl U, Cevc G, Fenzl W. Ion distribution profiles between polar and charged membranes as observed by anomalous X-ray diffraction. EPL (Europhysics Letters). 1996;34:543.
- 104. Worthington CR, Blaurock AE. A structural analysis of nerve myelin. Biophysical journal. 1969;9(7):970–90.
- 105. Brzustowicz MR, Brunger AT. X-ray scattering from unilamellar lipid vesicles. Journal of applied crystallography. 2005;38(1):126–31.
- 106. Åkesson A, Bendtsen KM, Beherens MA, Pedersen JS, Alfredsson V, Gómez MC. The effect of PAMAM G6 dendrimers on the structure of lipid vesicles. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010;12(38):12267–72.
- 107. Rogers HJ, Perkins HR, Ward JB. Microbial cell walls and membranes. Chapman and Hall; 1980.
- 108. Gómez-Fernández JC, Villalaín J, Aranda FJ. Phase Behavior of Membranes Containing Bioactive Lipids. In: Epand RM, editor. Current Topics in Membranes [Internet]. Academic Press; 1997 [cited 2012 Oct 11]. page 193–235. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0070216108602099
- 109. Inoue T, Nibu Y. Miscibility of binary phospholipid mixtures under hydrated and non-hydrated conditions. III. Reinvestigation of phosphatidic acids with different acyl chain length. Chemistry and Physics of Lipids. 1995 Jun 19;76(2):171–9.
- 110. Estrela-Lopis I, Brezesinski G, Möhwald H. Miscibility of DPPC and DPPA in monolayers at the air/water interface. Chemistry and physics of lipids. 2004;131(1):71–80.
- 111. Hida S, Yoshida M, Nakabayashi I, Miura NN, Adachi Y, Ohno N. Anti-fungal Activity of Sulfamethoxazole toward Aspergillus Species. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2005;28(5):773–8.
- 112. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. Clinical microbiology reviews. 2003;16(3):430–50.
- 113. Myrdal SE, Johnson KC, Steyger PS. Cytoplasmic and intra-nuclear binding of gentamicin does not require endocytosis. Hearing research. 2005;204(1):156–69.
- 114. Myrdal SE, Steyger PS. TRPV1 regulators mediate gentamicin penetration of cultured kidney cells. Hearing research. 2005;204(1):170–82.
- 115. Snyder S, Kim D, McIntosh TJ. Lipopolysaccharide Bilayer Structure: Effect of Chemotype, Core Mutations, Divalent Cations, and Temperature<sup>†</sup>. Biochemistry. 1999 Aug 1;38(33):10758–67.
- 116. Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. Annual review of biochemistry. 2002;71:635.
- 117. Seydel U, Koch MHJ, Brandenburg K. Structural Polymorphisms of Rough Mutant Lipopolysaccharides Rd to Ra from Salmonella minnesota. Journal of structural biology. 1993;110(3):232–43.
- Benedetto DA, Shands Jr JW, Shah DO. The interaction of bacterial lipopolysaccharide with phospholipid bilayers and monolayers. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1973 Mar 16;298(2):145–57.
- Brandenburg K, Seydel U. Physical aspects of structure and function of membranes made from lipopolysaccharides and free lipid A. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 1984 Aug 22;775(2):225–38.

- 120. Escher BI, Schwarzenbach RP. Partitioning of Substituted Phenols in Liposome–Water, Biomembrane–Water, and Octanol–Water Systems. Environ. Sci. Technol. 1996 Dec 1;30(1):260–70.
- 121. Jensen J. Chlorophenols in the terrestrial environment. Rev Environ Contam Toxicol. 1996;146:25–51.
- 122. Sikkema J, de Bont JA, Poolman B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiol Rev. 1995 Jun;59(2):201–22.
- 123. Huang C. Studies on phosphatidylcholine vesicles. Biochemistry. 1969;(8):344–51.
- 124. Trier S, Henriksen JR, Andresen TL. Membrane fusion of pH-sensitive liposomes a quantitative study using giant unilamellar vesicles. Soft Matter. 2011;7(19):9027.
- 125. Barenholz Y. Liposome application: problems and prospects. Current opinion in colloid & interface science. 2001;6(1):66–77.
- 126. Papahadjopoulos D, Allen TM, Gabizon A, Mayhew E, Matthay K, Huang SK, et al. Sterically stabilized liposomes: Improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991 Dec;88:11460–4.
- 127. Needham D, Hristova K, McIntosh TJ, Dewhirst M, Wu N, Lasic DD. Polymer-Grafted Liposomes: Physical Basis for the "Stealth" Property. Journal of Liposome Research. 1992 Jan;2(3):411–30.
- 128. Varga Z, Berényi S, Szokol B, Őrfi L, Kéri G, Peták I, et al. A closer look at the structure of sterically stabilized liposomes: A small-angle X-ray scattering study. Journal of Physical Chemistry B - Condensed Matter Materials Surfaces Interfaces and Biophysical. 2010 May 27;114(20):6850–4.
- 129. Varga Z, Wacha A, Vainio U, Gummel J, Bóta A. Characterization of the PEG layer of sterically stabilized liposomes: a SAXS study. Chemistry and Physics of Lipids. 2012;165(4):387–92.
- 130. Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: A new class of drug-induced acute immune toxicity. Toxicology. 2005 Dec;216(2-3):106–21.
- 131. Segal E, Satchi-Fainaro R. Design and development of polymer conjugates as anti-angiogenic agents. Advanced drug delivery reviews. 2009;61(13):1159–76.
- 132. Segal E, Pan H, Benayoun L, Kope\vcková P, Shaked Y, Kope\vcek J, et al. Enhanced antitumor activity and safety profile of targeted nano-scaled HPMA copolymer-alendronate-TNP-470 conjugate in the treatment of bone malignances. Biomaterials. 2011;32(19):4450–63.
- 133. Wang T, Upponi JR, Torchilin VP. Design of multifunctional non-viral gene vectors to overcome physiological barriers: Dilemmas and strategies. International journal of pharmaceutics. 2012;427(1):3–20.
- 134. Pileni MP, Motte L, Petit C. Synthesis of cadmium sulfide in situ in reverse micelles: influence of the preparation modes on size, polydispersity, and photochemical reactions. Chemistry of materials. 1992;4(2):338–45.
- 135. Zhu R, Min G, Wei Y, Schmitt HJ. Scanning tunneling microscopy and UV-visible spectroscopy studies of lead sulfide ultrafine particles synthesized in Langmuir-Blodgett films. The Journal of Physical Chemistry. 1992;96(21):8210–1.
- 136. Dekany I, Turi L, Tombacz E, Fendler JH. Preparation of size-quantized CdS and ZnS particles in nanophase reactors provided by binary liquids adsorbed at layered silicates. Langmuir. 1995;11(6):2285–92.
- 137. Caponetti E, Pedone L, Chillura Martino D, Pantò V, Turco Liveri V. Synthesis, size control, and passivation of CdS nanoparticles in water/AOT/n-heptane microemulsions. Materials Science and Engineering: C. 2003 Jun;23(4):531–9.
- 138. Li Z, Du Y. Biomimic synthesis of CdS nanoparticles with enhanced luminescence. Materials Letters. 2003 May;57(16-17):2480–4.
- 139. Nelson EJ, Samulski ET. Preparation of CdS nanoparticles within an ordered polypeptide matrix. Materials Science and Engineering: C. 1995;2(3):133–40.
- 140. Shi J, Qin Y, Wu W, Li X, Guo Z-X, Zhu D. In situ synthesis of CdS nanoparticles on multiwalled carbon nanotubes. Carbon. 2004 Jan;42(2):455–8.

- 141. Mann S, Hannington JP, Williams RJP. Phospholipid vesicles as a model system for biomineralization. 1986 [cited 2012 Oct 14]; Available from: http://www.nature.com/nature/journal/v324/n6097/abs/324565a0.html
- 142. Korgel BA, Monbouquette HG. Controlled synthesis of mixed core and layered (Zn, Cd) S and (Hg, Cd) S nanocrystals within phosphatidylcholine vesicles. Langmuir. 2000;16(8):3588–94.
- 143. Korgel BA, Monbouquette HG. Synthesis of size-monodisperse CdS nanocrystals using phosphatidylcholine vesicles as true reaction compartments. The Journal of Physical Chemistry. 1996;100(1):346–51.
- 144. Fendler JH. Microemulsions, micelles, and vesicles as media for membrane mimetic photochemistry. The Journal of Physical Chemistry. 1980;84(12):1485–91.
- 145. Fendler JH, others. Polymerized surfactant vesicles: novel membrane mimetic systems. Science (New York, NY). 1984;223(4639):888.
- 146. Tricot YM, Fendler JH. In situ generated colloidal semiconductor cadmium sulfide particles in dihexadecyl phosphate vesicles: quantum size and symmetry effects. The Journal of Physical Chemistry. 1986;90(15):3369–74.
- 147. Fendler JH. Atomic and molecular clusters in membrane mimetic chemistry. Chem. Rev. 1987;87(5):877–99.
- Binder H, Zschörnig O. The effect of metal cations on the phase behavior and hydration characteristics of phospholipid membranes. Chemistry and physics of lipids. 2002;115(1):39– 61.
- 149. Singh M, Ghosh S, Shannon R. A direct method of beam-height correction in small-angle X-ray scattering. Journal of applied crystallography. 1993;26(6):787–94.
- 150. Glatter O. A new method for the evaluation of small-angle scattering data. Journal of Applied Crystallography. 1977;10(5):415–21.
- 151. Kratky O, Stabinger H. X-ray small angle camera with block-collimation system an instrument of colloid research. Colloid & Polymer Science. 1984;262(5):345–60.
- 152. Glatter O, Kratky O. Small angle x-ray scattering. Academic Press; 1982.
- 153. Bóta A, Kriechbaum M, Laggner P. Traditional states in the pretransition range (L-beta'-Pbeta') of fully hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine systems. Ach-Models in Chemistry. 1997;134(2-3):299–315.
- 154. Laggner P, Mio H. SWAX a dual-detector camera for simultaneous small- and wide-angle X-ray diffraction in polymer and liquid crystal research. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 1992 Dec;323(1-2):86–90.
- 155. Berényi S, Mihály J, Kristyán S, Nagy LN, Telegdi J, Bóta A. Thermotropic and structural effects of poly(malic acid) on fully hydrated multilamellar DPPC-water systems. Biochim. Biophys. Acta. 2012 Sep 29;
- 156. Bóta A, Stirnal P, Haase A. A small and wide angle X-ray scattering (SWAXS) equipment, Poszter. Geilo, Norway; 2005.
- 157. Bóta A. Developoment of the powder diffraction apparatus for small angle X-ray scattering measurements [Internet]. Journal of Applied Crystallography; 2012 [cited 2012 Oct 12]. Available from: http://scholar.google.hu/scholar?q=szerz%C5%91%3Amio+laggner+SWAXS&btnG=&hl=hu &as sdt=0
- 158. Huang T, Toraya H, Blanton T, Wu Y. X-ray powder diffraction analysis of silver behenate, a possible low-angle diffraction standard. Journal of applied crystallography. 1993;26(2):180–4.
- 159. Binnemans K, Van Deun R, Thijs B, Vanwelkenhuysen I, Geuens I. Structure and Mesomorphism of Silver Alkanoates. Chemistry of Materials. 2004 May;16:2021–7.
- 160. Vainio U, Schubert T, Botta S, Blume J, Wacha A, Lohmann M, et al. New in situ SAXS/WAXS setup and other refurbishments at the ASAXS beamline B1 [Internet]. HASYLAB; 2009. Available from: http://hasylab.desy.de/annual\_report/files/2009/2009414.pdf
- 161. Goerigk G. Electronics and Computer Upgrades at ASAXS Beamline JUSIFA [Internet]. Hamburg, Germany: HASYLAB; 2006 page 77–8. Available from: http://hasyweb.desy.de/science/annual\_reports/2006\_report/part1/contrib/25/18892.pdf

- 162. Müller-Buschbaum P. A basic introduction to grazing incidence small-angle x-ray scattering. Applications of Synchrotron Light to Scattering and Diffraction in Materials and Life Sciences. 2009;61–89.
- 163. Eikenberry E, Brönnimann C, Hülsen G, Toyokawa H, Horisberger R, Schmitt B, et al. PILATUS: a two-dimensional X-ray detector for macromolecular crystallography. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 2003;501(1):260–6.
- 164. Henrich B, Bergamaschi A, Broennimann C, Dinapoli R, Eikenberry EF, Johnson I, et al. PILATUS: A single photon counting pixel detector for X-ray applications. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 2009 Aug 1;607:247–9.
- 165. Kraft P, Bergamaschi A, Broennimann C, Dinapoli R, Eikenberry EF, Henrich B, et al. Performance of single-photon-counting PILATUS detector modules. Journal of synchrotron radiation. 2009;16(3):368–75.
- 166. Hoell A, Zizak I, Bieder H, Mokrani L. Einrichtung zur Kleinwinkelstreumessung zur Analyse der Nanostruktur an Proben mittels Röntgenstrahlung [Internet]. 2007 [cited 2012 Jul 9]. Available from: http://www.patent-de.com/20070906/DE102006029449B3.html
- 167. Narayanan T, Diat O, Boesecke P. SAXS and USAXS on the high brilliance beamline at the ESRF. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 2001;467:1005–9.
- 168. Urban V, Panine P, Ponchut C, Boesecke P, Narayanan T. Two-dimensional camera for millisecond range time-resolved small-and wide-angle X-ray scattering. Journal of applied crystallography. 2003;36(3):809–11.
- 169. Meyer HW, Richter W. Freeze-fracture studies on lipids and membranes. Micron. 2001;32(6):615–44.
- 170. Chiu MH, Prenner EJ. Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions. J Pharm Bioallied Sci. 2011;3(1):39–59.
- 171. Csiszár Á, Bóta A, Novák C, Klumpp E, Subklew G. Changes in the thermotropic and the structural behaviour of 1,2-dipalmitoil-sn-glycero-3-phosphatidylcholine/water liposomes effected by 2,4-dichlorophenol. Progress in Colloid and Polymer Science. 2001;117:145–52.
- 172. Noszkó L, Bóta A, Simay Á, Nagy LG. Preparation of activated carbon from the by-products of agricultural industry. Periodica Polytechnica-Chemical Engineering. 1984;28(3-4):293–4.
- 173. Fetter G, Bóta A. Construction of a shear cell for SAXS and freeze fracture studies. Per. Pol. Chem. Eng. 2004;48(1):3–12.
- 174. Bóta A, Valyon J, Pálinkás G, Nagy LG. A hőkezelés szerepe az aktivszén szerkezetének kialakulásában. Kémiai Közlemények. 1996;83:213–38.
- 175. László K, Bóta A, Dékány I. Effect of heat treatment on synthetic carbon precursors. Carbon. 2003;41(6):1205–14.
- 176. Bóta A, Heringer D, Mihálffy T. SAXS study on activated carbons. KFKI; 1998. page 48–51.
- 177. Bóta A, Szegedi K, Goerigk G, Haubold H-G. Fine Structure of Pyrolised and Activated Carbons Prepared from Different Woods. Hamburg: HASYLAB; 2002 page 41. Report No.: 7896.pdf.
- 178. Wacha A, Varga Z, Vainio U, Hoell A, Bóta A. Small-angle X-ray scattering experiments and computer simulations to characterise anisotropy of activated carbons prepared from wood. Carbon. 2011;49(12):3958–71.
- 179. Wacha A, Onyestyák G, Bóta A. Structure and Sorption Dynamics of Activated Carbons from Wooden Precursors: Further Possibilities to Reveal Anisotropic Behaviors in the Carbon Skeleton. In: Pesci C, Ciricillo A, editors. New Research on Carbon Materials. Hauppage: Nova Publishers Inc.; 2013.
- Onyestyák G, Bóta A. Sorption dynamics of N2 and O2 in carbon monoliths from spruce, beech and oak affected by activation. Microporous and Mesoporous Materials. 2009;120(1-2):84–90.

- Onyestyák G, Ötvös Z, Papp K. Mass transport dynamics of N2 and O2 in wood-based carbon molecular sieves affected by pre-treatments and comminution. Microporous and Mesoporous Materials. 2008 Apr;110(1):86–91.
- 182. Onyestyák G, Rees LVC, László K. Molecular-Sieve Honeycomb for Air Separation fromPicea abies. Helvetica Chimica Acta. 2004 Jul;87(7):1888–93.
- 183. Wacha A. Nanorendszerek kisszögű röntgenszórásának kísérlete és elmélete [Ph.D. dolgozat és tézis]. [Budapest]: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem; Előkészületben.
- 184. Cromer DT, Liberman DA. Anomalous dispersion calculations near to and on the longwavelength side of an absorption edge. Acta Crystallographica Section A: Crystal Physics, Diffraction, Theoretical and General Crystallography. 1981;37(2):267–8.
- 185. Reichl LE. A modern course in statistical physics. New York: Wiley; 1997.
- 186. Bóta A, Goerigk G, Drucker T, Haubold H-G, Petró J. Anomalous small-angle X-ray scattering on a new, nonpyrophoric Raney-type Ni catalyst. Journal of Catalysis. 2002;205(2):354–7.
- 187. Dobrynin AV, Rubinstein M, Obukhov SP. Cascade of transitions of polyelectrolytes in poor solvents. Macromolecules. 1996;29(8):2974–9.
- 188. Tóth G, Körmendi K, Vrabecz A, Bóta A. Evaluation of small-angle x-ray scattering data of a Raney-type Ni catalyst with computer simulation. The Journal of chemical physics. 2004;121(21):10634–40.
- 189. Halász L, Németh Z, Horányi T, Bóta A. Structural and viscoelastic properties of lamellar systems formed from concentrated nonionic surfactant solutions. In: Dékány I, editor. Adsorption and Nanostructure. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 12:16:47. page 159–66.
- 190. Fetter G, Horányi T, Bóta A. In situ structural investigations of the Synperonic(A7)-water system under shear. Progress in Colloid and Polymer Science. 2002;117:217–22.
- 191. Fetter G, Bóta A, Kövi M. In situ structural investigations during shearing stress. Magyar Kémiai Folyóirat. 1999;105(7):270–5.
- 192. Bóta, Fetter G. In situ shear investigation of the synperonic A7-water system by small-angle X-ray scattering and freeze fracture. Langmuir. 2004;20(10):3901–5.
- 193. Fetter G, Szilágy A, Zrínyi M, Bóta A. Shear effect on the thermotropic behaviour of the Synperonic A7-water system. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2005;82(2):513–7.
- 194. Fetter G, Bóta A. SAXS and Freeze-fracture Studies of a lamellar tenside-water system in a Shear Cell during Thermal Treatment. Journal of Biological Physics and Chemistry. 2004;4(3):174–98.
- 195. Sun WJ, Suter RM, Knewtson MA, Worthington CR, Tristram-Nagle S, Zhang R, et al. Order and disorder in fully hydrated unoriented bilayers of gel-phase dipalmitoylphosphatidylcholine. Physical Review E. 1994;49(5):4665.
- 196. Drucker T, Bóta A. Liposzómák kisszögű röntgenszórásának szimulációja gömbszimmetrikus modellel. Magyar Kémiai Folyóírat. 2001;(107):234–43.
- 197. Drucker T, Bóta A. Description of the layer structure in centrosymmetric liposomes. KFKI; 1998. page 66–8.
- 198. Drucker T. Modellmembránok szerkezetvizsgálata kisszögű röntgenszórással. [Budapest]: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem; 2004.
- Laggner P. X-ray studies on biological membranes using synchrotron radiation. Synchrotron Radiation in Chemistry and Biology I. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1988. page 173–202.
- 200. Bóta A, Drucker T, Kriechbaum M. Liposomes as Model Membran Systems. Olaj Szappan Kozmetika. 1998;47(5):244–50.
- 201. Bóta A, Drucker T, Kriechbaum M, Pálfia Z, Réz G. Layer formations of dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes in the pretransition range. Langmuir. 1999;15(9):3101–8.
- 202. Bóta A, Kriechbaum M. Prehistory in the pretransition range of dipalmitoylphosphatidylcholine/water system. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects. 1998;141(3):441–8.

- 203. Chiu MH, Prenner EJ. Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions. J Pharm Bioallied Sci. 2011;3(1):39–59.
- 204. Gebhardt C, Gruler H, Sackmann E, others. On domain structure and local curvature in lipid bilayers and biological membranes. Zeitschrift fur Naturforschung. Section C: Biosciences. 1977;32(7-8):581.
- 205. Jørgensen K, Ipsen JH, Mouritsen OG, Bennett D, Zuckermann MJ. A general model for the interaction of foreign molecules with lipid membranes: drugs and anaesthetics. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 1991;1062(2):227–38.
- 206. Jørgensen K, Ipsen JH, Mouritsen OG, Bennett D, Zuckermann MJ. The effects of density fluctuations on the partitioning of foreign molecules into lipid bilayers: application to anaesthetics and insecticides. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 1991;1067(2):241–53.
- 207. Csiszár Á, Bóta A, Novák C, Klumpp E, Subklew G. Calorimetric study of the effects of 2,4dichlorophenol on the thermotropic phase behavior of DPPC liposomes. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2002;69(1):53–63.
- 208. Csiszár Á, Klumpp E, Bóta A, Szegedi K. Effect of 2,4-dichlorophenol on DPPC/water liposomes studied by X-ray and freeze-fracture electron microscopy. Chemistry and Physics of Lipids. 2003;126(2):155–66.
- 209. Chiruvolu S, Warriner H, Naranjo E, Idziak S, Radler J, Plano R, et al. A phase of liposomes with entangled tubular vesicles. Science. 1994 Nov 18;266(5188):1222–5.
- 210. Csiszár A, Koglin E, Meier RJ, Klumpp E. The phase transition behavior of 1, 2-dipalmitoylsn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) model membrane influenced by 2, 4-dichlorophenol—an FT-Raman Spectroscopy Study. Chemistry and physics of lipids. 2006;139(2):115–24.
- 211. Meier RJ, Csiszár A, Klumpp E. On the Interpretation of the 1100 cm-1 Raman Band in Phospholipids and Other Alkyl-Containing Molecular Entities. The Journal of Physical Chemistry B. 2006;110(12):5842–4.
- 212. Meier RJ. Vibrational spectroscopy: a "vanishing"discipline? Chem. Soc. Rev. 2005;34(9):743–52.
- 213. Bóta A, Szegedi K, Goerigk G, Csiszár Á, Klumpp E, Haubold H-G, et al. Effect of 2,4dichlorophenol and 2,4-dibromophenol on DPPC/water liposomes [Internet]. Hamburg, Germany: DESY-HASYLAB; 2002 page 46. Report No.: 7892. Available from: http://hasyweb.desy.de/science/annual\_reports/2002\_report/part1/contrib/46/
- 214. Varga Z, Bóta A, Goerigk G. Localization of dihalogenated phenols in vesicle systems determined by contrast variation X-ray scattering. Journal of Applied Crystallography. 2007;40(Supplement 1):S205–S208.
- 215. Varga Z. Structural perturbations in phospholipid model membrane systems: The effects of dihalogenated phenol compounds and metal ions [Ph.D. dolgozat és tézis]. [Budapest]: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem; 2009.
- 216. Varga Z, Bóta A, Goerigk G. Localization of dibromophenol in DPPC/water liposomes studied by anomalous small-angle X-ray scattering. Journal of Physical Chemistry B Condensed Matter Materials Surfaces Interfaces and Biophysical. 2006;110(23):11029–32.
- 217. Bóta A, Klumpp E. Effects of contaminants on biological model membranes: The advantage of the ASAXS method for the study of the location of copper ions and dihalogenated phenol molecules. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects. 2005;265(1-3):124–30.
- 218. Urbán E, Bóta A, Klumpp E, Csiszár Á. Vesicle systems for mimicking the effects of 2,4dichlorophenol on cell membranes. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects. 2003;230(1-3):201–6.
- 219. Oszlánczi Á, Bóta A, Berényi S, Klumpp E. Structural and morphological changes in bacteriamembrane mimetic DPPE/DPPG/water systems induced by sulfadiazine. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces. 2010;76(2):519–28.
- 220. Wehrhan A. Fate of veterinary pharmaceuticals in soil: An experimental and numerical study on the mobility, sorption and transformation of sulfadiazine [Internet]. Forschungszentrum,

Zentralbibliothek; 2006 [cited 2012 Oct 15]. Available from: http://hss.ulb.uni-bonn.de/2006/0895/0895-engl.htm

- 221. Oszlánczi Á, Bóta A, Klumpp E. Layer formations in the bacteria membrane mimetic DPPE-DPPG/water system induced by sulfadiazine. Biophysical Chemistry. 2007;125(2-3):334–40.
- 222. Oszlánczi Á, Bóta A, Czabai G, Klumpp E. Structural and calorimetrical studies of the effect of different aminoglycosides on DPPC liposomes. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces. 2009;69(1):116–21.
- 223. Oszlánczi Á. Effects of antibiotics on bio-mimetic model membranes [Internet]. BUTE, Budapest; 2009 [cited 2012 Oct 15]. Available from: http://dokutar.omikk.bme.hu/collections/phd/Vegyeszmernoki\_es\_Biomernoki\_Kar/2010/Oszla nczi\_Agnes/ertekezes.pdf
- 224. Oszlánczi Á, Bóta A, Klumpp E. Influence of aminoglycoside antibiotics on the thermal behaviour and structural features of DPPE-DPPG model membranes. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces. 2010;75(1):141–8.
- 225. Urbán. Salmonella minnesota R 595 lipopoliszacharid hatása modellmembrán rendszerekre [Ph.D. dolgozat és tézis]. [Budapest]: BME VEK; 2006.
- 226. Brandenburg K, Koch MHJ, Seydel U. Phase diagram of deep rough mutant lipopolysaccharide from Salmonella minnesota R595. Journal of structural biology. 1992;108(2):93–106.
- 227. Brandenburg K, Richter W, Koch MHJ, Meyer HW, Seydel U. Characterization of the nonlamellar cubic and H II structures of lipid A from Salmonella enterica serovar Minnesota by X-ray diffraction and freeze-fracture electron microscopy. Chemistry and physics of lipids. 1998;91(1):53–69.
- 228. Brandenburg K, Seydel U. A comment on the preparation of liposomes from and on the  $\beta \leftrightarrow \alpha$  acyl chain melting behaviour of rough mutant lipopolysaccharide. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes. 1991 Oct 14;1069(1):1–4.
- 229. Koch PJ, Kastowsky M, Bradaczek H, Brandenburg K. Improvement of X-ray powderdiffraction patterns of Salmonella minnesota deep rough mutant bacterial lipopolysaccharide induced by heating plus hydration. Thin solid films. 1998;312(1):313–9.
- 230. Urbán E, Bóta A, Kocsis B, Lohner K. Distortion of the lamellar arrangement of phospholipids by deep rough mutant lipopolysaccharide from Salmonella minnesota. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2005;82(2):463–9.
- 231. Urbán E, Bóta A, Kocsis B. Non-bilayer formation in the DPPE-DPPG vesicle system induced by deep rough mutant of Salmonella minnesota R595 lipopolysaccharide. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces. 2006;48(2):106–11.
- 232. Mariani P, Luzzati V, Delacroix H. Cubic phases of lipid-containing systems: Structure analysis and biological implications. Journal of molecular biology. 1988;204(1):165–89.
- 233. Urbán E, Bóta A, Kocsis B. Effect of Salmonella minnesota R595 LPS on the dipalmitoylphosphatidyl-ethanolamine (DPPE)-dipalmitoylglycerol (DPG)-water model membrane system. Chemistry and Physics of Lipids. 2006;140(1-2):28–35.
- 234. Bóta A, Goerigk G, Haubold H-G, Vad T, Subklew G. Location of Copper Ions in DPPC/Water Liposomes as Investigated by Anomalous Small Angle X-ray Scattering [Internet]. Hamburg, Germany: DESY-HASYLAB; 1999 page 45. Report No.: 957. Available from: hasyweb.desy.de/science/annual\_reports/1999\_report/part1/contrib
- 235. Karácsony Z, Mihály J, Bóta A. A Tris pufferendszer hatása. Kémiai Panoráma. 2012;8(4):34–9.
- 236. Varga Z, Bóta A, Goerigk G. Unbinding Transition in Lipid Multibilayers Induced by Copper(II) Ions. The Journal of Physical Chemistry B. 2008 Jul;112:8430–3.
- Bóta A, Varga Z. Localization of divalent metal ions in model membranes: Its consequences in biomembrane science and application for nanoparticle synthesis. Berlin, Germany: BESSY; 2009 Aug. Report No.: 2009\_2\_90570.
- 238. Bóta A, Varga Z, Goerigk G. Vesicles as reactors of nanoparticles: an anomalous small-angle X-ray scattering study of the domains rich in copper ions. Journal of Applied Crystallography. 2007;40(Supplement: 1):S259–S263.
- 239. Wang W, Zhan Y, Wang G. One-step, solid-state reaction to the synthesis of copper oxide nanorods in the presence of a suitable surfactant. Chem. Commun. 2001 Jan 1;(8):727–8.

- Bóta A, Varga Z, Goerigk G. Biological systems as nanoreactors: Anomalous small-angle scattering study of the CdS nanoparticle formation in multilamellar vesicles. Journal of Physical Chemistry B Condensed Matter Materials Surfaces Interfaces and Biophysical. 2007;111(8):1911–5.
- 241. Bóta A. Eljárás szűk mérettartományú, aggregációmentes fémtartalmú nanorészecskék előállítására. Budapest; 2008.
- 242. Tao C, Zheng S, Möhwald H, Li J. CdS crystal growth of lamellar morphology within templates of polyelectrolyte/surfactant complex. Langmuir. 2003;19(21):9039–42.
- 243. Bóta A, Wacha A, Varga Z, Vainio U, Goerigk G. ASAXS study of CdS nanoparticles synthesized in surfactant-water system. DESY-HASYLAB; 2009.
- 244. Bóta A, Wacha A, Varga Z, Vainio U. ASAXS study of CdS nanoparticles prepared in surfactant/water system. DESY-HASYLAB; 2012.
- 245. Jákli A, Taushanoff S, Bóta A, Molnár M, Pálinkás A, Pálinkás P, et al. Method for Preparing Anisotropic Particles and Devices Thereof [Internet]. Kent(OH), Budapest; [cited 2012 Oct 16]. Available from: http://www.google.com/patents/US20100158790

## 8 Felhasznált rövidítések jegyzéke

AG:	aminoglikozid
ASAXS:	anomális kisszögű szórás
DBrP:	dibrómfenol
DCP:	diklórfenol
DPPA:	dipalmitoil-foszfatidsav
DPPC:	dipalmitoil-foszfatidilkolin
DPPE:	dipalmitoil-foszfatidiletanolamin
DPPG:	dipalmitoil-foszfatidilglicerol
DPG:	dipalmitoil-glicerol
DSPE-PEG:	polietilén-glikol disztearil-foszfoetanolaminnal kapcsolva
HSPC:	hidrogénezett szója lecitin
LPS:	lipopoliszacharid
PEG:	polietilén-glikol
PMA:	polialmasav
SAXD:	kisszögű röntgendiffrakció
SAXS:	kisszögű röntgenszórás
SD:	szulfadiazin
SPE:	spectinomycin
STR:	streptomycin
SWAXD:	kis- és nagyszögű röntgendiffrakció
SWAXS:	kis- és nagyszögű röntgenszórás
TOB:	tobramycin
SynA7:	Synperonic A7, tenzid
USAXS:	ultra kisszögű röntgenszórás
WAXD:	nagyszögű röntgendiffrakció
WAXS:	nagyszögű röntgenszórás
$\Delta$ (ASAXS):	szeparált anomális kisszögű szórás (ASAXS görbék különbsége)
$\Delta(\Delta ASAXS)$ :	szeparált anomális kisszögű görbék különbsége (a "tiszta" rezonáns görbék
	konstans-szorosa)

### 9 Köszönetnyilvánítás

Köszönöm a Műegyetem Fizikai Kémia Tanszék és a MTA Természettudományi Központ munkatársainak és dolgozóinak segítségét, név szerint Zrínyi Miklós és Pálinkás Gábor professzoroknak, hogy támogatták munkámat.

Közvetlen munkatársként Kiss Teréz és Kövi Miklós voltak segítségemre.

Hajdú Ferenc, Pálinkás Gábor, Peter Laggner professzor (Graz), Dr. Gábor Degovics (Graz), néhai Dr. Jánosi András (Graz), Dr. Heinz-Günter Haubold (Jülich) és Dr. Günter Goerigk (Hamburg) segítették szakmai ismereteim gyarapodását.

Köszönöm az eredményes munkát, és egyben a lelkes, baráti munkahelyi légkör kialakítását a velem együtt dolgozó Ph. D. hallgatóknak, név szerint Csiszár Ágnesnek, Fetter Györgynek, Oszlánczi Ágnesnek, Urbán Editnek, Drucker Tamásnak, Berényi Szilviának, és különösen Varga Zoltának, Wacha Andrásnak, akiknek számítógépes ismereteik és a szinkrotronnál végzett munkájuk nélkülözhetetlen volt.

Köszönöm családomnak, feleségemnek türelmét, segítségét.

### 10 Függelék

#### 10.1 A kisszögű röntgenszórás elméleti alapja

A röntgensugárzás szóródásának Laue-féle leírása a Huygens-Fresnel elvre épül. Eszerint a hullámtér minden pontja elemi gömbhullám-forrásként viselkedik, s a tér egy adott pontjában a pillanatnyi kitérést ezen elemi gömbhullámok szuperpozíciója adja. Röntgensugárzás esetén a szóróközeget (melyet az elektronok darabszám-sűrűségével jellemzünk, ugyanis az atommagok röntgenszórás hatáskeresztmetszete elhanyagolható) a beeső, síkhullámnak tekinthető röntgensugárzás gerjeszti. Egyetlen, pontszerű szórócentrum esetén a teljes hullámtér amplitúdóját (elektromágneses sugárzás esetében az elektromos tér térerősségének amplitúdóját) a következő egyenlet írja le a szórócentrumtól *r* távolságra, a **k** hullámszámvektor (a bevezetőben használt, a hullám terjedési irányába mutató,  $1/\lambda$  nagyságú **S** vektor  $2\pi$ -szerese) által jellemzett irányban:

$$A(\vec{r}) = A_0 \cdot e^{i\vec{k}_0\vec{r}} + \frac{A_0b}{r} \cdot e^{i\vec{k}\vec{r}}$$
(I)

ahol b egy - a képletből is láthatóan – hosszúság dimenziójú mennyiség, melyet szórási hossznak is neveznek, és az adott szórócentrum szórási képességét jellemzi. Ez egy nagyon egyszerű eset, ugyanis a szórócentrumot csak a beeső síkhullám gerjeszti.

Több (vagy nem pontszerű) szórócentrum esetében a helyzet jóval bonyolultabb. Ekkor ugyanis nem csak a beeső síkhullám által okozott gerjesztéseket, hanem a szórt hullámok okozta másodlagos, harmadlagos stb. gerjesztéseket is figyelembe kell venni. A  $\rho(\mathbf{r})$  elektronsűrűségre és a szórt amplitúdóra vonatkozó hullámegyenletet így általában csak egy v csatolási állandó szerint sorba fejtve, perturbatív megközelítéssel lehet megoldani. Első rendben (elsőrendű Born közelítés, egyszeres szórás közelítés) a megoldás a hullámfüggvény amplitúdójára a

$$A(\vec{r}) \approx A_0 \cdot e^{i\vec{k}_0\vec{r}} + \frac{A_0 V}{4\pi} \int \frac{e^{i\vec{k}_0(\vec{r}-\vec{r}')}}{r-r'} \rho(\vec{r}') \cdot e^{i\vec{k}_0\vec{r}'} d^3\vec{r}'$$
(II)

alak adódik, mely a Fraunhofer-féle közelítéssel (az **r** vektor által meghatározott észlelési pont a mintától annak tipikus kiterjedéséhez képest "nagyon távol van") egyszerűbb alakot vesz fel:

$$A(\vec{r}) \approx A_0 \cdot e^{-i\vec{k}_0\vec{r}} + \frac{A_0 \nu}{4\pi} \cdot \frac{e^{i\vec{k}_0\vec{r}}}{r} \int \rho(\vec{r}') \cdot e^{i\vec{q}\vec{r}'} d^3\vec{r}'$$
(III)

ahol a  $\vec{q} = \vec{k} - \vec{k_0}$  mennyiség szórási vektor (vagy impulzus-átadás, momentum transfer) néven ismert. Az (I) és (II) összevetésével, a *b* szórási hossznak megfelelő kifejezés:

$$f(\vec{q}) = \frac{v}{4\pi} \int \rho(\vec{r}) \cdot e^{i\vec{q}\vec{r}} d^3\vec{r} , \qquad (IV)$$

ami alakilag az elektronsűrűség Fourier-transzformáltja, a szórási tényező (scattering factor). Mivel a szórócentrum-sűrűség dimenziója inverz térfogat (darab per térfogat), ennek Fouriertranszformáltjáé egység (darab), azaz a *v* csatolási állandónak hosszúság dimenziójúnak kell lennie. Az origóba helyezett egyetlen szabad elektron speciális esetében  $\rho(\mathbf{r})=\delta(\mathbf{r})$ , így  $f_{elektron}(\mathbf{q})=v/4\pi$ .

Mérésekben az amplitúdót nem lehetséges észlelni, helyette az adott irányban, egységnyi térszög alatti energiaáram mérhető, melyet a Poynting-vektor nagysága ad meg:

$$\frac{dW}{d\Omega} = \frac{A_0^2}{r^2} \left| f(\vec{q}) \right|^2 \equiv \frac{A_0^2}{r^2} I(\vec{q}),$$
(V)

ahol az így definiált  $I(\bar{q}) = I(q)$  mennyiséget szórt intenzitásnak, valamint egységnyi térszögre vett szórási hatáskeresztmetszetnek is szokás nevezni, ugyanis dimenziója szerint keresztmetszet. A tér minden irányában szórt sugárzás energiaárama a fenti kifejezés teljes térszögre való integrálásával nyerhető. Az ennek megfelelő teljes szórási hatáskeresztmetszet:

$$\sigma_{tot} = \int I(\vec{q}) d\Omega \tag{VI}$$

Az elektromos dipólussugárzás Thomson-féle szóráselméletből következően egy szabad elektron egységnyi térszögre vett szórási hatáskeresztmetszete (felhasználva a (3) összefüggést):

$$\frac{d\sigma_{T \text{ hom son}}}{d\Omega} = r^2_{elektron} \frac{1 + \cos^2(2\Theta)}{2}$$
(VII)

ahol  $r_{elektron}$  a szabad elektron klasszikus sugara. A teljes szórási hatáskeresztmetszet integrálással:

$$\sigma_{tot} = \frac{8\pi}{3} \cdot r^2_{elektron}$$
(VIII)

Kis szórási szögek esetén 20 $\approx$ 0, így a polarizációs faktor 1-nek vehető. Emiatt egyetlen szabad elektron egységnyi térszögre vett szórási hatáskeresztmetszete (azaz a szórt intenzitás) a kis szögek tartományában a klasszikus elektronsugár négyzetével egyezik meg, a szórási tényező értéke ennek következtében  $r_e$ . Ebből a v csatolási állandó értékére  $4\pi r_e$  adódik. Egy Z rendszámú semleges atomban Z elektron van. Az elektronfelhő szóráshossz-sűrűségének Fourier-transzformáltjaként számolható atomi szórási tényező (atomi eredő szóráshossz) a kisszögű szórásnál alkalmazott közelítésekkel

$$f_{atom}(\vec{q}) = 4\pi \cdot r_e \int \rho(\vec{r}) \frac{\sin(qr)}{qr} \cdot r^2 dr$$
(VIII)

melynek  $q \rightarrow 0$  határesete  $Zr_e$ , azaz az atomi elektronok összes hatáskeresztmetszete. Többatomos rendszer esetén az atomi szórási tényezőre korábban felírthoz hasonló képlet

érvényes. Ekkor a  $\rho(\mathbf{r})$  szórócentrum-sűrűség a teljes rendszerre van értelmezve. Az egész rendszer szórt intenzitását az

$$I(\vec{q}) = r_e^2 \left| \int \rho(\vec{r}) e^{i\vec{q}\vec{r}} d^3 r \right|^2$$
(IX)

összefüggés adja, melynek dimenziója keresztmetszet [14,59].

### 10.2 Gauss elektronsűrűségű héj formafaktora

Általános alak, a (8) összefüggésnek megfelelően:

$$F(q) = 4\pi \int_{0}^{\infty} \rho(r) \cdot \frac{\sin(qr)}{q} \cdot r dr = 4\pi \int_{0}^{\infty} e^{-\frac{(r-R)^2}{2\sigma^2}} \cdot r \cdot \frac{\sin(qr)}{q} dr.$$
 (I)

komplex szám formájában átírva és két tagra bontva:

$$F(q) = 4\pi \int_{0}^{\infty} e^{-\frac{(r-R)^{2}}{2\sigma^{2}}} \cdot r \cdot (e^{iqr} - e^{-iqr}) dr = \varphi_{1}(q) + \varphi_{2}(q)$$
(II)

$$\varphi_1(q) = 4\pi \int_0^\infty e^{-\frac{(r-R)^2 + iqr 2\sigma^2}{2\sigma^2}} \cdot r dr = 4\pi \int_0^\infty r \cdot e^{-\frac{r^2 + R^2 - 2rR + iqr 2\sigma^2}{2\sigma^2}} dr.$$
 (III)

A kitevő számlálójában teljes négyzetté történő átalakítás, bővítés:

 $(r-R+iq\sigma^2)^2 = r^2 - 2r(R+iq\sigma^2) + (R+iq\sigma^2)^2 = r^2 + 2r(R+iq\sigma^2) + R^2 + [2Riq\sigma^2 - q^2\sigma^4]$ . (IV) A szögletes zárójelben lévő két taggal tartalmaz többet a négyzetté alakítás, ami viszont nem tartalmazza *r*-t, tehát az integrálási operátor elé vihető:

$$\varphi_{1}(r) = \frac{2\pi}{iq} \cdot e^{iRq - q^{2}\sigma^{2}/2} \int_{0}^{\infty} r \cdot e^{-\frac{(r - (R + iq\sigma^{2}))^{2}}{2\sigma^{2}}} dr.$$
 (IV)

Az integrálási határ kiterjesztése és bővítés:

$$\varphi_{1}(r) = \frac{2\pi}{iq} \cdot \sqrt{2\pi\sigma^{2}} \cdot e^{iRq - \frac{q^{2}\sigma^{2}}{2}} \int_{-\infty}^{\infty} r \cdot \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^{2}}} e^{-\frac{(r - (R + iq\sigma^{2}))^{2}}{2\sigma^{2}}} dr$$
(V)

(V) kifejezéseben, az integrálban "*r*" várható értéke szerepel, ami:  $R+iq\sigma^2$  (ezt nem vettem észre magamtól, nincs szükség parciális integrálásra), így

$$\varphi_1 = \frac{2\pi}{iq} \cdot e^{\frac{i2Rq - q^2\sigma^2}{2}} (R + i\sigma^2 q)$$
(VI)

Ehhez, formailag hasonlóan adódik:

$$\varphi_2 = \frac{2\pi}{-iq} \cdot e^{\frac{-i2Rq-q^2\sigma^2}{2}} (R - i\sigma^2 q).$$
(VII)

Végül a formafaktor, (VI) és (VII) összege:

$$F(q) = \varphi_1 + \varphi_2 = 2\pi\sqrt{2\pi\sigma^2} \left( \frac{R}{q} \left( \frac{e^{iqR}}{iq} - \frac{e^{-iqR}}{iq} \right) + \left( \frac{e^{iqR} \cdot iq\sigma^2}{iq} \right) + \left( \frac{e^{-iqR} \cdot iq\sigma^2}{iq} \right) \right) = 4\pi\sqrt{2\pi\sigma^2} \cdot e^{\frac{-\sigma^2q^2}{2}} \left( \frac{R}{q} \cdot \sin(qR) + \sigma^2 \cdot \cos(qR) \right)$$
(VIII)

#### 10.3A lognormál eloszlás határa

A liposzómák lognormál eloszlásánál előforduló numerikus integrálás maximális  $R_0$  értékének meghatározása.

A számításnál felhasznált vezikulák minimális és maximális méretét, azaz  $R_0$  minimális és maximális értékét azok az értékek határozzák meg, ahol az eloszlásfüggvény maximumának  $\lambda$ -szorosára csökken:

 $P(R_{min}, R_{max}) = P_{max} \lambda$ 

Konkrétan a lognormál eloszlásra vonatkozóan :

$$P(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{x \cdot \sigma \cdot \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(\ln x - \mu)^2}{2\sigma^2}} \text{ paraméterek: } \sigma^2 > 0, \ x \in (0, \infty)$$

 $\mu$ , és  $\sigma$  az alapul vett Gauss eloszlás várható értéke és szórása.

A maximum helye,  $x_{\text{max}} = e^{\mu - \sigma^2}$ .

A  $P(R_{0,max},\mu,\sigma)\cdot\lambda = P(R_0,\mu,\sigma)$  -*ne*k megfelelően:

$$P(x,\mu,\sigma)_{\max imum} \cdot \lambda = \frac{1}{x \cdot \sigma \cdot \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(\ln x - \mu)^2}{2\sigma^2}} \Big|_{x = e^{\mu - \sigma^2}} \cdot \lambda = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\mu} \cdot e^{\frac{\sigma^2}{2}} \cdot \lambda = \frac{1}{x \cdot \sigma \cdot \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(\ln x - \mu)^2}{2\sigma^2}}$$

logaritmusát véve és rendezve:

$$\ln^{2}(x) + (2\sigma^{2} - 2\mu)\ln(x) + \mu^{2} + \sigma^{4} - 2\sigma^{2}\mu + 2\sigma^{2}\ln\lambda = 0$$

ln(x) –re a másodfokú egyenletet megoldva:  $R_{0,\min} = e^{\ln(x_1)}$ , és  $R_{0,\min} = e^{\ln(x_2)}$ 

A  $P(R_0)$  függvény meredeken csökken, ezért a gyakorlatban  $R_{min}=0$  –val számoltunk.