

Исследование моно- и полидисперсных наносистем методом малоуглового рентгеновского рассеяния

В.В. Волков

Институт кристаллографии имени
А.В. Шубникова
Российской академии наук

vvo@ns.crys.ras.ru

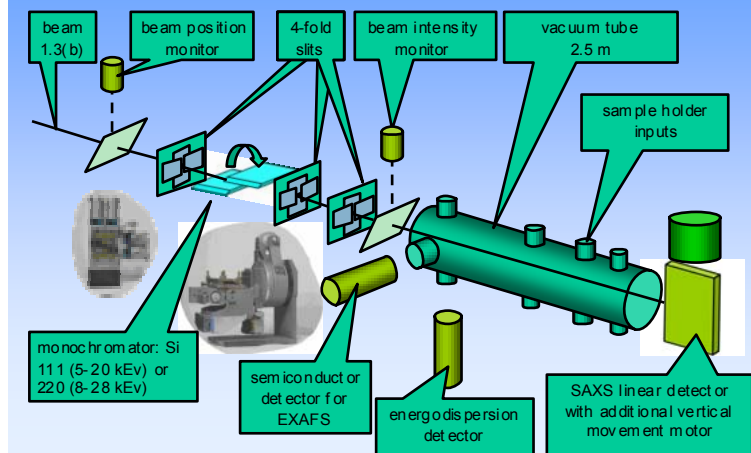
Основная литература:

1. Д. И. Свергун, Л. А. Фейгин. "Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние". Москва, "Наука", 1986, 279с.
3. Б. К. Вайнштейн. Дифракция рентгеновских лучей на цепных молекулах. Москва, Издательство АН СССР, 1963г., 372с.
4. А. Н. Бекренев, Л. И. Миркин. «Малоугловая рентгенография деформации и разрушения материалов». 247с.
5. O. Glatter, O. Kratky. "Small-Angle X-ray Scattering". Academic Press Inc. (London) Ltd, 1982, 515p.
6. A. Guinier and G. Fournet. "Small-Angle Scattering of X_Rays". John Wiley & Sons, Inc. (NewYork), 1955, 268p.

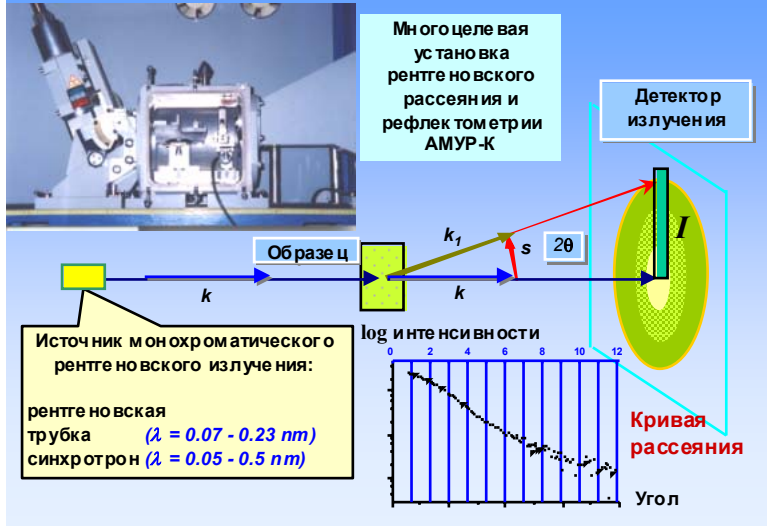
Схема малоуглового эксперимента по упругому рассеянию



Схема синхротронной станции



Малоугловое рентгеновское рассеяние (МУР)

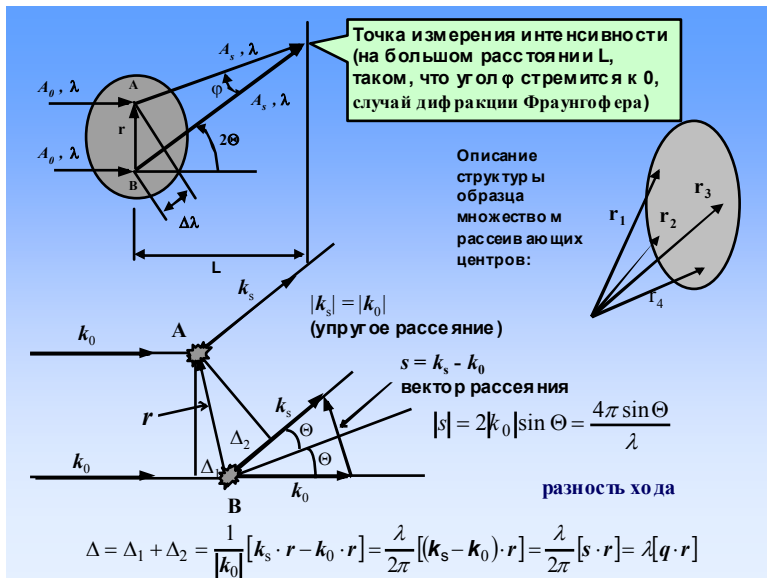


$$A = A_0 e^{-i\varphi} = A_0 e^{-i(\mathbf{k}_0 \mathbf{r} + \alpha_0)}$$

- A_0 - амплитуда источника;
- r - вектор текущей координаты;
- k_0 - волновой вектор, перпендикулярный плоскости фронта волны, задающий направление распространения и длину волны;
- φ - фаза, или фазовый сдвиг, равный в текущей точке $k_0 r + \alpha_0$;
- $e^{i\varphi}$ - осциллирующая функция (по формуле Эйлера: $e^{i\varphi} = \cos \varphi + i \sin \varphi$);
- α_0 - начальный фазовый сдвиг фронта, будем считать его равным 0.

В дальнейшем мы будем рассматривать кинематическое, или первое Борновское, приближение к рассеянию, т.е. не будем учитывать повторное рассеяние уже рассеянных волн.

Интерференционная картина формируется сложением множества вторичных рассеянных волн (принцип суперпозиции), которые имеют одинаковую амплитуду, длину волны и отличаются по фазе. Фазовые отличия зависят от пространственного распределения электронной плотности, т.е. от структуры объекта.



Иногда, для упрощения записи формул, вместо вектора s (который обычно используют в теории дифракции нейтронов) используют векторы q , h , S (или даже s но с другим значением) равные $s/2\pi$ (т.е. модуль волнового вектора полагают равным $1/\lambda$, а не $2\pi/\lambda$).

Фазовый сдвиг (разность фаз), измеряемый числом волновых периодов, укладывающихся в разность хода, равен

$$\varphi = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \Delta = 2\pi \cdot q \cdot r = s \cdot r$$

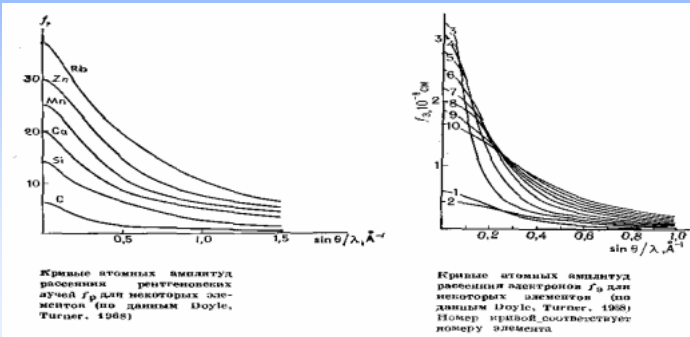
Согласно принципу суперпозиции, можно записать амплитуду рассеяния образцом как сумму всех вторичных волн, где $f_i(q)$ - рассеивающая способность i -го центра (атома):

$$A_s(s) = A_0 \sum_{i=1}^N f_i(q) \cdot e^{2\pi i q \cdot r_i}$$

Атомная амплитуда рассеяния выражается функцией (в силу близости симметрии электронной плотности атома к сферической, s и r здесь скалярные величины, как мы это увидим дальше):

$$f(s) = 4\pi \int_0^{\infty} r^2 \rho_a(r) \frac{\sin sr}{sr} dr$$

Здесь $\rho_a(r)$ – радиальная функция электронной плотности атома.



Так как число электронов (атомов) в образце велико, а расстояния между ними достаточно малы по сравнению с длиной волны, то обычно работают с непрерывной функцией рассеивающей электронной плотности, $\rho(r)$. Это распределение концентрации электронов в пространстве. $\rho(r)dV$, где dV - элемент объема, дает число электронов в этом элементе, расположенном в точке пространства, заданной координатами r . Такое описание соответствует и квантовомеханическому подходу – средняя по времени электронная плотность определяется квадратом волновой функции системы: $\rho(r) = |\Psi(r)|^2$. Для малых углов функцию рассеяния одним электроном $f(q)$ можно положить равной константе, и вынести за знак суммирования. Тогда суммирование заменяется интегрированием по всему облученному объему, с точностью до этой константы:

$$A(q) = \iiint_V dV_r \cdot \rho(r) \cdot e^{2\pi i q r} = \int \rho(r) \cdot e^{2\pi i q r} \cdot dr$$

Эта наиболее общая формула есть преобразование Фурье от функции плотности (структуры), т.е. разложение функции амплитуды $A(q)$ в непрерывный спектр гармонических составляющих, с коэффициентами $\rho(r)$:

$$\rho(r) = \int A(q) \cdot e^{-2\pi i q r} \cdot dq$$

На практике измеряют не амплитуду, а **интенсивность рассеяния**, которая пропорциональна потоку энергии, потоку квантов через единицу площади. Энергия пропорциональна квадрату скорости (поля). То есть, она пропорциональна квадрату амплитуды, которая есть комплексная величина:

$$I(q) = A(q) \cdot A^*(q) = \iint dr_1 \cdot dr_2 \cdot \rho(r_1) \cdot \rho(r_2) \cdot e^{2\pi i q(r_1 - r_2)}$$

Интеграл зависит от относительных расстояний между двумя центрами, $(r_1 - r_2)$. Двойное интегрирование принято выполнять в два этапа: сначала - суммировать все пары с одинаковыми относительными расстояниями, $|r_1 - r_2| = const$, а потом - суммировать по относительным расстояниям, включая и фазовый множитель.

Первый этап есть вычисление так называемой **автокорреляционной функции**:

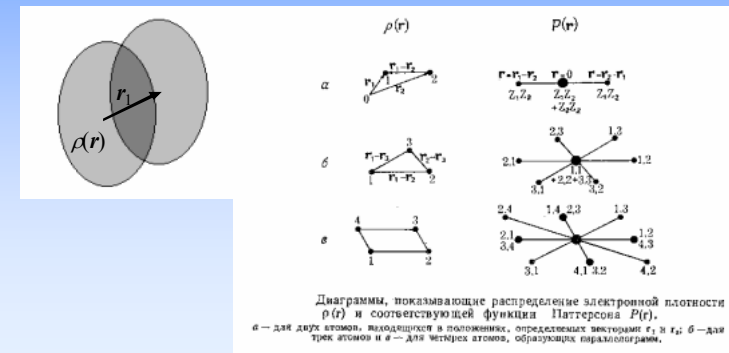
$$P(r) = \int dr_1 \cdot \rho(r_1) \cdot \rho(r_2) = \int dr_1 \cdot \rho(r_1) \cdot \rho(r_1 - r) \Big|_{|r_1 - r_2| = const}$$

Эта функция, известная как функция Паттерсона, центросимметрична, т.к. каждая пара точек учитывается дважды, для расстояний r и $-r$. $P(r)$ трактуется как функция распределения количества электронных пар в зависимости от расстояния внутри пары.

$$P(r) = \int dr_1 \cdot \rho(r_1) \cdot \rho(r_1 - r)$$

где $r = r_1 - r_2$, что есть запись самосвертки функции структуры с самой собой:

$$P(r) = \rho(r) \otimes \rho(-r)$$



Второй шаг интегрирования есть суммирование по пространству Паттерсона, т.е. по пространству электронных пар (по всем длинам и всем ориентациям пар источников вторичного, рассеянного излучения):

$$I(\mathbf{q}) = \int P(\mathbf{r}) \cdot e^{2\pi i \mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} \cdot d\mathbf{r}$$

что тоже есть Фурье-преобразование. Оно теперь связывает интенсивность рассеяния $I(\mathbf{q})$ (экспериментально измеряемую величину) и автокорреляционную функцию, которая, к сожалению, только косвенно связана со структурой объекта, но может быть непосредственно вычислена по экспериментальным данным с помощью обратного Фурье-преобразования:

$$P(\mathbf{r}) = \int I(\mathbf{q}) \cdot e^{-2\pi i \mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} \cdot d\mathbf{q}$$

По определению Порода (1948) и Вилсона (1949), $\gamma(r)$ - это функция распределения **усредненного по ориентациям** сдвинутого объема в зависимости от величины сдвига. Это определение вытекает из определения функции Паттерсона, как самосвертки функции рассеивающей плотности.

$$I(s) = \langle I(s) \rangle_{\Omega} = 4\pi \int_{r=0}^{\infty} r^2 \gamma(r) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} dr$$

$$\gamma(r) = \langle P(\mathbf{r}) \rangle_{\omega} = \frac{1}{2\pi^2} \int_{s=0}^{\infty} s^2 I(s) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} ds$$

Здесь $r^2 \gamma(r) = \rho(r)$ - **функция распределения по расстояниям**. Полученные формулы замечательны еще и тем, что в них r и s скаляры, а не векторы. Функции $\gamma(r)$ можно придать вероятностные свойства, отнормировав ее.

Пусть $d\Omega$ - элемент телесного угла в обратном пространстве. Так как ориентацию структуры при усреднении по Ω мы считаем **фиксированной** ($d\omega = const$), то можно отделить часть, не зависящую от угла в обратном пространстве:

$$\langle I(s) \rangle = \frac{1}{4\pi} \cdot \int_{r=0}^{\infty} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot r^2 \cdot d\omega \int_{\Omega=0}^{4\pi} e^{i s \mathbf{r}} d\Omega =$$

$$= \int_{r=0}^{\infty} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot r^2 \cdot d\omega \cdot \left[\frac{1}{4\pi} \cdot \int_{\Omega=0}^{4\pi} e^{i s \mathbf{r}} d\Omega \right] = \int_{r=0}^{\infty} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot r^2 \cdot d\omega \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} =$$

выделим часть, не зависящую от телесного угла в прямом пространстве:

$$= \int_{r=0}^{\infty} r^2 dr \cdot \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot d\omega \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} = 4\pi \cdot \int_{r=0}^{\infty} r^2 dr \cdot \left\{ \frac{1}{4\pi} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot d\omega \right\} \cdot \frac{\sin(sr)}{sr}$$

Выражение в фигурных скобках есть не что иное, как формула усреднения функции Паттерсона по ориентациям в прямом пространстве. Это замечательный результат: мы получили, что усреднение интенсивности в обратном пространстве связано с усреднением в прямом пространстве. Усредненная функция Паттерсона называется **корреляционной функцией**:

$$\gamma(r) = \langle P(\mathbf{r}) \rangle_{\omega} = \frac{1}{4\pi} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot d\omega$$

При нулевом сдвиге δ

$$P(0) = \iiint_V \rho^2(\mathbf{r}) \cdot dV = \overline{\rho^2} \cdot V = \max$$

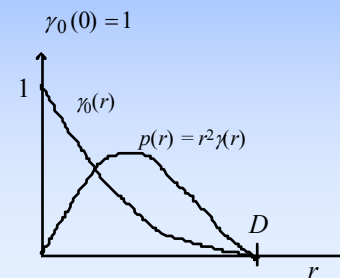
где $\overline{\rho^2}$ - усредненный по всему объему образца квадрат рассеивающей плотности.

Для того, чтобы избавиться от объема в корреляционной функции, для монодисперсных систем, например, в качестве нормирующего коэффициента

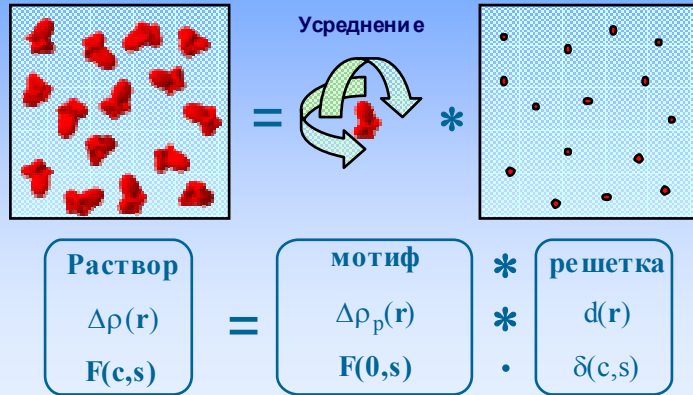
естественно выбрать величину $\overline{\rho^2} V$:

$$\gamma_0(r) = \frac{1}{\overline{\rho^2} V} \cdot \gamma(r), \quad \gamma_0(0) = 1$$

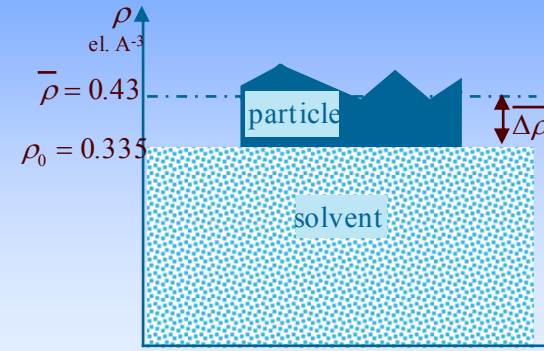
Тогда $\gamma_0(r)$ трактуется как вероятность того, что 2 точки, разделенные расстоянием r , лежат обе внутри частицы. Функция Паттерсона и, следовательно, корреляционная функция жестковещно равны 0 при $r > D$, где D - максимальный линейный размер рассеивающего объема.



Монодисперсные системы частиц



Рассеивающий контраст



Формула Дебая

If the particle is described as a discrete sum of elementary scatterers, (e.g. atoms) the scattered intensity is :

$$i_1(\mathbf{s}) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N f_i(\mathbf{s}) f_j(\mathbf{s}) e^{2i\pi(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j) \cdot \mathbf{s}}$$

where the $f_i(\mathbf{s})$ are the atomic scattering factors, and the spherically averaged intensity is (Debye) :

$$i_1(s) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N f_i(s) f_j(s) \frac{\sin 2\pi r_{ij} s}{2\pi r_{ij} s} \quad \text{where } r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$$

The Debye formula is widely used for model calculations

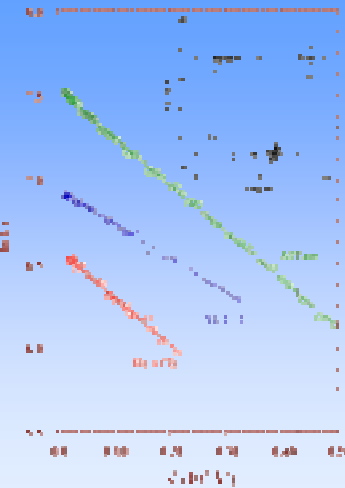
График Гинье: определение радиуса инерции

The law is generally used under its log form :

$$\ln[I(s)] \cong \ln[I(0)] - \frac{4\pi^2}{3} R_g^2 s^2$$

A linear regression yields two parameters : $I(0)$ (y-intercept)
 R_g from the slope

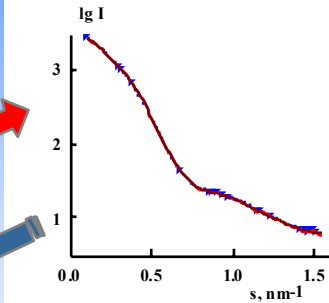
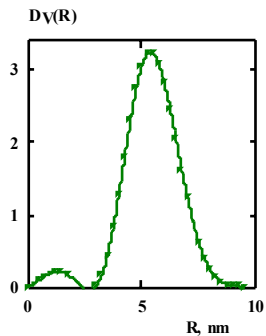
Validity range :
 $0 < 2\pi R_g s < 1.2$
For a sphere



ideal non dispers

Косвенное Фурье-преобразование: программа GNOM

$$D_V(R) = \sum_{n=1}^N c_n \varphi_n(R)$$



$$\min \left\{ \|I_{\text{exp}}(s) - I_{\text{calc}}(s)\|^2 + \alpha \Omega [p(r)] \right\}$$

Информативность данных малоуглового рассеяния

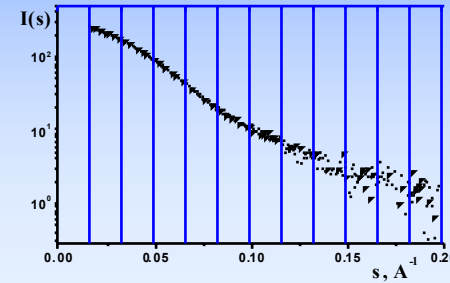
Вывод из теоремы Котельникова-Шеннона:

число независимых параметров, описывающих кривую рассеяния, равен $N_s = s_{\text{max}} D_{\text{max}} / \pi$,

где D_{max} максимальный размер частицы.

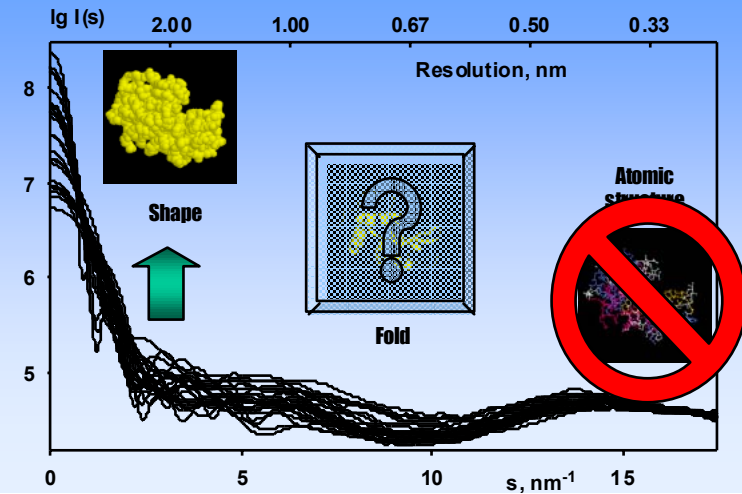
Обычно N_s невелико: $10 \div 20$.

N_s определяет максимально допустимый интервал угловых отсчетов в малоугловом эксперименте: $N_s \approx 12$



Следовательно, структура рассеивающей частицы должна быть параметризована небольшим количеством параметров, что ограничивает пространственное разрешение.

What may solution scattering yield



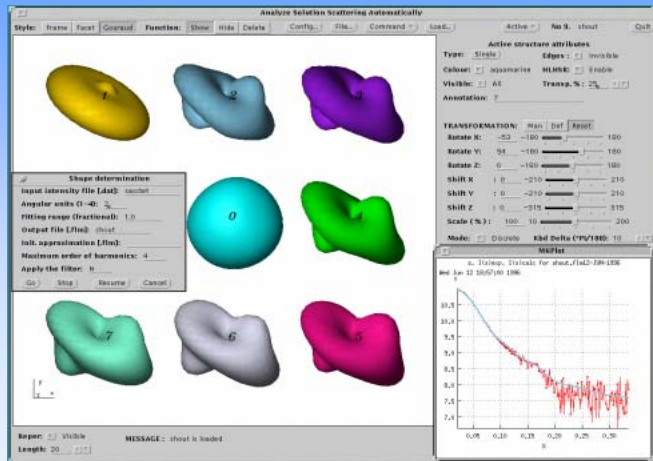
Представление формы белковой молекулы в виде мультипольного разложения

$$F(\omega) = \rho(r) = f_{00} A_{00}(s) + f_{11} A_{11}(s) + f_{20} A_{20}(s) + f_{22} A_{22}(s) + \dots$$

разрешение: $\delta = \pi R / (L+1)$ R - радиус эквивалентной сферы.

Число параметров структурной модели f_m равно $(L+1)^2$.

Программа SASHA: определение формы белковых молекул в растворе

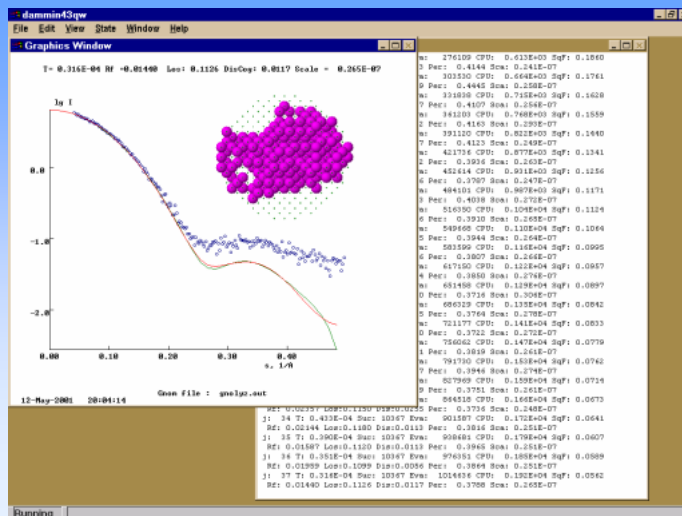


Программа DAMMIN: определение структуры белков в растворе

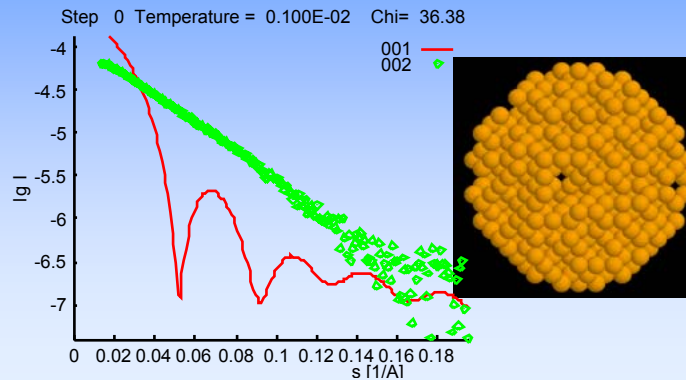
Структура молекул или частиц моделируется набором плотноупакованных шариков, расположенных внутри области с диаметром равным максимальному размеру частицы. Программа варьирует расположение шариков, минимизируя разницу между экспериментальной кривой рассеяния и рассчитанной от шариковой модели.



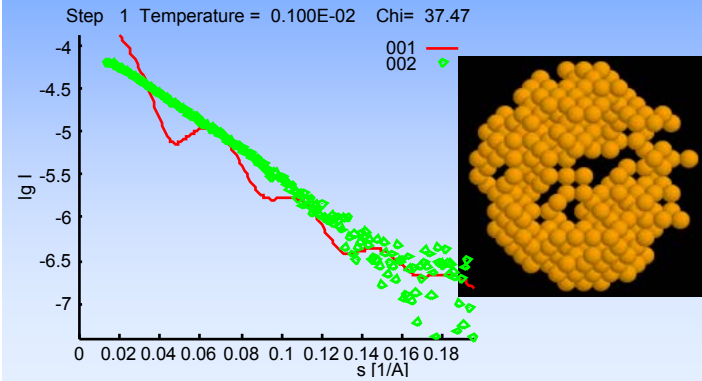
Программа DAMMIN: поиск структуры



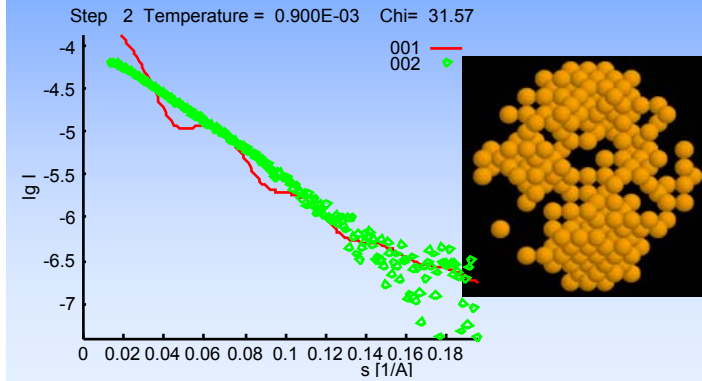
Case study: determination of structure of the myosin head S1



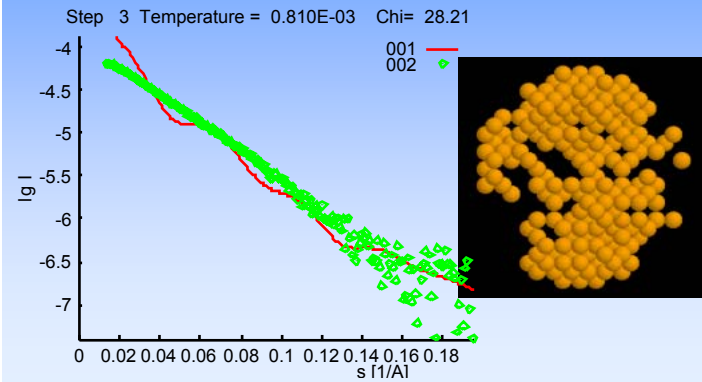
Case study: determination of structure of the myosin head S1



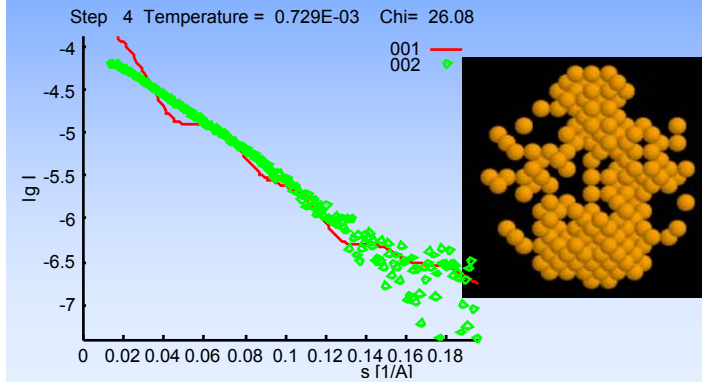
Case study: determination of structure of the myosin head S1



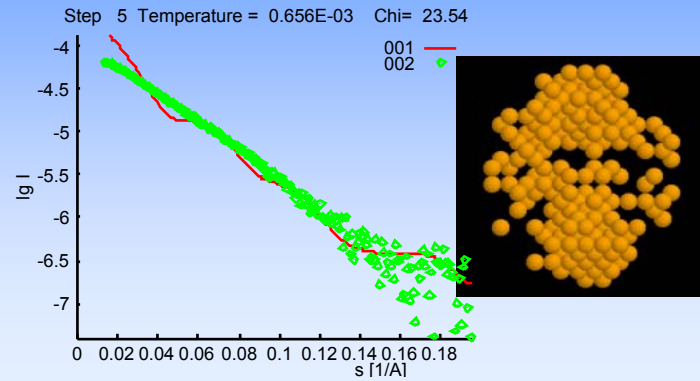
Case study: determination of structure of the myosin head S1



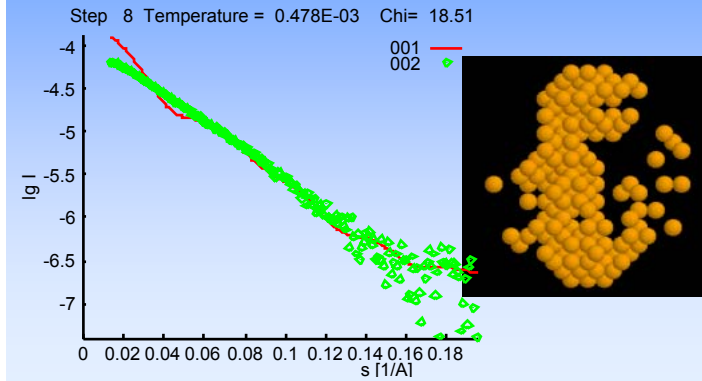
Case study: determination of structure of the myosin head S1



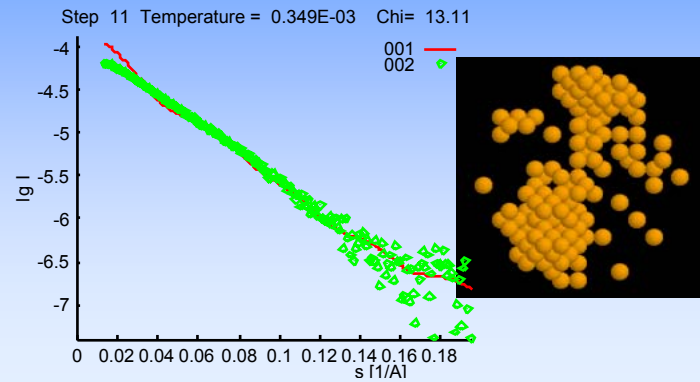
Case study: determination of structure of the myosin head S1



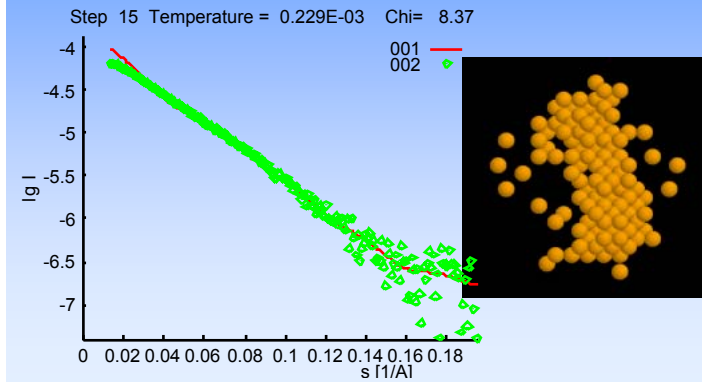
Case study: determination of structure of the myosin head S1



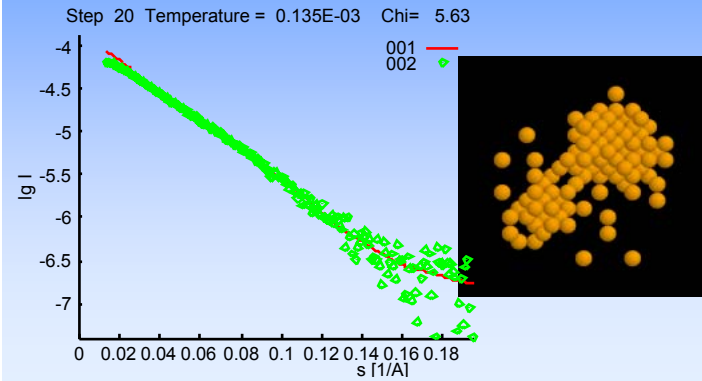
Case study: determination of structure of the myosin head S1



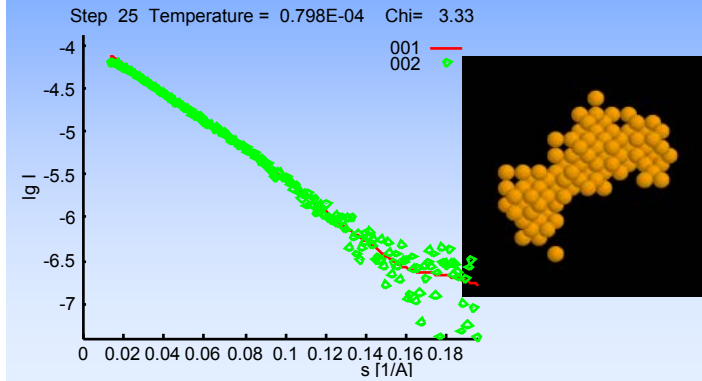
Case study: determination of structure of the myosin head S1



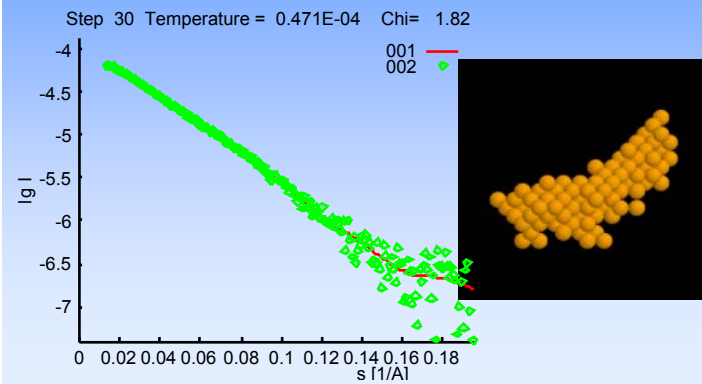
Case study: determination of structure of the myosin head S1



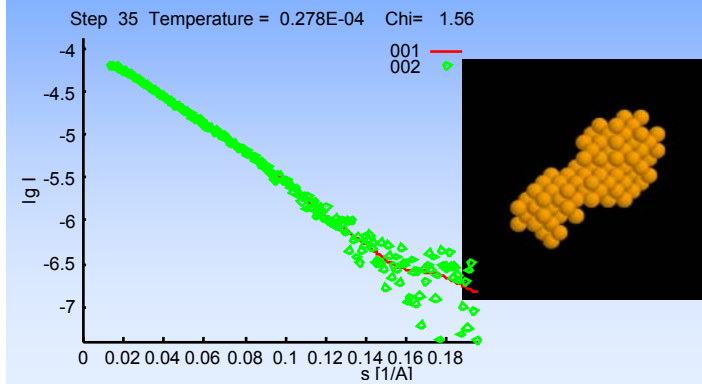
Case study: determination of structure of the myosin head S1



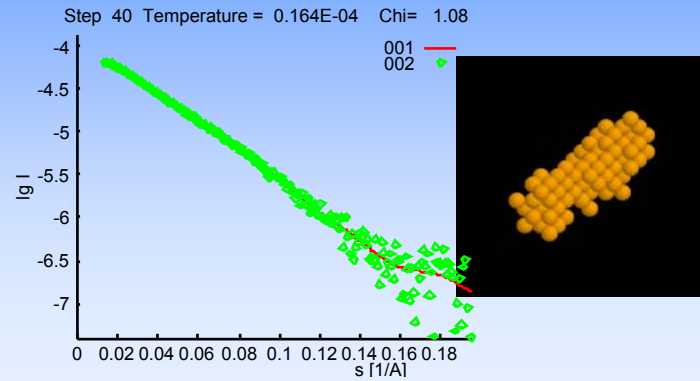
Case study: determination of structure of the myosin head S1



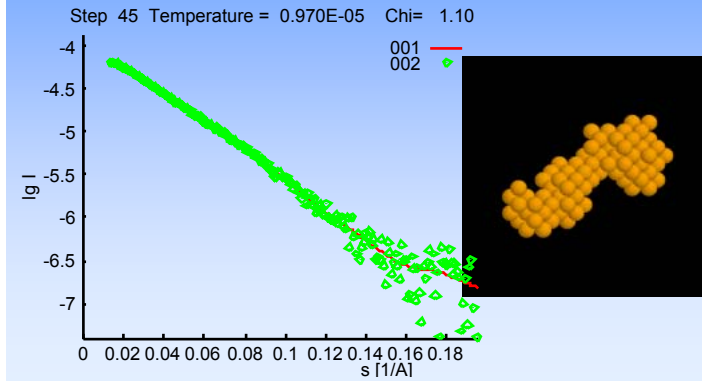
Case study: determination of structure of the myosin head S1



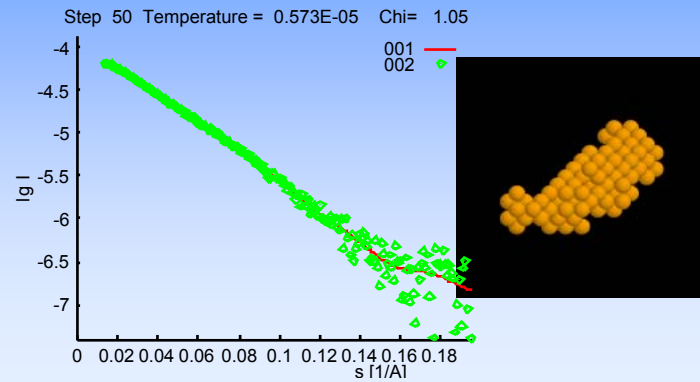
Case study: determination of structure of the myosin head S1



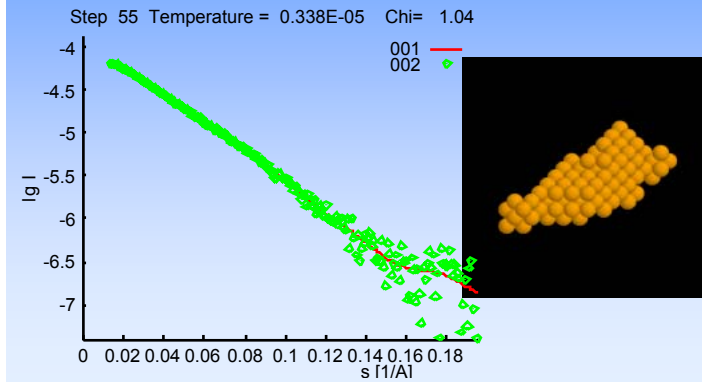
Case study: determination of structure of the myosin head S1



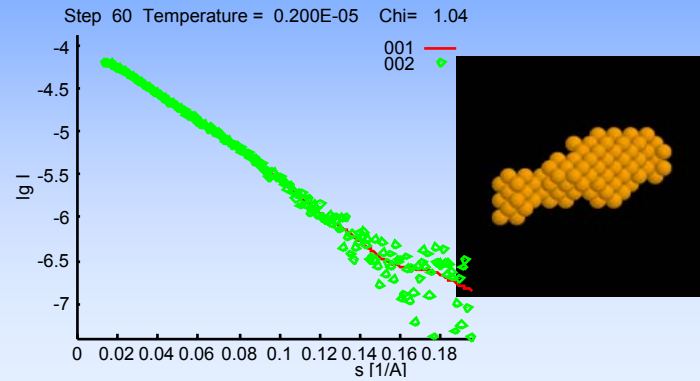
Case study: determination of structure of the myosin head S1



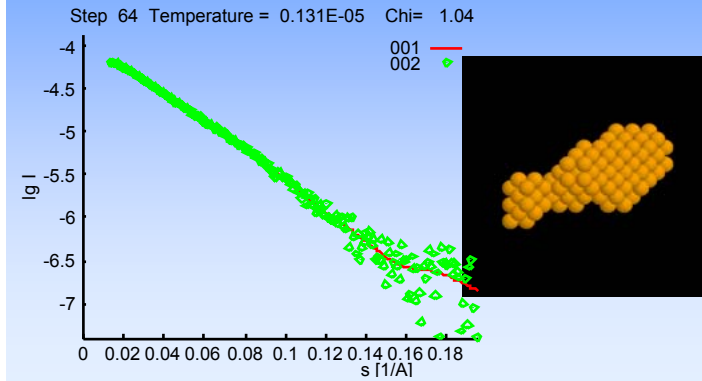
Case study: determination of structure of the myosin head S1



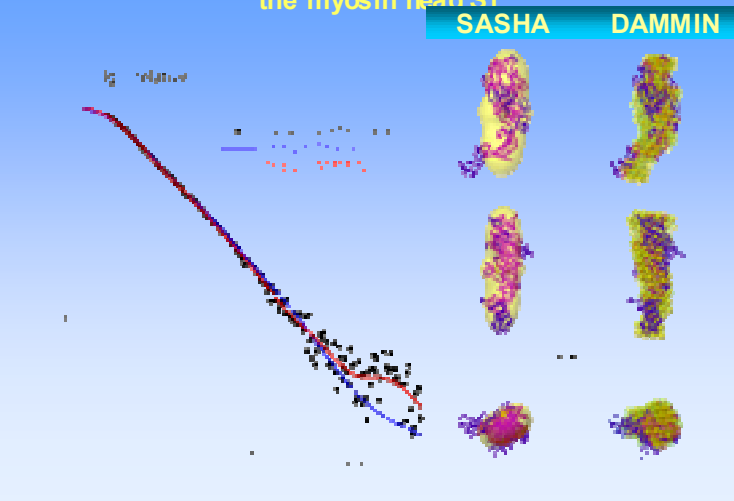
Case study: determination of structure of the myosin head S1



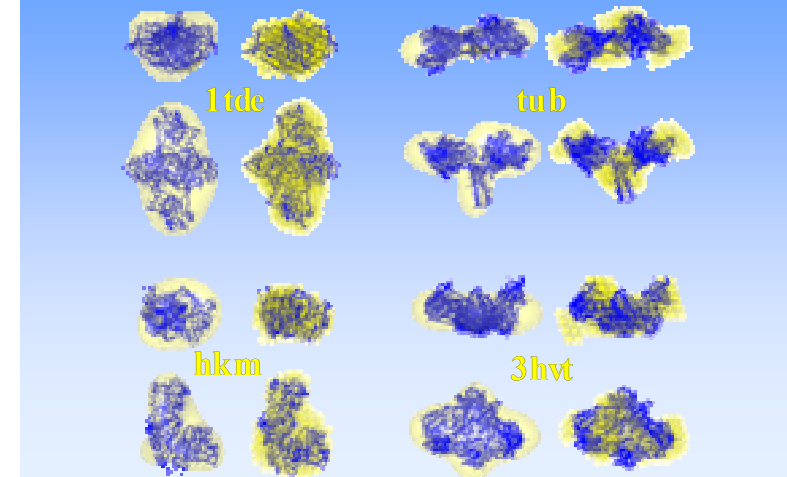
Case study: determination of structure of the myosin head S1



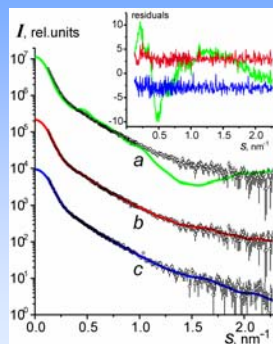
Case study: determination of the structure of the myosin head S1



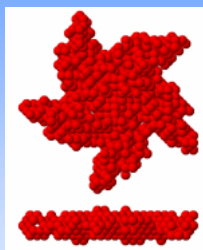
Примеры определения структур белков в растворе



Метод малоуглового рентгеновского рассеяния позволяет определять отличия в форме биомолекул, находящихся в растворе. Форму определяют с помощью уникальных программ моделирования трехмерной структуры по данным рассеяния, разработанных в ИКРАН.

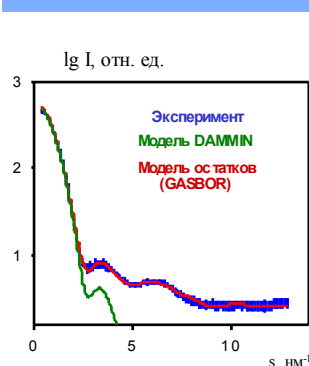


Форма молекулы иммуноглобулина М



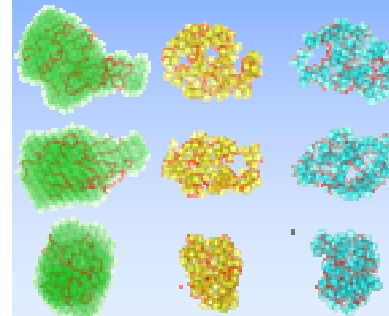
Форма молекулы ревматоидного фактора

Программы DAMMIN и GASBOR: определение строения белковых молекул в растворе по данным мало- и среднеуглового рентгеновского рассеяния.



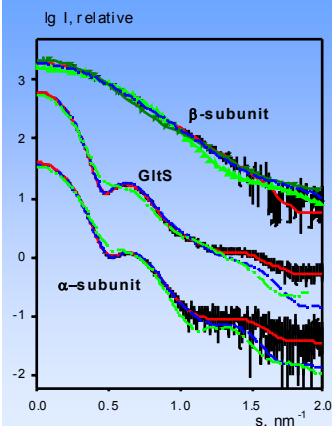
Модель DAMMIN (шариковая)

модели GASBOR (из аминокислотных остатков)

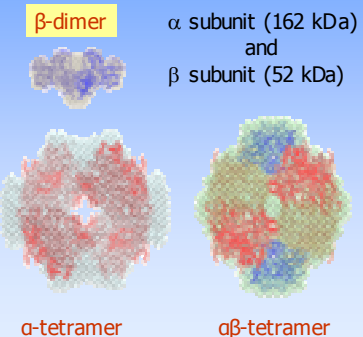


Структуры даны в трех ориентациях, для сравнения линиями показаны кристаллические модели

Четвертичная структура глутаминсинтазы по данным малоуглового рассеяния от раствора

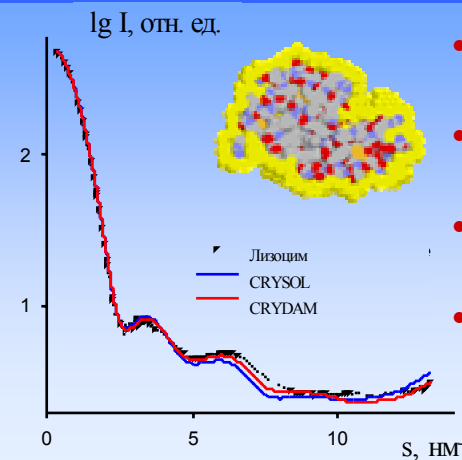


Catalytically active $\alpha\beta$ holoenzyme of the iron-sulfur flavoprotein GltS, contains



M.V. Petukhov, D.I. Svergun, P.V. Konarev, S. Ravaio, R.H.H. van den Heuvel, B. Curti & M.A. Vanoni (2003). *J. Biol. Chem.*, **278**, 29933

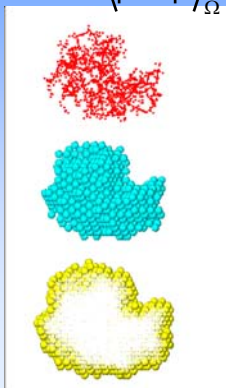
Программа CRYDAM: представление структуры шариками разных типов



- Учитывает гидратный слой на поверхности молекулы
- Вычисляет профили рентгеновского и нейтронного рассеяния
- Моделирует структуры белков, нуклеиновых кислот и их комплексы
- Применима для широкого диапазона углов рассеяния

**Программный пакет CRYSOL/CRYSON:
рассеяние от макромолекулы в растворе**

$$I(\mathbf{s}) = \left\langle |A(\mathbf{s})|^2 \right\rangle_{\Omega} = \left\langle |A_a(\mathbf{s}) - \rho_s A_s(\mathbf{s}) + \delta\rho_b A_b(\mathbf{s})|^2 \right\rangle_{\Omega}$$



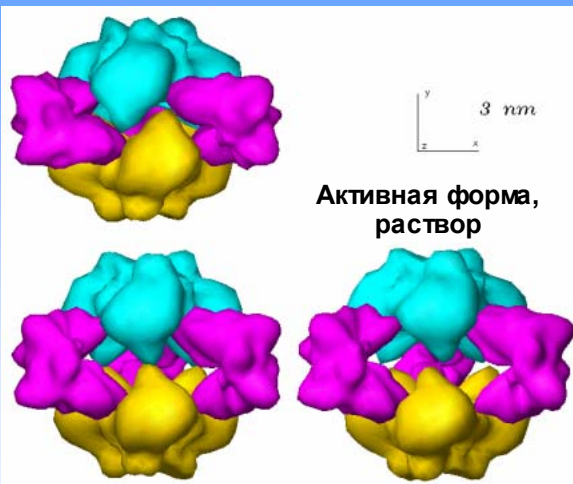
- $A_a(\mathbf{s})$: атомное рассеяние в вакууме
- $A_s(\mathbf{s})$: рассеяние исключенным объемом
- $A_b(\mathbf{s})$: рассеяние гидратной оболочкой

Вычисление рассеяния от атомных моделей в растворе позволяет :

- Анализировать подобие (различие) между макромолекулами в растворе и в кристалле
- Проверять теоретически предсказанные модели
- Уточнять четвертичную структуру сложных частиц с помощью относительного вращения субъединиц

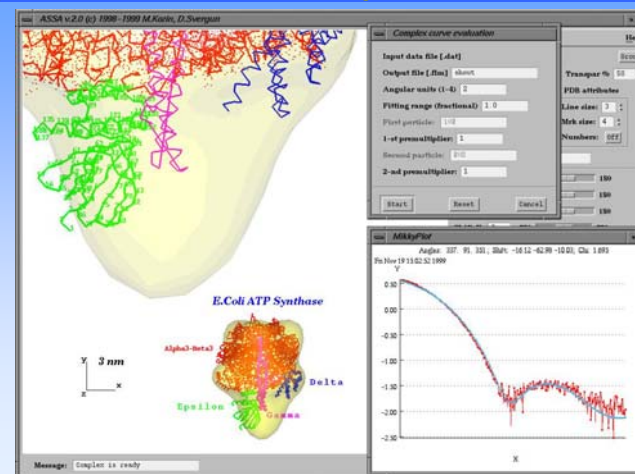
Коррекция кристаллографических структур для раствора : структура аспарат транскарбамилазы

Кристалл и раствор, неактивная форма

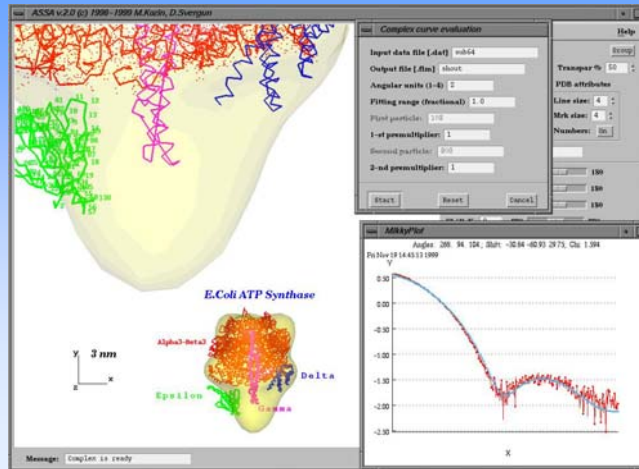


Активная форма, кристалл

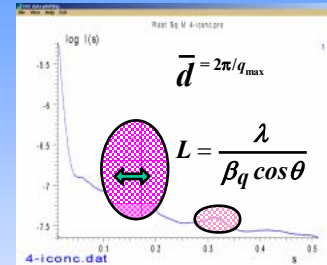
Позиционирование ε субъединицы F-АТР synthase по данным малоуглового рассеяния



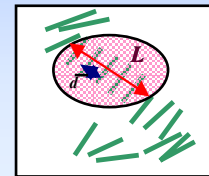
Позиционирование субъединицы F-ATP synthase по данным малоуглового рассеяния



Особенности кривых малоуглового рассеяния для каррагинан/ПАВ систем



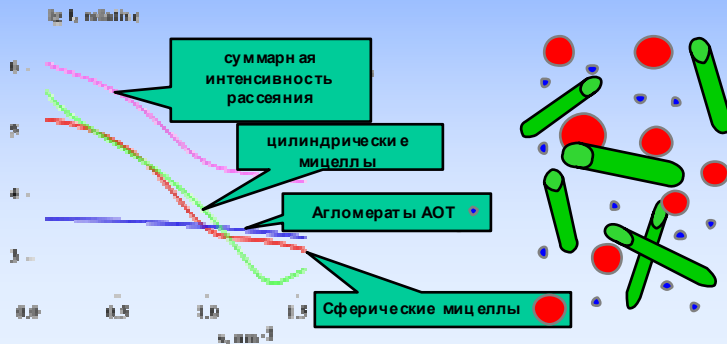
Присутствие Брэгговских пиков
 * Сильное центральное рассеяние
 * Взаимное расположение пиков соответствует ламеллярному характеру упаковки в комплексах.
 * Эти особенности начинают проявляться на кривых рассеяния при определенных соотношениях СРС/число заряженных групп каррагинана.



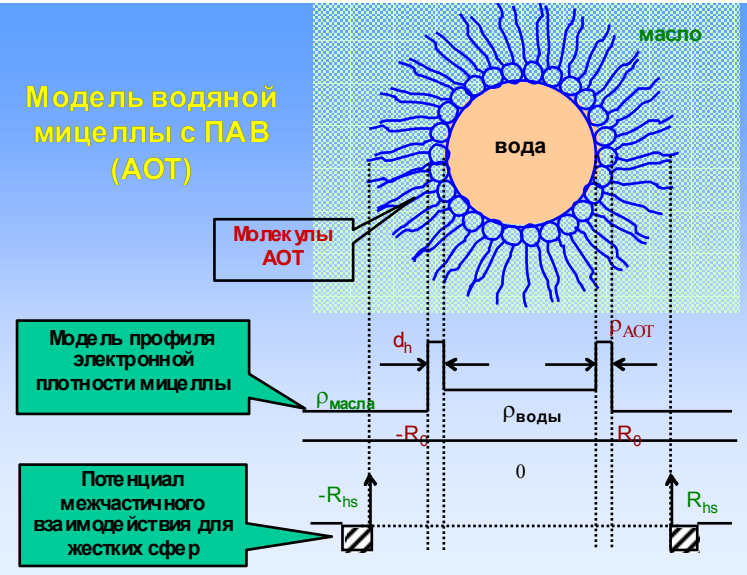
- * Положение брэгговских пиков определяет основной характеристический размер образца – периодичность структуры $= 2\pi/q_{max}$.
- * Размер кристаллитов L определяется шириной максимума интенсивности рассеяния в угол 2θ .
- * Взаимное расположение вторичных пиков определяет характер упаковки в системе.

Моделирование полидисперсных систем частиц: трехкомпонентная смесь агломератов молекул ПАВ (АОТ) и двух типов обращенных мицелл воды в масле

$$I(s) = const \sum_{k=1}^K \varphi_k I_{k0}(s, R_{0k}, \Delta R_k) S_k(s, R_k^{sh}, \eta_k, \tau_k)$$



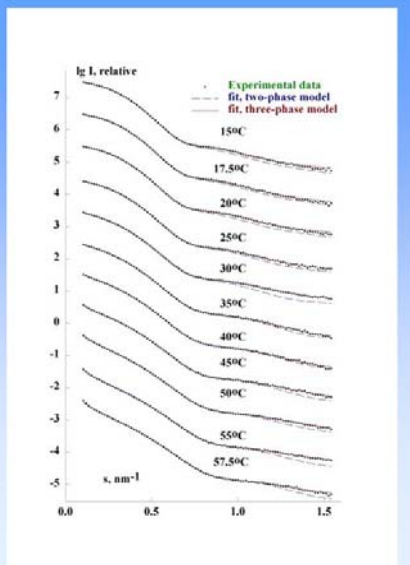
Модель водной мицеллы с ПАВ (АОТ)



Интерпретация данных рассеяния от водно-масляной эмульсии трехкомпонентной смеси наночастиц.

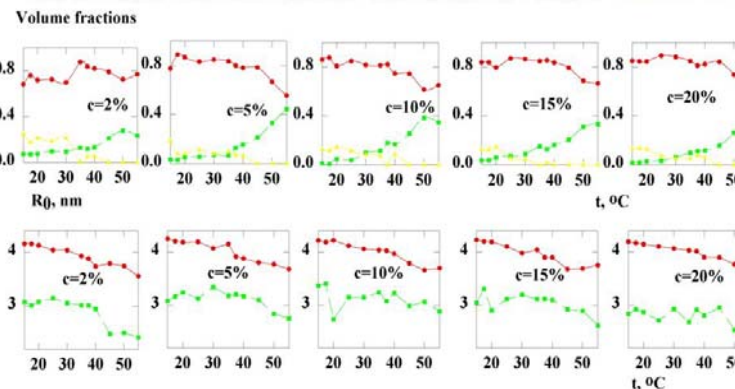
Подгонка методом нелинейных наименьших квадратов рассеяния от модели, описываемой полидисперсной смесью взаимодействующих водных мицелл двух типов и агломератов ПАВ.

Расхождения между экспериментальными и теоретическими кривыми обусловлены неучетом агломератов.

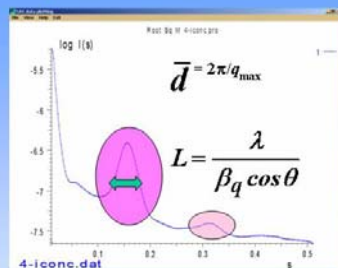


Температурные зависимости объемных долей сферических и цилиндрических водных мицелл в масле и агломератов ВАП, c=10%

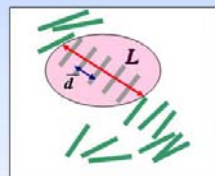
Красн: сферические мицеллы зел: цилиндрические желт: ПАВ



Особенности кривых малоуглового рассеяния для каррагинан/ПАВ систем:

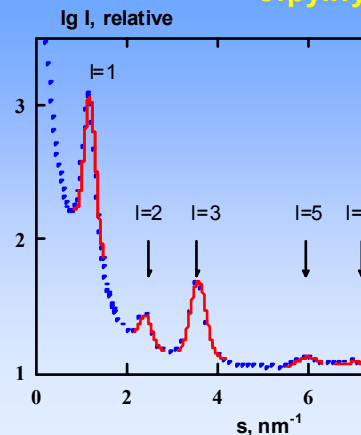


Присутствие Брэгговских пиков
 → Сильное центральное рассеяние
 → Взаимное расположение пиков соответствует ламеллярному характеру упаковки в комплексах.
 → Эти особенности начинают проявляться на кривых рассеяния при определенных соотношениях СРС/(число заряженных групп каррагинана).



→ Положение брэгговских пиков определяет основной характеристический размер образца – периодичность структуры $= 2\pi/q_{max}$
 → Размер кристаллитов L определяется полушириной максимума интенсивности рассеяния в угол 2θ .
 → Взаимное расположение вторичных пиков определяет характер упаковки в системе.

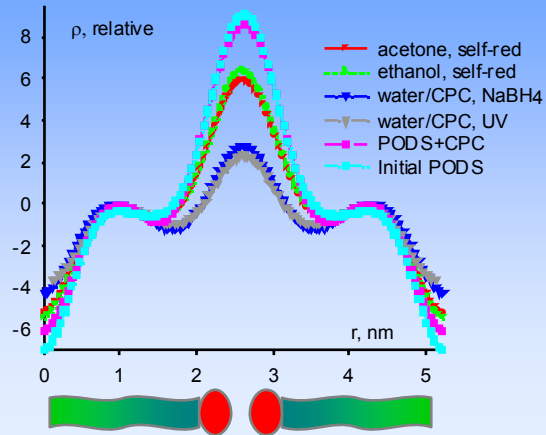
Программа РЕАК: анализ внутренней структуры



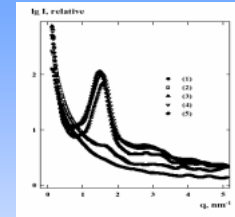
• Polymer samples display up to five Bragg peaks at $s_i = 2\pi/d$, where $d = 5.24 \pm 0.03$ nm is the bilayer thickness.

• The long-range order dimension $L = 37 \pm 3$ nm provides the average size of the polymer lamella crystallite (about seven bilayers)

Поперечный профиль электронной плотности бислоя полимерной матрицы с наночастицами золота

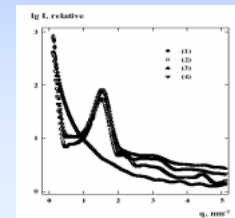


Малоугловое рассеяние от сколлапсированных полимерных гелей (каррагинанов)



$$m_{dried}/m_{swollen} = 0.0037$$

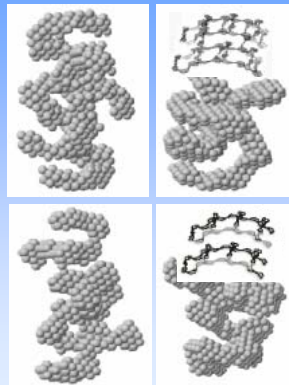
- 1 - Исходный гель
- 2 - [CPC]/[c har. Car.] = 0.2
- 4 - [CPC]/[c har. Car.] = 0.5
- 5 - [CPC]/[c har. Car.] = 1.0
- 6 - [CPC]/[c har. Car.] = 1.5



$$m_{dried}/m_{swollen} = 0.01$$

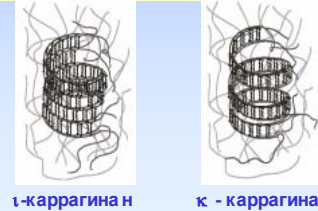
- 1 - Исходный гель
- 2 - [CPC]/[c har. Car.] = 0.5
- 3 - [CPC]/[c har. Car.] = 1.0
- 4 - [CPC]/[c har. Car.] = 1.6

Анализ центральной части малоуглового рассеяния от каррагинан-ПАВ систем – восстановление структуры нанокластеров



Расчет модели структуры с помощью программы DAMM N показал, что:

- ❖ Полимерные цепи каррагинанов образуют супер-спиральные структуры, стабилизированные бислоями CPC.
- ❖ Бислои расположены перпендикулярно оси суперспирали и это обеспечивает квази-ламеллярный порядок упаковки вдоль оси полого цилиндра, стенки которого образованы бислоями CPC.

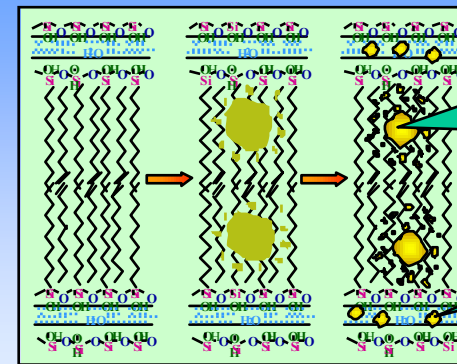


Сtereo *ab initio* реконструкция λ - (вверху) и κ - (внизу) каррагинан/CPC кристаллитов

λ -каррагинан

κ -каррагинан

Образование металлических наночастиц золота в структурированных полимерных матрицах полиоктадецилсилоксана



формирование структурированной матрицы насыщение матрицы раствором соли восстановление соли до металла

наночастицы с широким разбросом размеров, формирующиеся в областях alkylных цепей полимера

наночастицы с узким разбросом размеров в гидрофильной части матрицы

Применение:
высокоэффективные катализаторы (Ag, Au, Pt);
магнитогластик (наночастицы магнитных материалов)

Расчет объемных распределений по размерам
наночастиц золота в матрице
полиоктаэдрического диоксида

