

# Rozhledy matematicko-fyzikální

---

Andrea Štěpánková; Zdenek Pala  
Praní jako věda

*Rozhledy matematicko-fyzikální*, Vol. 85 (2010), No. 4, 40–47

Persistent URL: <http://dml.cz/dmlcz/146382>

## Terms of use:

© Jednota českých matematiků a fyziků, 2010

Institute of Mathematics of the Czech Academy of Sciences provides access to digitized documents strictly for personal use. Each copy of any part of this document must contain these *Terms of use*.



This document has been digitized, optimized for electronic delivery and stamped with digital signature within the project *DML-CZ: The Czech Digital Mathematics Library* <http://dml.cz>

## Praní jako věda

*Andrea Štěpánková, Zdenek Pala, KIPL, FJFI ČVUT, Praha*

**Abstract.** The article deals with an interesting field of material structure investigation by means of X-ray diffraction. After a brief introduction mentioning big names of this field, basic conceptions of solid state structure and X-ray radiation are presented. The core is formed by two areas of structure analysis: the application of diffraction in material science and engineering during the development of new progressive materials of made-to-measure properties, and the use of diffraction in an attractive environment of protein crystallography.

*Fakt, že všechno souvisí se vším, si ověřujeme od malička, a o tom, že je praní skutečná věda, nepochybujeme. Ale jak souvisí praní s rentgenem?*

Rentgenové paprsky jsou širokým vrstvám nedospělého i dospělého obyvatelstva známy především jako nepostradatelný nástroj lékařek a lékařů při odhalování zlomených či naštíplých kostí. Jejich využití je ovšem v moderním světě daleko širší. Kromě lékařství jsou fyzikální metody pracující s rentgenovým zářením nepostradatelné v kriminalistice při odhalování padělaných obrazů, v materiálovém inženýrství nejen při vývoji nových někdy takřka zázračných materiálů, ale také například při řešení nechtěného prohýbání válcovaných plechů. Žádná z farmaceutických firem se neobejde bez rentgenové laboratoře, stejně jako cementárny a důlní společnosti. Proč, k čemu a jak se rentgen v těchto oblastech používá, se vám pokusíme zodpovědět v tomto článku. Začneme však od Adama... , tedy spíše od Röntgena.

Na konci předminulého století objevil významný německý fyzik Wilhelm Conrad Röntgen (1845–1923) nový druh záření. O tom, že objev *paprsků X*, jak bylo tehdy rentgenové záření označováno, byl z části dílem šťastné náhody a z části experimentátorova nadšeného bádání, se dočítáme všude. Ani vlastnosti tohoto záření už nejsou neznámé. Ví se, že se jedná o elektromagnetické záření o vlnové délce 0,01–10 nm, což odpovídá energiím fotonů 120 eV – 120 keV, prochází hmotou, v níž se částečně absorbuje. Množství absorbovaného záření závisí na složení hmoty (na protonovém čísle, hustotě a tloušťce materiálu) a na kvalitě záření. Rentgenové záření s energiemi do 12 keV označujeme jako měkké, pokud mají fotony záření energii větší než 12 keV, je to záření

tvrdé. Nechme se teď ohromit přehledem, k čemu všemu jsou paprsky X nezbytné.

Hned po svém objevu se začaly rentgenové paprsky využívat v medicíně a technické defektoskopii. Nezůstalo však jen u tohoto využití. V roce 1912 Max von Laue a Paul Knipping ozářili krystal skalice modré rentgenovými paprsky a pozorovali jejich interakci s krystalickým materiálem. V některých směrech se šířila rozptýlená energie, v jiných docházelo k vyhasínání. A tak byly položeny počátky nové vědní disciplíny – strukturní krystalografie, založené na interferenci rentgenového záření s krystaly.

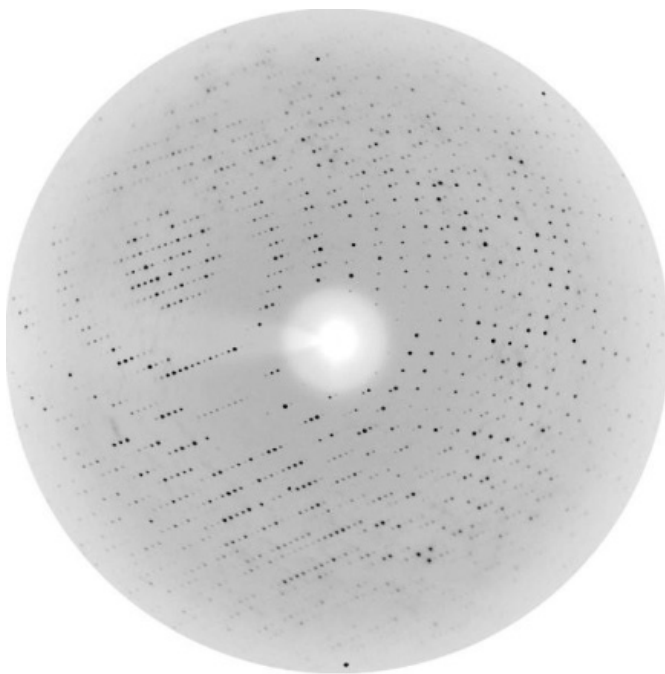
Přímou souvislost mezi interferenčním obrazcem (difrakčním snímkem) a krystalovou strukturou si jako první uvědomil William Laurence Bragg (1890–1971) a za pomoci svého otce Williama Henryho Bragga (1862–1942) určil první krystalové struktury několika prvků (diamantu, grafitu) i jednoduchých sloučenin (chloridu sodného a draselného, pyritu, kalcitu, korundu). Rentgenové paprsky a jméno otce a syna Braggových patří nerozlučně k sobě a tzv. Braggův zákon patří mezi nejkrásnější a nejjednodušší vztahy mezi zkoumaným objektem a nástrojem, kterým se na něj nahlíží.

Než čtenáře zasvětime do počátků strukturní krystalografie u nás a do dalšího využívání rentgenu v materiálovém inženýrství a proteinové krystalografii, dovolíme si malou odbočku do úvodu strukturní krystalografie jako takové. Je mnohem příjemnější nechat se okouzlit možnostmi a výsledky strukturní krystalografie, když si vysvětlíme principy difrakčních experimentů zkoumajících „krystalovou strukturu“ metodou „difrakce“.

Svět můžeme rozdělit do čtyř skupenství – pevného, kapalného, plynného a plazmatu. Staří Řekové, respektive Aristoteles, k těmto čtyřem skupenstvím přidávali ještě éter. Do takových filosoficko fyzikálně etických záležitostí se raději pouštět nebudeme a naši pozornost zaměříme pouze na skupenství solidní, a tedy pevné, které je dvou druhů – krystalické a amorfní. Amorfní látky jsou z hlediska aplikačního i fyzikálního velmi zajímavé a v jistém období představovaly dokonce tematiku lehce se blížící dnešnímu boomeru všeho začínajícího na „nano“. My se jim však mlčky vyhneme a dále se budeme věnovat jen látkám krystalickým. Pokud bychom tyto látky měli dostatečně přesně a spolehlivě popsat, začali bychom zřejmě nejprve u atomů, ze kterých jsou složeny, a jejich vzájemného uspořádání. S upořádáním se již v 19. století vypořádal Auguste Bravais, který všechny krystalické látky rozdělil do 14 tzv. Bravaisových mřížek. Ty představují možné kombinace jednoho ze sedmi krystalogra-

fických systémů (triklinický, monoklinický, ortorombický, tetragonální, romboedrický, kubický, hexagonální) a typu mřížky (primitivní, bazálně, plošně a prostorově centrovaná). Zbývá pouze každému uzlovému bodu Bravaisovy mřížky přiřadit tzv. bázi neboli rozložení strukturních jednotek. Samotná báze může být tvořena jen jedním atomem, jako je tomu v případě železa v modifikaci alfa, neboli feritu, dvou atomů v případě kuchyňské soli, nebo také několika set tisíc atomů jako v případě některých proteinů.

Díky pravidelnému uspořádání se krystalická látka při interakci s rentgenovým zářením chová podobně jako známá optická mřížka při interakci s viditelným světlem, tj. na stínítku dochází ke vzniku interferenčního obrazce, na kterém pozorujeme mimo jiné konstruktivní interferenci.



Obr. 1. Difrakční snímek (tzv. lauegram) proteinového monokrystalu, na kterém lze pozorovat mnohem více difrakčních stop ve srovnání s malou molekulou. Proteinová krystalografie se dnes neobejde bez synchrotronu – zdroje intenzivního a ladiitelného rentgenového záření, tento snímek byl pořízen na synchrotronu ESRF v Grenoblu, který čeští krystalografové hojně navštěvují.

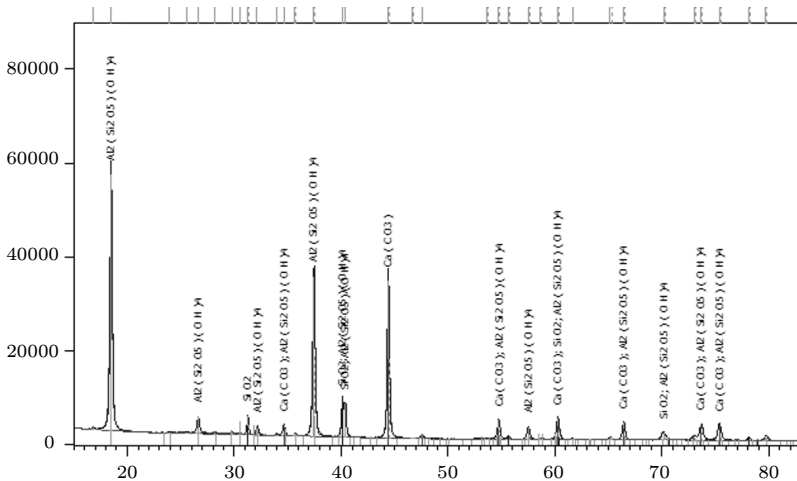
Jedna z možných definic difrakce nám říká, že difrakce je právě onou konstruktivní interferencí. Stejně jako z interferenčního obrazce od optické mřížky můžeme určit její konstantu, tak z difrakčního obrazce krystalické látky můžeme určit vzájemnou vzdálenost atomů neboli parametry mřížky. Zbývá zřejmě zodpovědět důležitou otázku: „Proč je to možné?“ Odpověď je překvapivě jednoduchá. Vzdálenost mezi atomy v pevné látce je řádu  $10^{-10}$  m a vlnová délka rentgenového záření se pohybuje ve stejné oblasti.

K difrakčnímu experimentu potřebujeme v zásadě toliko tři věci – zdroj rentgenového záření, zkoumaný materiál a vhodný detektor a to vše pevně umístěno na polohovacím zařízení zvaném *difraktometr*. Zdrojem rentgenového záření je v běžných laboratorních podmínkách vakuumová trubice emitující rentgenové paprsky, vlnovou délku charakteristické části spektra rentgenky určuje materiál anody, ve které dochází mimo jiné k zářivým přechodům v elektronové slupce atomů. Vzniklé fotony procházejí přes málo absorbující, ovšem jedovaté a karcinogenní beryliové okénko a mohou být dále usměrňovány a fokusovány systémem clon a zrcadel. Dopadají na analyzovanou oblast vzorku, který tyto tzv. primární fotony difraktuje. Tyto difraktované fotony jsou zachyceny na detektoru. Detektorem může být tradiční fotografický film, modernější scintilační detektor nebo velmi moderní přístroj s CCD čipem, přítomným v každém digitálním fotoaparátu. Výsledkem celého snažení je difrakční obrazec (příklady získávaných obrazců jsou uvedeny na obr. 1 a 2), jenž kvalifikovaní krystalografové fundovaně a detailně analyzují na základě desítek ba stovek fyzikálních metod a poznatků.

Úloha krystalografa někdy končí stanovením struktury dosud neznámého a nepopsaného materiálu. Nicméně tito krystalografové jsou světlymi výjimkami v této nemalé komunitě. Laboratoře rentgenové difrakce nejhojněji zásobují své studenty a chlebedárce dodatečnými informacemi o fázovém složení, neboli o tom, jaké fáze (fází se rozumí taková oblast materiálu, která má stejné chemické a fyzikální vlastnosti) se ve zkoumané látce vyskytují (popřípadě kolik je které fáze), o orientaci monokrystalů, a také o tzv. *reálné struktuře*.

Krystal bez defektů neexistuje, neboť to není z termodynamického hlediska výhodné. *Vakance, intersticiály, šroubové a hranové dislokace, vrstevnaté chyby, zbytková napětí, textura* – všechny tyto pojmy vystanou krystalografovi na mysl, když přijde na přetřes otázka reálné struktury, neboli odchylek od dokonalého krystalu. Parametry reálné struktury někdy až překvapivě významně ovlivňují optické, elektrické,

ale zejména mechanické vlastnosti pevných látek. Přítomnost textury (přednostní orientace krystalků) v polykrystalických kovech může vést ke změně tvaru finálních výrobků, což je finančně i technologicky náročně řešitelná obtíž, naopak v případě tranzistorových plechů či tyčí pro uložení palivových tablet v jaderné elektrárně je jistý typ textury přímo nezbytný.



Obr. 2. Difraktogram pořízený na laboratorním práškovém difraktometru v Laboratoři strukturní rentgenografie na FJFI. Zkoumaným materiálem je běžná plastelína a fázová analýza získaných difrakčních dat odhalila přítomnost kalinitu  $\text{Al}_2(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4$ , křemene  $\text{SiO}_2$  a vápence  $\text{CaCO}_3$ .

Zbytková napětí (pnutí) v povrchové vrstvě představují významný faktor ovlivňující korozi či vznik a šíření trhlin jako následek dynamického namáhání kovových konstrukcí. Díky nepříznivým zbytkovým napětím docházelo u nejmenovaných švédských stíhaček k odpadávání křidel, na druhou stranu příznivá tlaková napětí v povrchu částí dopravních strojů, částí jaderných elektráren či turbín mohou výrazně přispět ke zvýšení jejich životnosti a bezpečnosti. Když v první polovině 20. století přední česká fyzička Adéla Kochanovská-Němejcová řešila ve výzkumném ústavu Škodových závodů problematiku praskání nábojnic, zjistila, že k nežádoucímu jevu dochází vlivem nepříznivých zbytkových napětí. Svým výzkumem položila základ rentgenové tenzometrie, ve kterém pokračuje Laboratoř strukturní rentgenografie na FJFI. Všechny výše zmíněné parametry reálné struktury lze určit metodami využívajícími rent-

genovou difrakci, což svědčí nejen o její nezbytnosti, ale především o její přitažlivosti pro materiálové inženýry, kteří se pokouší vyrábět nové materiály takřka na míru, či směřují své snažení k nalezení nových progresivních metod přípravy a zpevňování povrchu.

Dalším odvětvím, které se bez rentgenu neobejde, je proteinová krystalografie. Tato poměrně mladá vědní disciplína řeší otázku, jak vypadá atomární struktura bio-makromolekulárních látek. Pojem bio-makromolekuly naznačuje, že půjde o velké molekuly. Ale jak velké? Ve skutečnosti bývá průměr kulových proteinů v řádech jednotek až desítek nanometrů. Cedulku makro nosí proto, že se skládají z velikého počtu atomů – jednu jedinou molekulu – makromolekulu tvoří tisíce až desetitisíce atomů. Předpona „bio“ zdůrazňuje, že se jedná o látky obsažené v živých organismech. Teď si umí každý čtenář představit, co je předmětem zkoumání proteinové krystalografie. Jsou to bílkoviny, nukleové kyseliny, ale také polysacharidy nebo viry.

Nobelova cena za chemii byla v roce 1962 udělena dvěma molekulárním biologům Johnu Cowderyovi Kendrewovi (1917–1997) a Maxi Ferdinandu Perutzovi (1914–2002) za první vyřešené struktury bílkovin – hemoglobinu a myoglobinu. V témže roce obdrželi toto prestižní ocenění v oboru „fyziologie nebo medicína“ i další dva molekulární biologové, James Dewey Watson (nar. 1928) a Francis Crick (1916–2004), za svůj objev molekulární struktury DNA. Taktéž pomocí rentgenové difrakce dokázali, že molekula DNA má tvar dvoušroubovice.

Už na počátku minulého století se vědělo, že některé biologické makromolekuly mohou krystalizovat. Každý jistě přišel do styku s krystaly různých anorganických látek, ale asi ještě nikdy s krystaly biologických látek. Jejich příprava je složitý proces citlivý na řadu parametrů. Proto se proteinové krystaly připravují v laboratořích za kontrolovaných podmínek. Vzhled a vlastnosti bílkovinných krystalů se od krystalů solí liší. Bílkovinné krystaly jsou mnohem menší, dorůstají do velikosti desetin milimetru, pozorují se pod mikroskopem a jsou velmi citlivé na mechanické poškození, proto jakákoli manipulace s nimi musí být velice opatrná. Velmi často se tedy uchovávají zamražené v kapalném dusíku, a tak jsou přenášeny ke zdroji záření před vlastním měřením. I jejich vnitřní struktura je odlišná. Něco jiného je, když si na sebe mají pravidelně posadat atomy nebo malé molekuly, a něco jiného, když to jsou obrovské molekuly. Když se makromolekuly uspořádávají do krystalové mřížky (viz výše), vznikají mezi nimi velké kanály, kterými můžou proudit molekuly vody. Tuto vlastnost krystaly anorganických solí nemají.

Uspořádání difrakčního experimentu je obdobné jako výše popsané – bílkovinný krystal je ozařován svazkem rentgenového záření, nejčastěji synchrotronového, a rozptýlené záření je detekováno za krystalem na plošném detektoru. V průběhu měření je krystal kvůli své citlivosti na okolní vlivy velice často udržován na nízkých (kryogenních) teplotách v parách kapalného dusíku. Výsledkem měření je pak soubor stovek difrakčních snímků podobných tomu na obr. 1. Ty se pak zpracovávají speciálními výpočetními programy s cílem získat informaci, která nás zajímá – mapu elektronové hustoty. Jinými slovy: víme, kde jsou v prostoru elektronové obaly atomů. Ale znát polohu elektronů znamená znát polohu atomu! A tady už je vyhráno, neboť je vyřešena prostorová struktura bio-makromolekuly.

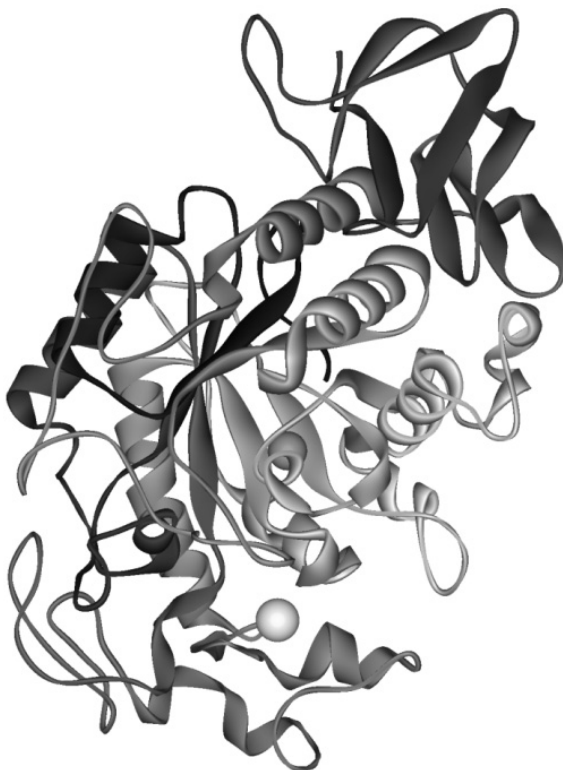
Takovou práci si dal proteinový krystalograf, aby zjistil strukturu makromolekuly. Ale k čemu vlastně? A jak to souvisí s tím praním?

Bio-makromolekuly plní v organizmech různé funkce – stavební, regulační, ochranou a obranou, fungují jako biokatalyzátory a podobně. Jsou to takoví malí šikovní roboti, že se často hodí, aby působili i jinde, než jen v daném organizmu. Odborníci z průmyslu například přišli na to, že když se enzymy amylasy, které dokáží v organismech štěpit škrob na jednodušší cukry, přidají k běžnému pracímu prostředku, dají se při praní snáze odstranit skvrny třeba od čokolády. No a skvrny od oleje nebo jiných tuků? Přidáme ještě lipasy (tedy enzymy, které dokáží štěpit tuky)! A na další skvrny zase další enzymy, a tak prací prostředky v dnešní době nejsou už jen mýdla, ale chytrá směs látek na všechny možné skvrny.

Tím, že proteinový krystalograf určil strukturu dané makromolekuly, začíná takzvané proteinové inženýrství, proces zabývající se pozměňováním struktury bílkovin s cílem zlepšit jejich vlastnosti pro konkrétní průmyslové využití. Bio-makromolekuly totiž pracují jen za určitých podmínek – v úzkém intervalu teplot nebo pH nebo při dané koncentraci solí či jiných pro protein důležitých látek. A v průmyslových aplikacích by se často hodilo, aby protein pracoval i za jiných podmínek – například v širším teplotním intervalu. Pak by prací prášek byl stejně účinný při praní jak na 30 °C tak na 60 °C. Ze znalosti prostorové struktury může proteinový krystalograf navrhnout takové změny ve struktuře, které způsobí požadované změny vlastností (obr. 3).

A tak díky objevu Wilhelma Conrada Röntgena a usilovnému a namáhavému bádání stovek dalších vědců dnes nejenže nemáme problémy s praním, ale můžeme si být jisti, že letadlům neupadnou křídla.





Obr. 3. Prostorová struktura enzymu  $\alpha$ -amylasa. Je to jeden z enzymů, které se používají v pracích prostředcích. Enzymy se velice často zobrazují tímto způsobem – smyčky, listy a šroubovice, protože kdybychom je nakreslili jako soubor teček, reprezentující jednotlivé atomy, nikdy bychom si nedokázali představit jejich prostorové uspořádání.

#### Literatura

- [1] Giacovazzo, C. et al.: *Fundamentals of Crystallography*. Oxford University Press, Oxford, 2002.
- [2] Rupp, B.: *Biomolecular Crystallography: Principles, Practice, and Application to Structural Biology*. Garland Science, 2009.
- [3] Pecharski, V., Zavalij, P.: *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials*. Second edition, Springer, 2008.