

Víz-HCN elegyek gőz-folyadék határfelületének vizsgálata számítógépes szimulációval - mit mondhatunk a 'HCN Világ' elméletről?

Fábián Balázs

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,
Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar
Anyagtudomány szakirányos vegyészmérnök hallgató

TÉMAVEZETŐK:

Dr. Jedlovsky Pál

MTA-BME Műszaki Analitikai Kémiai Kutatócsoport
Tudományos tanácsadó

Dr. Szőri Milán

SZTE JGYPK, Kémiai Informatika Tanszék
Főiskolai docens

— Budapest, 2014 —
—— Tudományos Diákköri Dolgozat ——

*Köszönettel tartozom témavezetőimnek, Jedlovsky Pálnak és Szőri Milánnak
útmutatásukért és építő jellegű tanácsaikért.*

*Köszönöm továbbá Marcello Segá és Hantal György segítségét, amelyet a szimulációk
és az analízis elvégzésében nyújtottak.*

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezető.....	4
2. A hidrogén-cianid prebiotikus jelentősége	6
3. A statisztikus mechanika alapjai	9
4. A molekuláris dinamikai (MD) szimulációk alapjai	13
4.1. A mozgásegyenletek integrálása	13
4.2. Az alkalmazott potenciálfüggvények	15
4.3. A periodikus határfeltételek és az Ewald-összegzés	17
5. Határfelületek vizsgálatának módszerei	19
6. Az általam elvégzett munka	23
6.1. Célkitűzés.....	23
6.2. A végrehajtott szimulációk.....	23
7. Az eredmények és értékelésük.....	28
7.1. A határfelületi réteg tulajdonságai.....	28
7.2. A felületi molekulák laterális önasszociációja	34
7.3. A felület és a tömbfázis közötti kicserélődés dinamikája	37
8. Összefoglalás.....	39
9. Irodalomjegyzék	40

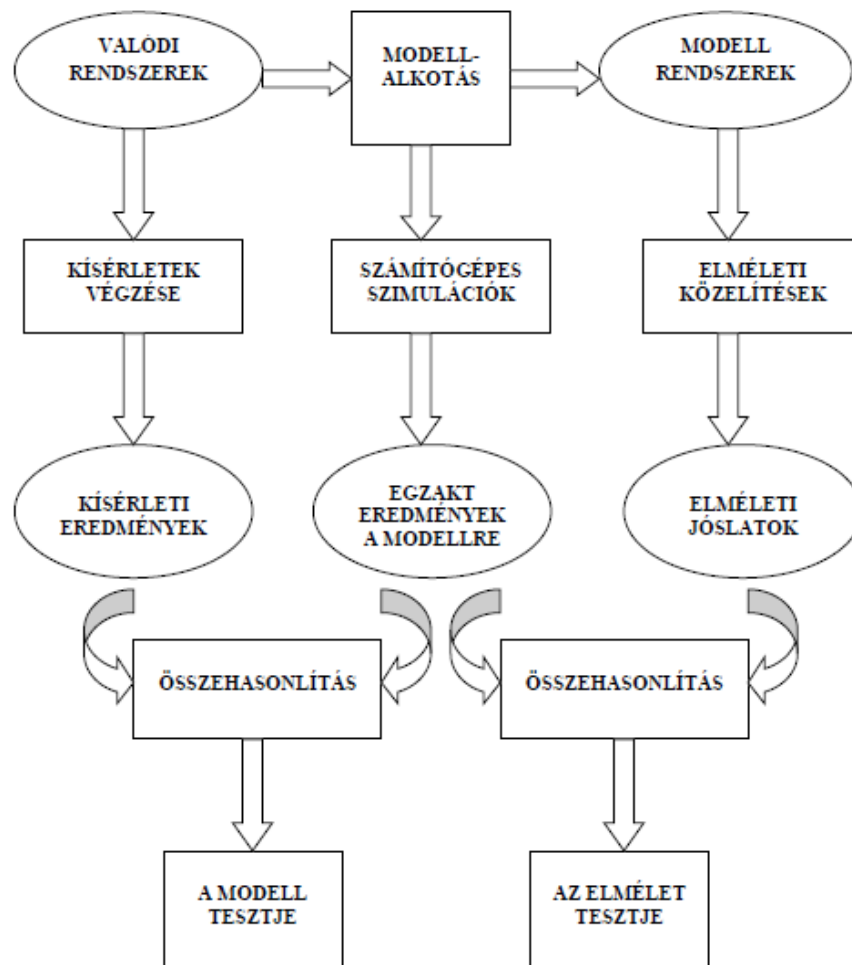
1. Bevezető

A természetben megfigyelhető jelenségek megértése utáni vágyakozás egyidős az emberiséggel. Míg őseinket az alapvető túlélés és a biztonságérzet növelése sarkallta a folyamatok megismerésére, addig napjainkban a technológiai fejlődés és az emberi kíváncsiság jelenti azt a hajtóerőt, amely a természettudományok számos ágának kialakulásáért és fejlődéséért felelős.

A megismerés legkézenfekvőbb eszközét a természetben végbemenő folyamatok közvetlen megfigyelése jelentette, amely megalapozta napjaink széles körű kísérleti módszereinek létrejöttét. Azonban számos olyan probléma akad, amely valamilyen természeti törvény vagy technológiai szempont miatt kívül esik a kísérleti módszerek vizsgálati körén. Ilyen akadályt jelent, ha a mérés fizikailag nem megvalósítható felbontást igényelne, vagy olyan körülmények szükségesek, amelyek nem kivitelezhetők, mint a szélsőséges nyomás vagy hőmérséklet.

A természet megértésére tett erőfeszítések egy másik eszköze az elméleti megközelítés, amely során a már megismert jelenségekhez próbáljuk hasonlítani az adott problémát. A vizsgálatok efféle módja olyan absztrakciókat igényel, mint a tömegpont, az ideális gáz vagy a tökéletes kristály, amik a valóságban nem léteznek, ellenben hasznos referenciaként szolgálhatnak.

A tudományos kutatás harmadik lehetséges útját jelenti a számítógépes szimulációk módszere, amelyek csak mostanában váltak fontossá, mivel a kielégítő minőségű szimulációhoz szükséges számítási és tárolási kapacitást csak az utóbbi évtizedek rohamos informatikai fejlődése tette lehetővé. Emellett a szimulációk igénye is csak mintegy száz éve merült fel, amikor a hozzá szükséges elméleti háttér kialakult. A szimulációk révén nem csak elképzeljük, hanem közvetlenül meg is figyelhetjük, hogy mi történne, ha a valódi rendszerünk úgy viselkedne, mint az általunk létrehozott modell. Ezt úgy is megfogalmazhatjuk, hogy míg a kísérlet a modell ellenőrzésére szolgál, addig a szimuláció az elmélet tesztjének szerepét tölti be. A tudományos megismerés három módszere közötti kapcsolatot az 1.1. ábra szemlélteti.



1.1. ábra: A számítógépes szimulációk helye a tudományokban [1]

A dolgozatban tárgyalt munkám során az erősen mérgező, ezért kísérletileg kevésbé vizsgált hidrogén-cianid határfelületi adszorpcióját tanulmányoztam. A kutatás célja a hidrogén-cianid lehetséges prebiotikus szerepének felderítése volt. A második fejezetben az ezzel kapcsolatos irodalmat tárgyalom, majd azt követően a szimulációs eljárások statisztikus mechanikai alapját és az általam használt módszer részleteit mutatom be. A hatodik és hetedik fejezetben az elvégzett számításokat és az azok alapján kapott eredményeket ismertetem.

2. A hidrogén-cianid prebiotikus jelentősége

A hidrogén-cianid (HCN) a Föld atmoszférájában legnagyobb mennyiségben előforduló nitrilvegyület, amelynek elsődleges forrása a különböző nitrogén tartalmú anyagok pirolízise. Laboratóriumi kísérletek alapján a biomassza égése jelentős mértékben hozzájárul a légkör hidrogén-cianid tartalmához [2-4], az ipari célú alkalmazásokat, mint például kémiai intermediereként történő felhasználását veszélyessége [5] miatt szigorúan szabályozzák.

Míg a közlekedésből származó kibocsátása elenyésző mértékű [3], addig többek között a kínai települések felszálló levegőjéből nagymennyiségű hidrogén-cianid emisszió mutatható ki, amely valószínűleg a lakosság nagymértékű biomassza tüzelőanyag felhasználásával magyarázható. Emellett a hidrogén-cianid jó nyomjelzőként használható erdőtüzekből eredő szennyezések [3,4] és a városi vagy természetes források elkülönítéséhez [6,7]. Ezenkívül hidrogén-cianid keletkezik a troposzférában villámlások során is, számottevően hozzájárulva a természetben megfigyelhető mennyiségéhez [7-9].

Az atmoszférikus hidrogén-cianid anyagszállását megvizsgálva, a HCN direkt fotolízise csak elhanyagolható mértékben játszik szerepet, így a hidrogén-cianid fotokémiai élettartama a troposféra felső rétegeiben körülbelül 5 évre becsülhető [10]. A trópusi óceánok feletti troposzférában végzett globális műholdas megfigyelések [11] hidrogén-cianidban elszegényedett területeket jeleznek [12]. Ez összhangban van azzal az elfogadott tudományos állásponttal, hogy az atmoszférikus hidrogén-cianid legnagyobb mennyisége nedves kimosódás útján kerül a trópusi óceánokba, míg forrása a biomassza égése $1,4\text{--}2,9 \text{ Tg(N)/év}$ mennyiséggel [3,4,13]. Számítások alapján a hidrogén-cianid átlagos élettartama a troposzférában így 2-5 hónapra tehető [3,4,13], és a hidrogén-cianid nitrogénkörforgáshoz való hozzájárulása fontos nitrogénforrást jelent az óceánoknak [13]. Az atmoszférikus hidrogén-cianid mennyiségét kémiai reakciók is csökkenthetik, amelyek közül a legjelentősebbek az OH, valamint az $\text{O}(^1\text{D})$ gyökökkel való reakciók. Ezek hatása a légköri hidrogén-cianid mennyiségére

azonban nem számottevő [4]. Hidrogén-cianid nemcsak napjainkban, hanem a Föld prebiotikus korszakában is keletkezhetett a villámlások nyomán.

Miller és Urey úttörő kísérletében [14] hidrogént, metánt, ammóniát és vízgőzt keringettek egy zárt rendszerben, miközben az elegyet elektromos szikrák hatásának tették ki. A reakcióelegyből többek között α - , β -alanint és glicint is sikerült kimutatniuk vékonyréteg-kromatográfiás (VRK) eljárás segítségével, amivel alátámasztották azt a feltételezést, hogy egyszerű gázelegegyekből az ősi légkörben valószínűsíthető körülmények között spontán alapvető aminosavak, azaz biológiai építőkövek képződhetnek. Az egyszerű fehérjék ilyen alapvető monomerek polikondenzációja révén alakulhattak ki. Miller és Urey kísérletét más összetételű gázelegegyekkel elvégezve hasonló eredményekre jutottak [15,16].

Milleréknek a képződött termékek minőségi analitikájára csak VRK állt a rendelkezésre, amely nem szolgáltat információkkal arról, hogy valójában a létrejött aminosavak a hidrogén-cianid polimerizációja során képződő polipeptidek további reakcióinak másodlagos termékei, és nem a Strecker-féle közvetlen, polikondenzációs útvonal eredményeként jöttek létre [17]. Később az eredeti mintákat modern GC-MS technikával is analizálták, amelynek segítségével sikerült egyéb, kis mennyiségben előforduló bioaktív vegyületeket, többek között további aminosavakat detektálniuk [18]. A primitív Föld légkörében található hidrogén-cianid biológiai molekulák létrejöttében játszott szerepét napjainkban már számos kutatási eredmény támasztja alá [19-23].

A hidrogén-cianid híg vizes elegyében a hidrolízis a domináns folyamat, amely során formamid keletkezik, míg koncentrált oldatában az oligomerizáció és ezáltal az aminosavak és peptidek képződése a jellemző. Hidrogén-cianid polimerek széles skálája keletkezik többek között folyékony hidrogén-cianid bázis katalizálta polimerizációjából, metán-ammónia gázkeverékek már említett szikrakisüléses kísérletei során, valamint amino-acetonitril alkáli hidrolízise révén is [24]. Az így nyert polimerek hidrolízisén keresztül a bőségesen keletkező glicin mellett sok más L-aminosavhoz juthatunk, mint az alanin, aszparaginsav, glutaminsav, szerin és a treonin [24].

Az evolúcióbiológusok számára a genetikai információ átíródása illetve megőrződése, valamint az azt segítő molekulák szintézise központi kérdést jelent. Ezen vizsgálatok során vetődik fel a kérdés: hogyan szintetizálódhatott RNS-

molekula RNS-polimeráz hiányában, hogyan polimerizálódhattak fehérjék a riboszómákban lévő RNS nélkül? Az alapvető biológiai építőegységek létrejöttének eme kérdése nem más, mint egy újszerű köntösben felbukkanó tyúk és tojás probléma, azaz, hogy mik voltak előbb, a fehérjék (enzimek) vagy a nukleinsavak (DNS és RNS) [25,26]? A „HCN világ” elmélet [24] alapján először a hidrogén-cianid polimer jött létre, majd ebből egyidejűleg képződtek a polipeptidek, polinukleotidok, protein-prekursorok és nukleinsavak. A hidrogén-cianid prebiotikus szerepét hangsúlyozza emellett az a tény is, hogy egy alapvető nukleobázis, az adenin – amely a DNS, az RNS és számos koenzim alkotórésze – formálisan a hidrogén-cianid pentamerje. Habár a hidrogén-cianid pentamerizációja adeninné erősen exoterm reakció, nagyon valószínűtlen, hogy gázfázisban végbemenjen, mivel a folyamat sebességét jelentős energetikai gát korlátozza. Vizes közegben a szolvatációs effektusok ugyan energetikailag kedvezőek – elősegítve a reakciót –, azonban a szükséges reaktív ütközésekhez kellően magas koncentráció szükséges [27].

A feltételezett prebiotikus földi körülmények széles tartományán végzett kísérletek alapján a hidrogén-cianid átlagos koncentrációja a hőmérséklettől függően 10^{-6} - 10^{-13} M nagyságrendbe esett [28]. A hidrogén-cianid primitív Földön betöltött prebiotikus szerepének és a „HCN világ” elképzelésnek ez az alacsony koncentráció a legjelentősebb ellenérve [29,30]. A probléma egyik lehetséges megoldása valamilyen koncentráló mechanizmus feltételezése. Tekintve, hogy a hidrogén-cianid illékonyabb, mint a víz, így az oldószer elpárolgása nem eredményezhetett töményebb oldatot. Alacsony hőmérsékletet feltételezve eutektikus fagyás során létrejöhet az aminosavak képződéséhez kellően koncentrált hidrogén-cianid. Formamidból hasonló eljárással glicin, alanin és aszparaginsav állítható elő [31].

Egyes kutatások szerint a prekambrium – a földkéreg megszilárdulásától a szilárd vázú állatok megjelenéséig tartó időszak – jellemző hőmérséklete a víz olvadáspontja felett lehetett, amely megkérdőjelezi az eutektikus fagyás hipotézisét [32]. Alternatív koncentráló mechanizmusként megvizsgálható a nagymennyiségben rendelkezésre álló folyékony víz határfelületén bekövetkező esetleges HCN adszorpció.

3. A statisztikus mechanika alapjai

Jelenlegi tudásunk alapján a természet alapvető törvényei mechanikus jellegűek, azaz a vizsgált rendszerek atomjai és molekulái a rájuk ható erők által meghatározott mozgásegyenleteknek engedelmeskednek. Ezek a precíz törvények meghatározzák egy rendszer időbeli evolúcióját, mivel leképeznek egy tetszőleges kiindulási állapotot bármely azt követő jövőbeli időpillanatra. A rendszer állapotát a klasszikus mechanika érvényessége esetén a molekulák pozíciói és sebességei, míg kvantummechanikai esetben a hullámfüggvény írja le. (A munkám során klasszikus rendszereken végeztem szimulációkat, így a továbbiakban a kvantummechanikai leírást nem tárgyalom.)

Mégis, hatalmas szakadék tátong a mindennapi életben megfigyelték és az előbb említett törvényszerűségek között. A Newton-féle mechanika egyenleteinek analitikus megoldása már három kölcsönható test esetén is lehetetlen feladatot jelent. A statisztikus mechanika az elméleti fizika azon ága, amely az ilyen, nagyszámú szabadsági fokokkal rendelkező rendszereket a valószínűségi számítás eszközeivel kívánja tanulmányozni.

A klasszikus mechanikában egy rendszer állapotát az azt alkotó részecskék helykoordinátái ($\mathbf{q}_i$) és impulzusai ($\mathbf{p}_i$) egyértelműen meghatározzák. Ennek nyomán bevezethető a *fázistér* fogalma. Egy N különálló részecskéből álló rendszer fázistere egy olyan absztrakt koordinátatengely-rendszer, amelyben minden hely- és impulzusvektor összes komponensének egy-egy tengely feleltethető meg.

A klasszikus fizikában a rendszer fázistérbeli reprezentációja egyszerűen *egy pont*. A hely- és impulzuskoordináták explicit függvényeként felírt Hamilton-függvény (H) adja meg e koordináták időbeli változását. Ilyenkor a rendszer állapotának változását a fázistérben minden H esetén egy görbe írja le.

Egy vizsgált rendszer valamilyen klasszikus mechanikában értelmezett dinamikus tulajdonsága olyan mennyiség, amelyet a fáziskoordináták egyértelműen meghatároznak. A környezetükkel egyensúlyban lévő rendszerekben ezek a dinamikus tulajdonságok egy adott átlagos érték körül ingadoznak, mérhető értékeik az időátlagok. Adott A dinamikus tulajdonságra így felírható a következő egyenlet:

$$\overline{A} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{\tau} \int_0^{\tau} A(\Gamma) dt . \quad 3.1.$$

Az egyenletben Γ jelöli röviden a fázistér egy $p_1, \dots, p_{3N}; q_1, \dots, q_{3N}$ pontját, τ a mérés időtartamát, a felülvonás pedig az időátlagot jelenti. Az egyenlet szerint az átlagolás a rendszer természetes időbeli evolúciója során bejárt *trajektórián* történik, és ez jelenti a molekuláris dinamikai (MD) szimulációk alapját.

Egy másik eljárás az időátlagolás helyett a rendszer független virtuális példányain történő, úgynevezett *sokaság* szerinti átlagolás, melyet a Monte Carlo (MC) szimulációk során alkalmaznak:

$$\langle A \rangle = \lim_{n \rightarrow \infty} \int P_N(\Gamma) A(\Gamma) d\Gamma . \quad 3.2.$$

Az egyenletben szereplő $P_N(\Gamma)d\Gamma$ a normált valószínűsége annak, hogy a rendszer másainak nagyszámú példányaiból felépített sokaság egy tagját megfigyelve, az Γ és $\Gamma + d\Gamma$ közé esik. A gyakorlatban használt $P_N(\Gamma)$ valószínűségi sűrűségfüggvények a Boltzmann-eloszlásból eredeztethetők, és megadják adott időpillanatban a sokaság elemeinek a fázistér egységnyi térfogatában lévő arányát.

Egyensúlyi rendszerekben az időátlag és a sokaságon történő átlagolás közötti ekvivalenciát, az *ergodikus hipotézist* először Boltzmann fejtette ki az energia ekvipartíciójáról szóló munkásságában [33]. A két átlagolási eljárás különbsége egy egyszerű hasonlattal szemléltetve az, hogy míg az időátlagolás során egyetlen pohár víz tulajdonságait követjük hosszú időn keresztül, addig a sokaságon való átlagolás során sok, azonos állapotban lévő pohár víz pillanatszerű vizsgálatával határozzuk meg a mérendő tulajdonságokat.

Mind a valós kísérletekben, mind számításokban bizonyos makroszkopikus tulajdonságok rögzítése szükséges a feladatok megoldásához. A statisztikus mechanikában ezek a mennyiségek – mint a hőmérséklet vagy a térfogat – megkötéseknek jelentenek a fázistérre vonatkozóan, amelyek az alkalmazott statisztikus sokaságokon keresztül épülhetnek be a problémába.

A valóságos kísérletek túlnyomó többsége állandó részecskeszám (N) és állandó hőmérséklet (T) mellett, állandó térfogaton (V) vagy nyomáson (p) történik. Ezek alapján lehet szó kanonikus sokaságról (NVT) vagy izoterm-izobár sokaságról (NpT). A sokaságot jellemző rögzített változók megválasztásakor szükséges legalább egy extenzív paraméter, amely meghatározza a rendszer méretét.

Az NVT sokaság segítségével olyan zárt – állandó részecskeszámú – rendszereket írhatunk le, amelyek egy adott hőmérsékletű végtelenül nagy hőtartállyal vannak termikus egyensúlyban és térfogatuk rögzített. A sokaságra jellemző valószínűségi sűrűségfüggvény a következő:

$$P_N(\Gamma) = \frac{\exp(-H/k_B T)}{\int \dots \int \exp(-H/k_B T) d\Gamma} \quad 3.3.$$

Az egyenletben szereplő H a rendszer Hamilton függvénye amely – konzervatív rendszerekről lévén szó – megegyezik a teljes energiával, T az abszolút hőmérséklet, míg k_B a Boltzmann állandó. Az egyenletből látható, hogy a $P_N(\Gamma)$ függvény normált.

Az NpT sokaság szintén hőtartállyal egyensúlyban lévő zárt rendszerekre alkalmazható, viszont ebben az esetben egy barosztáttal is kapcsolatban van, azaz a térfogat helyett a nyomás a rögzített. A sokasághoz tartozó függvény a következő:

$$P_N(\Gamma) = \frac{\exp(-(H + pV)/k_B T)}{\int \dots \int \exp(-(H + pV)/k_B T) d\Gamma} \quad 3.4.$$

Ebben az egyenletben az előzőhöz képest figyelembe kell venni a pV szorzatot, amely a térfogati munkát, egy energia jellegű mennyiséget takar. A sokaságoknak, mint a fázistér valamilyen mesterséges szűkítéseinek létjogosultságát igazolja, hogy a különböző sokaságokon számított átlagos tulajdonságok egymással konzisztensek makroszkopikus méretű rendszerek esetén.

A modern számítógépes eljárások előtt az egyetlen lehetséges mód valamely molekuláris rendszer tulajdonságainak meghatározására a rendelkezésre álló elméletek és közelítések felhasználása volt. Napjainkban a numerikus számítások – mint az MD és MC szimulációk – az alkalmazott modellrendszer keretein belül

gyakorlatilag egzakt megoldást kínálnak a problémákra. A szimulációk egy kezdeti fázispontból kiindulva az adott sokaságra jellemző $P_N(\Gamma)$ valószínűségi sűrűségfüggvénnyel arányos konfigurációkat eredményeznek, amelyeken az átlagolást elvégezve kiszámíthatók a fizikai mennyiségek. Dolgozatom következő fejezetében az általam is felhasznált molekuláris dinamika módszerét ismertetem részletesebben.

4. A molekuláris dinamikai (MD) szimulációk alapjai

4.1. A mozgásegyenletek integrálása

Az MD szimulációk során a vizsgált rendszer részecskéire vonatkozó mozgásegyenletek megoldása szolgáltatja a különböző fizikai mennyiségek átlagolásához szükséges trajektóriát, és így a fázistérből vett reprezentatív mintát. Minden mechanikai rendszer esetén felírható az ún. Hamilton (H) függvény, amely a kinetikus és potenciális energia összege:

$$H(\mathbf{p}^N, \mathbf{q}^N) \equiv \sum_{i=1}^N \frac{\mathbf{p}_i^2}{2m_i} + V(\mathbf{q}^N). \quad 4.1.$$

Ez a kifejezés jelenti a konzervatív rendszer teljes energiáját. Az első, kinetikus tagban az egyedi részecskék impulzusvektora ($\mathbf{p}^N$) és tömege (m_i) szerepel, míg a második tag a potenciális energia, ami a részecskék helykoordinátáitól ($\mathbf{q}^N$) függ. Ebből a kifejezésből származtathatók a Hamilton-féle kanonikus mozgásegyenletek:

$$\dot{\mathbf{q}}_i = \frac{\partial H(\mathbf{p}^N, \mathbf{q}^N)}{\partial \mathbf{p}_i} = \frac{\mathbf{p}_i}{m_i}, \quad 4.2.$$

illetve

$$\dot{\mathbf{p}}_i = -\frac{\partial H(\mathbf{p}^N, \mathbf{q}^N)}{\partial \mathbf{q}_i} = -\frac{\partial V(\mathbf{q}^N)}{\partial \mathbf{q}_i} \equiv \mathbf{F}_i. \quad 4.3.$$

A két egyenlet valójában egy $6N$ egyenletből álló elsőrendű differenciálegyenlet-rendszert takar. Ezeket a Newton-féle mozgásegyenletekkel összevetve látható, hogy elsőrendű sebesség-impulzus és impulzusváltozás-erő egyenletpárokká alakítják a klasszikus gyorsulás-erő másodrendű egyenleteket.

Az így kapott egyenletrendszer számos szempontból könnyebben kezelhető, mint a Newton-féle egyenletek, viszont analitikus megoldásuk így is lehetetlen a

szabadsági fokok nagy száma miatt. Ennek ellenére, a megfelelő numerikus módszerekkel együtt nélkülözhetetlen eszközt jelentenek a statisztikus mechanikai rendszerek tanulmányozásához.

Napjainkig a legnagyobb jelentőségű és legelterjedtebb integráló eljárás a véges különbségek módszerén alapuló Verlet-Strömer algoritmus [1]. Az általános séma az, hogy megadott molekuláris pozíciók, sebességek, gyorsulások és egyéb dinamikai információk (magasabb rendű deriváltak) egy kezdeti t_0 időpillanatban vett értékei alapján kellő pontossággal meghatározzák értéküket Δt idő elteltével. Az algoritmus levezetésének első lépése a helyvektor analitikus függvényének Taylor-féle sorfejtése egy t_0 időpillanat körül, majd meghatározása $t_0 + \Delta t$ és $t_0 - \Delta t$ időpontokban. Az így kapott két egyenlet:

$$\mathbf{q}_i(t_0 + \Delta t) = \sum_{n=0}^{\infty} (\Delta t)^n \frac{1}{n!} \frac{\partial^n \mathbf{q}_i}{\partial t^n}(t_0) \quad 4.4.$$

és

$$\mathbf{q}_i(t_0 - \Delta t) = \sum_{n=0}^{\infty} (-1)^n (\Delta t)^n \frac{1}{n!} \frac{\partial^n \mathbf{q}_i}{\partial t^n}(t_0) \quad 4.5.$$

A két egyenlet összeadásával és a negyed- és magasabb rendű tagok elhanyagolásával származtatható a molekuláris pozíciók megváltozásának egyenlete:

$$\mathbf{q}_i(t_0 + \Delta t) = 2\mathbf{q}_i(t_0) - \mathbf{q}_i(t_0 - \Delta t) + (\Delta t)^2 \ddot{\mathbf{q}}_i(t_0) + o((\Delta t)^4). \quad 4.6.$$

Az egyenlet alapján az új pozíciók negyedrendű hibával számolhatók a korábbi két pozíció és egyetlen második derivált segítségével. Az eljárás a sebességet nem tartalmazza explicit módon, amely viszont a pillanatnyi hőmérséklet és a kinetikus energia, és ezáltal a teljes energia meghatározásának alapja. A sebesség számítására szolgáló egyenlet:

$$\dot{\mathbf{q}}_i(t) = \frac{\mathbf{q}_i(t + \Delta t) - \mathbf{q}_i(t - \Delta t)}{2\Delta t} \quad 4.7.$$

Ez alapján a sebesség a jelenlegi és a két lépéssel ezelőtti pozícióból következik. A módszer hátránya, hogy ellentétben a pozícióval, a sebességek hibája már másodrendű. A pontosság növelhető több változó tárolásával és prediktor-korrektor típusú algoritmusok alkalmazásával, amelyek egy kezdeti, durva becslést finomítanak iteratív úton, míg a kívánt pontosságot el nem érik.

Semmilyen numerikus algoritmustól nem várható el a teljes pontosság. Olyan rendszerekben, ahol kizárólag a számítógép véges pontossága a hibaforrás, már néhány szimulációs lépés után is a különböző pontossággal végzett futtatások konfigurációi minden korrelációt nélkülöznek. Ez akár az MD szimulációk végét is jelenthetné. A problémára az a gondolat jelent megoldást, hogy a szimuláció a valóságos kísérletek mintájára nem egy darab molekuláris konfiguráció, hanem egyensúlyi konfigurációk sokaságának leírására hivatott, azaz a fázistér egy adott térfogatának időbeli evolúcióját jellemzi.

A viszonylag egyszerűen programozható Verlet-módszer memóriaigénye kicsi, időben reverzibilis és az energia-megmaradás szempontjából is kielégítő. Az integrálás Δt időlépésének megfelelő megválasztása kulcsfontosságú a szimulációk szempontjából. A gyakorlatban célravezető olyan időlépés használata, amely kisebb a molekulák leggyorsabb mozgásának (transzláció vagy vibráció) karakterisztikus idejénél. Ennél fogva a molekuláris dinamikai szimulációk jellemző időlépése *femtosekundum* nagyságrendű.

4.2. Az alkalmazott potenciálfüggvények

A Verlet-algoritmus önmagában még nem elegendő a szimulációk elvégzéséhez, ahhoz a mozgásegyenletek, azaz a molekulákra ható erőből eredeztethető gyorsulások is szükségesek. A megfelelő potenciálfüggvény kiválasztása hatalmas jelentőséggel bír a szimulációk szempontjából, mivel ez testesíti meg a vizsgált részecskék közötti kölcsönhatásokat. Előnyös, ha a potenciálfüggvény analitikusan deriválható, mivel a részecskékre ható erők a $V(\mathbf{q}^N)$ potenciálfüggvény negatív gradienseként számíthatók.

Egy konzervatív rendszer potenciális energiája a következőképp írható fel:

$$V(\mathbf{q}^N) = \sum_{i=1}^N v_1(\mathbf{q}_i) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N v_2(\mathbf{q}_i, \mathbf{q}_j) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \sum_{\substack{k>i \\ k>j}}^N \Delta v_3(\mathbf{q}_i, \mathbf{q}_j, \mathbf{q}_k) + \dots + \Delta v_N(\mathbf{q}_1, \mathbf{q}_2, \dots, \mathbf{q}_N). \quad 4.8.$$

Az egyenlet első tagja a részecskékre ható külső tér hatását reprezentálja, a második a molekulapárok kölcsönhatási energiája, amely – izotróp rendszerek esetében – a két részecske közötti távolság függvénye. A harmadik tag a részecskehármasok többletenergiáját takarja az izolált részecskepárokhoz képest. Az összes többi tag hasonlóan értelmezhető. A legutolsó tag a potenciális energia azon része, amely nem szerepel az azt megelőző tagokban. Habár a háromtest kölcsönhatás tagadhatatlan jelentőséggel bír a folyadékok tulajdonságainak meghatározásában [34], nagy időigénye miatt általában nem alkalmazható közvetlenül a szimulációkban. A probléma megoldásának módja a három- és többtest kölcsönhatások beleépítése a kéttest kölcsönhatásba. Az így kapott potenciál csak egy- és kétrészecskés tagokat tartalmaz:

$$V(\mathbf{q}^N) \approx \sum_{i=1}^N v_1(\mathbf{q}_i) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N v_2^{eff}(\mathbf{q}_i, \mathbf{q}_j). \quad 4.9.$$

A potenciális energia egyenletében így megjelenik az úgynevezett $v_2^{eff}(\mathbf{q}_i, \mathbf{q}_j)$ *effektív* kétrészecske potenciál, ami értelemszerűen nem azonos $v_2(\mathbf{q}_i, \mathbf{q}_j)$ -vel, mivel a potenciális energia magasabb rendű tagjainak átlagos hatását is figyelembe veszi közelítő módon. Ellentétben az egzakt párpotenciállal, az egyszerűsítésekből kifolyólag az effektív potenciál függhet a hőmérséklettől és sűrűségtől és egyéb paraméterektől. Szimulációkban gyakran semmilyen külső erő nem hat a részecskékre, így számos esetben az első tag is elhagyható, ami tovább gyorsítja a szimulációt.

A gyakorlatban széles körben alkalmazott, valóságos kölcsönhatások jellegzetességeit megragadó Lennard-Jones potenciál nem teljesen merev, az atomok képesek kismértékű összenyomódásra. A folytonos potenciálfüggvény alakja:

$$V_{\text{LJ}}(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right], \quad 4.10.$$

ahol ϵ a potenciálgödör mélységét jelenti, míg σ az a véges távolság, ahol a potenciál értéke zérus.

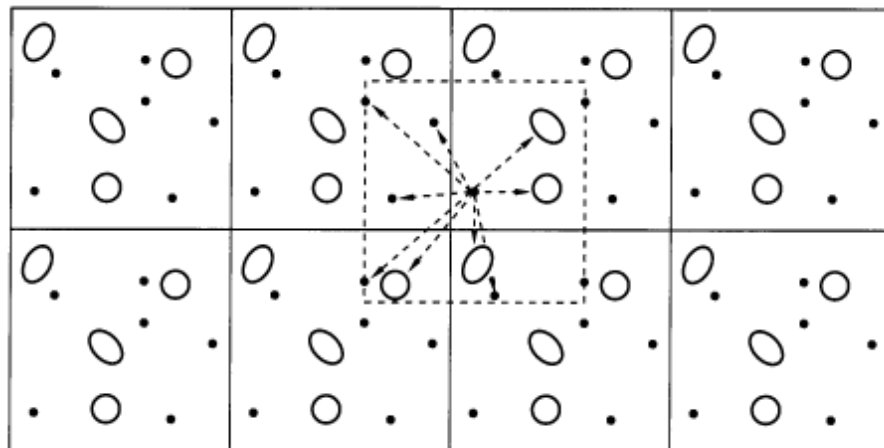
Amennyiben a rendszerben található részecskék rendelkeznek (parciális) töltéssel, akkor a teljes potenciális energiához figyelembe kell venni a töltések közötti Coulomb-kölcsönhatásból származó járulékot is:

$$V_{\text{C}}(r) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_A q_B}{r}, \quad 4.11.$$

ahol ϵ_0 a vákuum permittivitása, q_A és q_B pedig az A és B típusú részecske töltése.

4.3. A periodikus határfeltételek és az Ewald-összegzés

A szimulációk során felvetődő probléma, hogy a szimulációs doboz felületi részecskéinek aránya jelentősen eltér a makroszkopikus rendszerekben tapasztalhatótól. Kis rendszerekben, alacsony részecskeszám esetén nem hanyagolhatók el azok az effektusok, amelyek azért lépnek fel, mert a fázis felületén lévő molekulák más környezetben érzik magukat, mint a tömbfázisban. Az ebből eredő hatások a potenciális energiában is megmutatkoznak.



4.1. ábra: Periodikus határfeltételek [35]

Ennek a problémának a kiküszöbölésére alkalmas a *periodikus határfeltételek* 4.1. ábrán látható alkalmazása, amikor a szimulációs dobozt annak az élhosszával periodikusan eltolt képmásai veszik körbe a tér minden irányából. Ezáltal az egyik oldalon kilépő részecske a doboz másik oldalán tér vissza, és így gyakorlatilag végtelenül nagy rendszert valósíthatunk meg, amiben viszont számolnunk kell fizikai tartalommal nem rendelkező periodicitással.

Az általunk mesterségesen bevitt periodicitás miatt bármilyen tulajdonság számításakor minden részecskének csak a többiek hozzá legközelebb eső képmásával való kölcsönhatását vizsgáljuk explicit módon. A távolsággal erősen csökkenő kölcsönhatások esetében, mint a Lennard-Jones potenciál, ez nem okoz jelentősebb pontatlanságot, viszont egyszerűsíti a kölcsönhatások számolását. Coulomb-kölcsönhatás esetében azonban az így végrehajtott levágás komoly hibát eredményez, amit korrigálni kell.

Az egyik legelterjedtebb módszer a hosszú távú kölcsönhatás korrekciójára az *Ewald-összegzés* [36]. Az eljárás figyelembe veszi a részecske kölcsönhatását az összes többivel és azok összes eltolt képmásával. A módszer során a feltételesen (az összegzés sorrendjétől függően) konvergens potenciális energiát szétválasztjuk két tagra. Az első tag a rövidtávú kölcsönhatás, amelyet a valós térben számolunk, míg a másik a hosszú távú járulék, amit viszont Fourier-transzformáció segítségével kaphatunk meg. A módszer így gyorsan konvergál, és pontos eredményt nyújt.

5. Határfelületek vizsgálatának módszerei

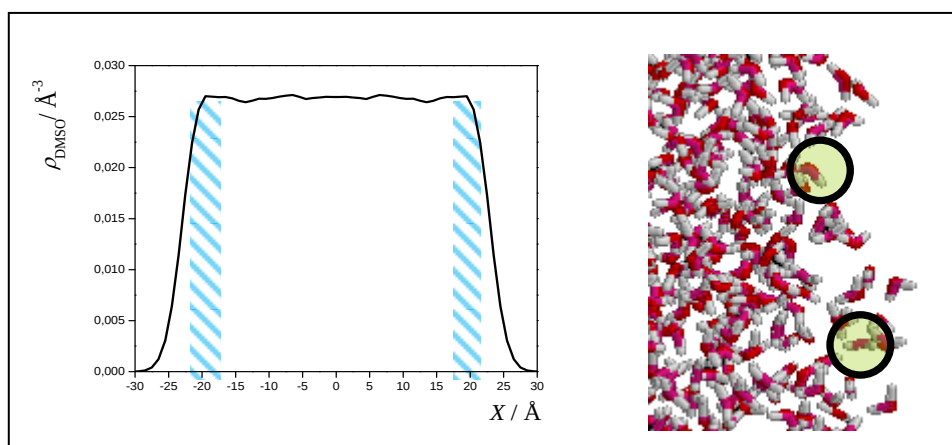
A két fluid fázis között jelenlévő, makroszkopikus megközelítésben tökéletes síkként reprezentálható határfelület közelebbről tanulmányozva egy folyamatosan változó réteg, amelyben a molekulák folyamatos mozgása kis amplitúdójú, úgynevezett kapilláris hullámokat kelt. Emellett a felületi réteg és a tömbfázis között is állandóan cserélődnek a molekulák, azaz a rendszer e részei egymással dinamikus egyensúlyban vannak [37].

A határfelületek különlegessége, hogy az azonos anyagi minőség ellenére a tömbfázistól eltérő tulajdonságokat mutatnak. Többek között a tömbfázisban termodinamikailag nem kedvező reakciók, mint például az aminosavakból történő peptidképződés a határfelületen már spontán körülmények között lejátszódhatnak [38]. Emellett a rohamosan fejlődő nanotechnológia révén létrehozott rendszerek speciális tulajdonságai is a határfelületi effektusoknak köszönhetők. Nem csoda, hogy napjainkban jelentős igény mutatkozik a határfelületi jelenségek részletes, molekuláris szintű megismerése iránt.

Számos kísérleti technikát fejlesztettek ki, amelyek kiválóan alkalmasak a határfelületi rétegek tanulmányozására. Ezek közé tartoznak az úgynevezett nemlineáris spektroszkópiai módszerek [39], mint az összegfrekvencia keltési spektroszkópia (Sum Frequency Generation Spectroscopy) vagy második felharmonikus keltési spektroszkópia (Second Harmonic Generation Spectroscopy), bár e módszerek költségeik és bonyolultságuk miatt egyelőre még kevésbé terjedtek el. Ide tartoznak továbbá a röntgen- és neutronreflexiós eljárások [40] is, amelyekkel szintén vizsgálhatók a határfelületek tulajdonságai. A kísérleti eljárások során további probléma a jól definiált határfelületek kialakításának nehézsége, amelynek tulajdonságait akár kismennyiségű ismeretlen szennyező is nagymértékben képes módosítani.

A kísérleti eredmények alátámasztására és kiegészítésére megfelelő eszközt jelentenek a számítógépes szimulációk, amelyek – a használt modell keretein belül – atomi szintű felbontásban képesek megmutatni a határfelületeken végbemenő folyamatokat.

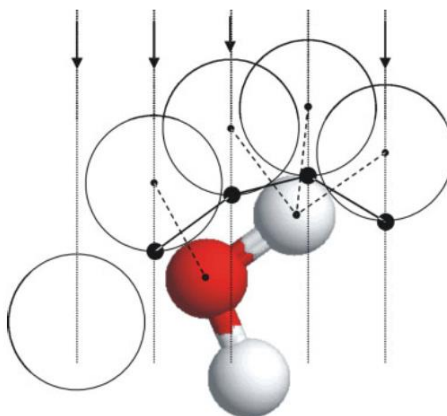
A számítógépes vizsgálatokat megnehezíti, hogy molekuláris felbontásban a határfelület definiálása nem triviális, a felület kapilláris hullámoktól érdekes. A legegyszerűbb módszer a felület definiálására az arra merőleges irányban felvett sűrűségprofilon alapszik. Ebben az esetben az állandó sűrűségű rész jelenti a tömbfázist, míg a görbe átmeneti sűrűségű szakasza a felületi részecskéket. Mivel az eljárás nem veszi figyelembe a felület kapilláris hullámok által okozott érdességét, így a módszer ismeretlen nagyságú rendszeres hibával terhelt.



5.1. ábra: A sűrűségprofil alapján történő analízis hibájának forrása [41]

A 5.1. ábrán látható, hogy a sűrűségprofil átmeneti sűrűségű tartományán alapuló analízis során található olyan molekulák, amelyek ugyan az átmeneti sűrűségű régióban tartózkodnak, azonban minden oldalról körül vannak véve hasonló molekulákkal, azaz a tömbfázishoz tartoznak. Olyan molekulák is megfigyelhetők, amelyek a sűrűségprofil tömbfázishoz tartozó részére esnek, mégis közvetlenül érintkeznek az ellenkező fázissal, így valójában a határfelületi réteghez tartoznak. Az így definiált rétegen számított szerkezeti és termodinamikai tulajdonságok nagyságrendbeli hibákat is mutathatnak [42-44].

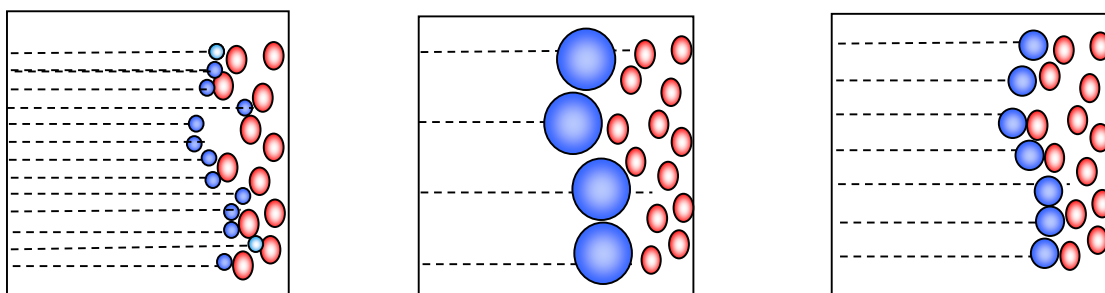
A probléma kiküszöbölésére számos eljárást dolgoztak ki. Ezek közé tartozik az ITIM (Identification of Truly Interfacial Molecules) módszer [42], amely a felületen lévő molekulák teljes listáját megadva definiálja a határfelületet. Legnagyobb előnye, hogy megfelelő alkalmazása esetén kis számításigény mellett szolgáltat pontos eredményt, továbbá az analízis során azonosított felületi molekulák képzeletbeli eltávolításával lehetőség nyílik a felület alatti további molekuláris rétegek meghatározására is.



5.2. ábra: Az ITIM módszer alapelve [42]

A módszer során – az 5.2. ábrán látható módon – egyenlő távolságra lévő rácsvonalak mentén R_p sugarú virtuális próbagolyót ejtünk a felületre annak makroszkopikus síkjára merőlegesen az ellenkező fázis belsejéből. Amennyiben egy molekula ütközik a próbagolyóval, megállítja azt, és az eljárás az adott molekulát határfelületinek tekinti. A próbagolyót minden tesztvonal mentén elmozgatva a vele ütköző molekulák listája – azaz a határfelületi rétegben tartózkodó részecskék teljes halmaza – meghatározható. Értelmszerűen, a próbagolyó és a részecskék ütközésének meghatározásához ismerni kell a golyó és a felület molekuláinak sugarát.

Az ITIM analízis során használt atomsugarakat a szimulációban használt paraméterekkel szokás megadni. A próbagolyó R_p sugarának megválasztása nagymértékben befolyásolja az analízis minőségét. Értékét célszerű úgy meghatározni, hogy a vizsgált rendszer atomjainak sugarával összemérhető legyen.



5.3. ábra: A próbagolyó R_p sugarának hatása a felületi molekulaként azonosított részecskék listájára [41]

Az 5.3. ábra alapján nyilvánvaló, hogy túlzottan kis R_p esetében a próbagolyó átjuthat a határfelületi molekulák között, ezzel felületi molekulaként azonosítva számos, valójában a tömbfázishoz tartozó részecskét. A golyó sugarát túlzottan megnövelve az nem fog minden felületi molekulát érinteni. A sugár helyes megválasztásával végzett analízis révén értékes információ nyerhető a felület szerkezetéről, annak adszorpció tulajdonságairól és összetételéről, emellett a segítségével tanulmányozhatók a felületi molekulák jellemző orientációi és a határfelületi réteg és a tömbfázis közötti kicserélődés folyamata is. Dolgozatomban e jelenségek vizsgálatának és a szükséges mennyiségek meghatározásának menetét az eredményeket tárgyaló részben fejtem ki bővebben.

6. Az általam elvégzett munka

6.1. Célkitűzés

Munkám során molekuláris dinamikai szimulációk segítségével tanulmányoztam HCN-víz elegyek határfelületi tulajdonságait. A számítások elvégzéséhez a GROMACS (GRONingen MACHine for Chemical Simulations)[45,46] programcsomagot és az ITIM felületanalizáló programot [47] használtam fel. Elsődleges célom a „HCN-világ” hipotézist esetlegesen alátámasztó határfelületi adszorpció vizsgálata volt. Célom volt még, hogy kimutassak egyéb, a hipotézis hitelét növelő határfelületi effektusokat, amelyek a hidrogén-cianid lokális koncentrációját tovább növelve elősegíthetik a polimerizációt, hozzájárulva az élet kialakulásához szükséges alapvető építőelemek létrejöttéhez.

6.2. A végrehajtott szimulációk

A szimulációk első lépése a részecskék kölcsönhatását meghatározó modellpotenciál kiválasztása. A rendszerben található vízmolekulák modellezésére a TIP4P (Transferable Intermolecular Potentials – 4 Point) potenciált [48], míg a hidrogén-cianid leírására az OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations) erőteren alapuló Kotdawala-féle potenciált [49] használtam. Az atomok Lennard-Jones paramétereit és parciális töltéseit a 6.1. táblázat tartalmazza. A szimulációk során a rendszer teljes potenciális energiáját – a 4.9. egyenlet alapján – a molekulák párkölcsönhatásainak összegeként számoltam. A két molekula közötti kölcsönhatás energiáját az atomjaik között ható Lennard-Jones (4.10.) és Coulomb-féle (4.11.) potenciál összegeként írtam le. A különböző atompárok közötti Lennard-Jones potenciál kölcsönhatási paramétereit a Lorentz-Berthelot szabály [1] szerint számítottam:

$$\varepsilon_{ab} = \sqrt{\varepsilon_a \varepsilon_b}, \quad 6.1.$$

illetve

$$\sigma_{ab} = \frac{\sigma_a + \sigma_b}{2} . \quad 6.2.$$

A fenti egyenletekben az a a víz illetve a b a hidrogén-cianid molekulák atomjait és kölcsönhatási helyeit jelöli. Az atomok kölcsönhatását a 15 Å csonkolási távolság felett nem számítottam, a hosszú távú Coulomb-kölcsönhatást az Ewald-összegzés Particle Mesh Ewald [50] implementációjával vettem figyelembe.

Molekula	atom	q/e	$\sigma/\text{\AA}$	$(\varepsilon/k_B)/K$
Hidrogén-cianid	H	0,15	0,0	0,0
	C	0,28	3,63	77,0
	N	-0,43	3,20	88,0
Víz	O	0,0	3,154	78,06
	H	0,52	0,0	0,0
	M*	-1,04	0,0	0,0

*: virtuális atom, kizárólag töltéssel rendelkező kölcsönhatási hely

6.1. táblázat: Az alkalmazott potenciálmodellek

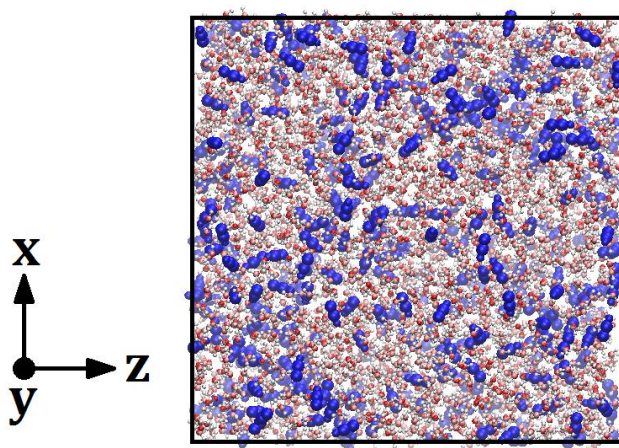
A számítások elvégzéséhez kezdeti konfigurációk szükségesek, azaz fel kell tölteni egy szimulációs dobozt a kívánt mennyiségű molekulával. Ez történhet valamilyen szabály alapján kristályszerkezetben, vagy akár véletlenszerűen beszúrva a részecskéket. A futtatások időtartamát nagymértékben csökkenti, ha olyan konfigurációt alkalmazunk, amelyek közel vannak az egyensúlyhoz. Az így kapott elrendezés molekulái között a Maxwell-Boltzmann eloszlásnak megfelelően osztjuk ki a részecskék kezdeti sebességeit. A futtatásokhoz olyan 4000 molekulából álló konfigurációkat hoztam létre, amelyek 0, 120, 200, 400, 600, 800, 1200 illetve 4000 darab hidrogén-cianidot tartalmaztak. Ezekre a továbbiakban mólszázalékuknak megfelelően rendre mint 0% HCN, 3% HCN, 5% HCN, 10% HCN, 15% HCN, 20% HCN, 30% HCN illetve 100% HCN rendszerként fogok hivatkozni.

A szimulációs doboz feltöltése és a számítások elvégzése során a rendszerekben nem volt szükséges figyelembe venni a hidrogén-cianid disszociációját. Mivel a HCN nagyon gyenge sav ($pK_a = 9,2$), az általam használt teljes molekulaszám mellett akár

egyetlen CN⁻-ion is túlbecsülné az ionizált forma mennyiségét még a legtöményebb oldat esetében is.

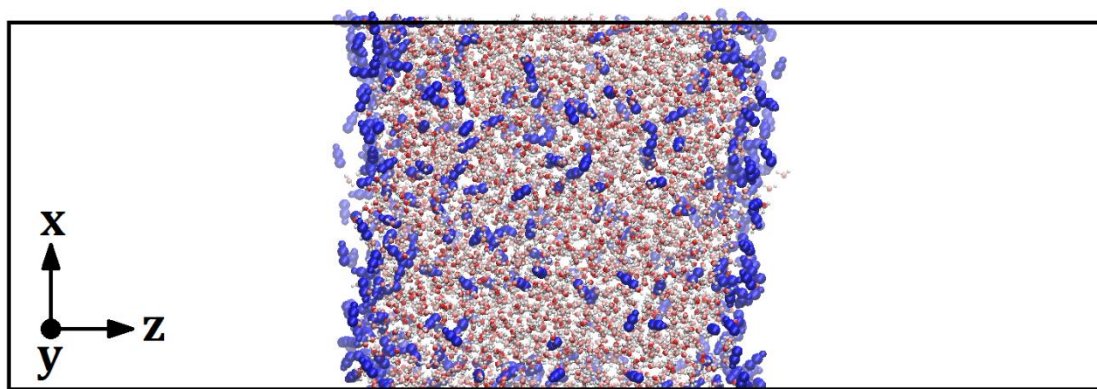
A dobozok X és Y tengelyei alkották a makroszkopikus határfelülettel párhuzamos síkot. A szimulációs doboz élhosszai ezen tengelyek mentén minden esetben 50 Å hosszúságúak voltak, míg a Z tengely hossza a rendszerek eltérő sűrűsége miatt kis mértékben változott 50-75 Å között.

A szimuláció első fázisában a létrehozott dobozokat az NpT sokaságon, azaz rögzített részecskeszám (4000 darab), nyomás (1 bar), hőmérséklet (273 K) és X illetve Y élhossz (50 Å) rögzítése mellett ekvilibráltam. A nyomás és a hőmérséklet esetében a prebiotikus Földön valószínűsíthető, és az élet kialakulásával jelenlegi tudásunk szerint összeegyeztethető értékekkel dolgoztam. A víz esetében a 273 K az alkalmazott potenciál miatt nem jelent fagyáspontot, mivel a használt TIP4P vízmodell olvadáspontja körülbelül 229 K [51]. A részecskéket a számítások során merev testként kezeltem. A víznél a SETTLE [52], míg a HCN molekulák esetén a LINCS [53] algoritmus segítségével értem ezt el. A 273 K-en történő termosztálás a Nosé-Hoover algoritmus [54,55] használatával történt. Az ekvibrációt 2 ns-on keresztül, 1 fs időlépéssel végeztem. A futás végén a doboz sűrűsége a rákényszerített NpT feltételek által meghatározott érték körül fluktuált. Egy így kapott konfiguráció, amelyet a további számításokhoz használtam, az 6.1. ábrán látható.



6.1. ábra: Ekvilibrált szimulációs doboz a határfelület létrehozása előtt (10% HCN) [56]

Következő lépésben létrehoztam a határfelületet a doboz Z tengely menti élhosszának megnövelésével. Az új szimulációs doboz Z tengely menti élhossza minden esetben $300 \text{ \AA}$ lett. A futtatásokat ekkor kanonikus (NVT) sokaságon folytattam, azaz a nyomás helyett most a térfogatot rögzítettem, hogy megőrizsem a kialakított határfelületet. A mesterségesen létrehozott új felület miatt a rendszert ismét 2 ns ideig, 1 fs időlépéssel ekvilibráltam. A számításhoz szükséges adatok gyűjtését ezen kiindulási konfigurációk segítségével végeztem. Egy ilyen rendszerről készült pillanatfelvétel látható a 6.2. ábrán.

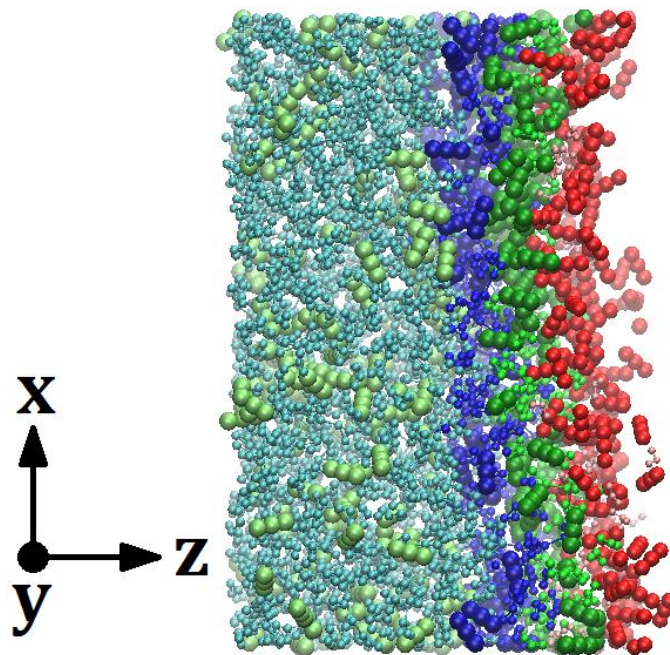


6.2. ábra: Ekvilibrált szimulációs doboz a kialakított határfelülettel (10% HCN) [56]

Az egyensúlyba hozott rendszer trajektóriájának konfigurációit a produkciós szakaszban mentettem el. A szimuláció ismét 2 ns hosszúságú volt és 1 fs időlépéssel történt, miközben egyenletesen, 1 ps időközönként 2000 konfigurációt gyűjtöttem össze a további elemzéshez.

Az összegyűjtött konfigurációkon ITIM analízist végeztem. Az XY síkra merőlegesen 100×100 tesztvonal mentén határoztam meg a felületi molekulákat a doboz mindkét oldalán. A különböző rendszereken végzett analízis során a próbagolyó sugara minden esetben $1,25 \text{ \AA}$ volt, amely megfelel a Jorge és munkatársai által vízre meghatározott optimális értéknek [57]. Végül, a már megtalált felületi molekulák eltávolítása után az eljárást még kétszer megismételtem. A módszer segítségével megkaptam a felületi és az alatta lévő két rétegben található hidrogén-cianid és vízmolekulák teljes listáját. A számolások során minden mennyiséget a szimulált rendszer két határfelületére is átlagoltam,

amit a továbbiakban külön nem tüntetek fel. Az ITIM analízis eredményeként a szimulációs doboz egyik felében kapott rétegeket az 6.3. ábra szemlélteti.

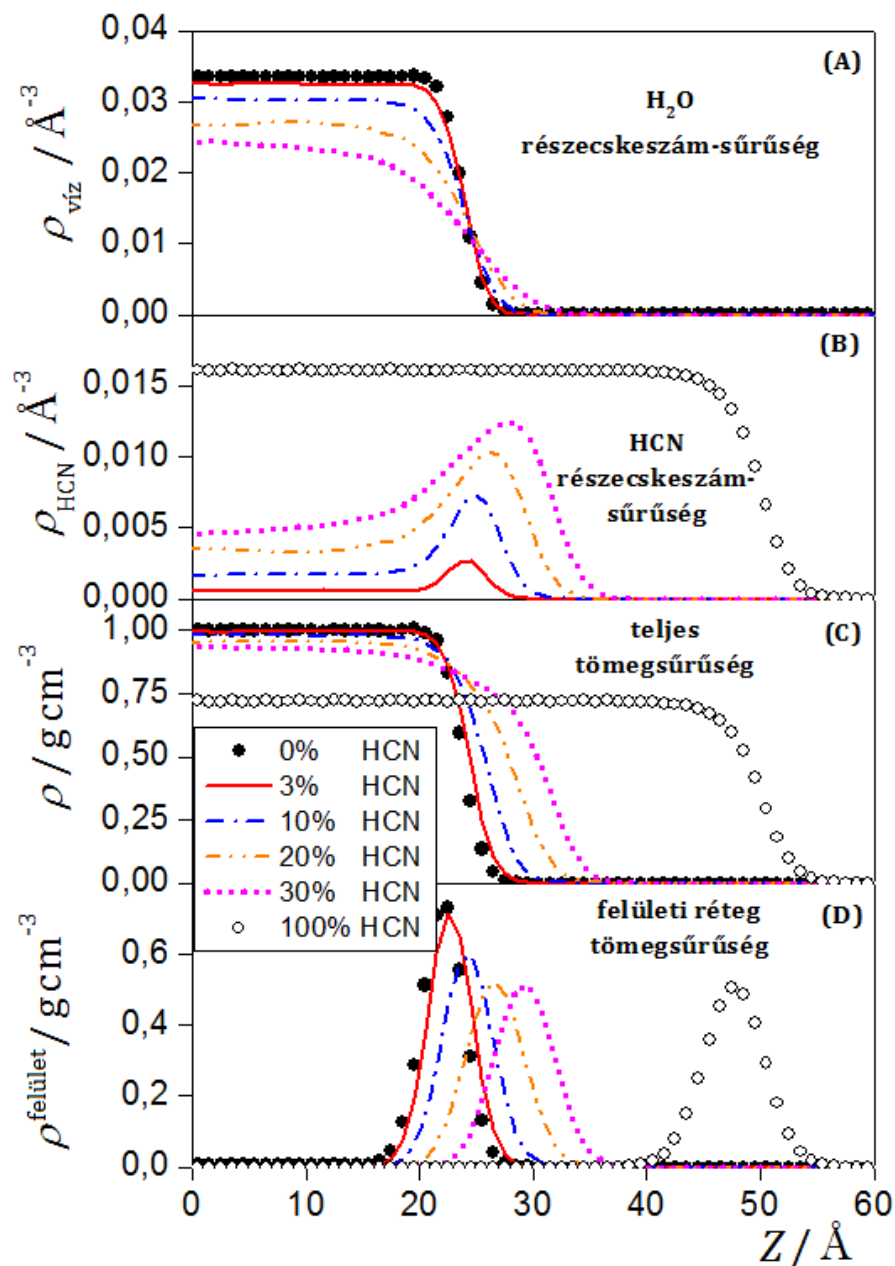


6.3. ábra: Az ITIM analízis során meghatározott három réteg [56]

7. Az eredmények és értékelésük

7.1. A határfelületi réteg tulajdonságai

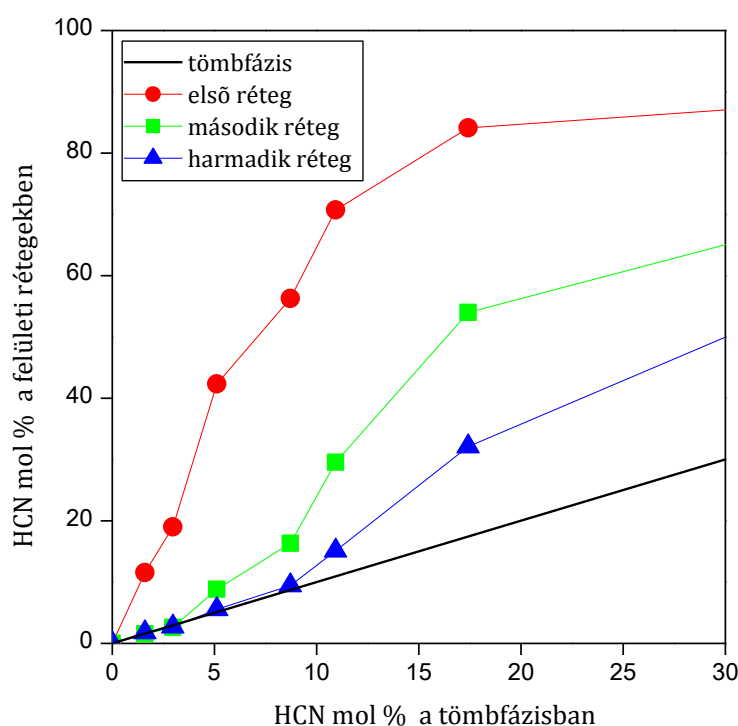
A határfelületen való adszorpció tanulmányozásának első lépéseként a rendszerek sűrűségprofiljait vizsgáltam meg. A szimulált rendszerek határfelületének makroszkopikus normálisa mentén számított tömeg- és részecskeszám-sűrűség profilok a 7.1. ábrán láthatók.



7.1. ábra: A szimulált rendszerek sűrűségprofiljai

Amint az a görbéken megfigyelhető, míg a tömbfázisból a gázfázis felé haladva a víz sűrűsége monoton csökken (A), addig a HCN részecskeszám-sűrűsége jól kivehető maximumon áthaladva éri el a gázfázisra jellemző, gyakorlatilag zérus sűrűséget (B). A maximumok helyét összehasonlítva a felületi molekulák sűrűségét bemutató görbékkel (D), azok jól láthatóan egybeesnek, tehát a HCN a teljes vizsgált koncentráció-tartományon erős határfelületi adszorpciót mutat.

Az adszorpció mértékének számszerűsítéséhez ábrázoltam a HCN arányát az első három felületi rétegben a tömbfázis összetételének függvényében. A kapott eredményeket a 7.2. ábrán szemléltetem.



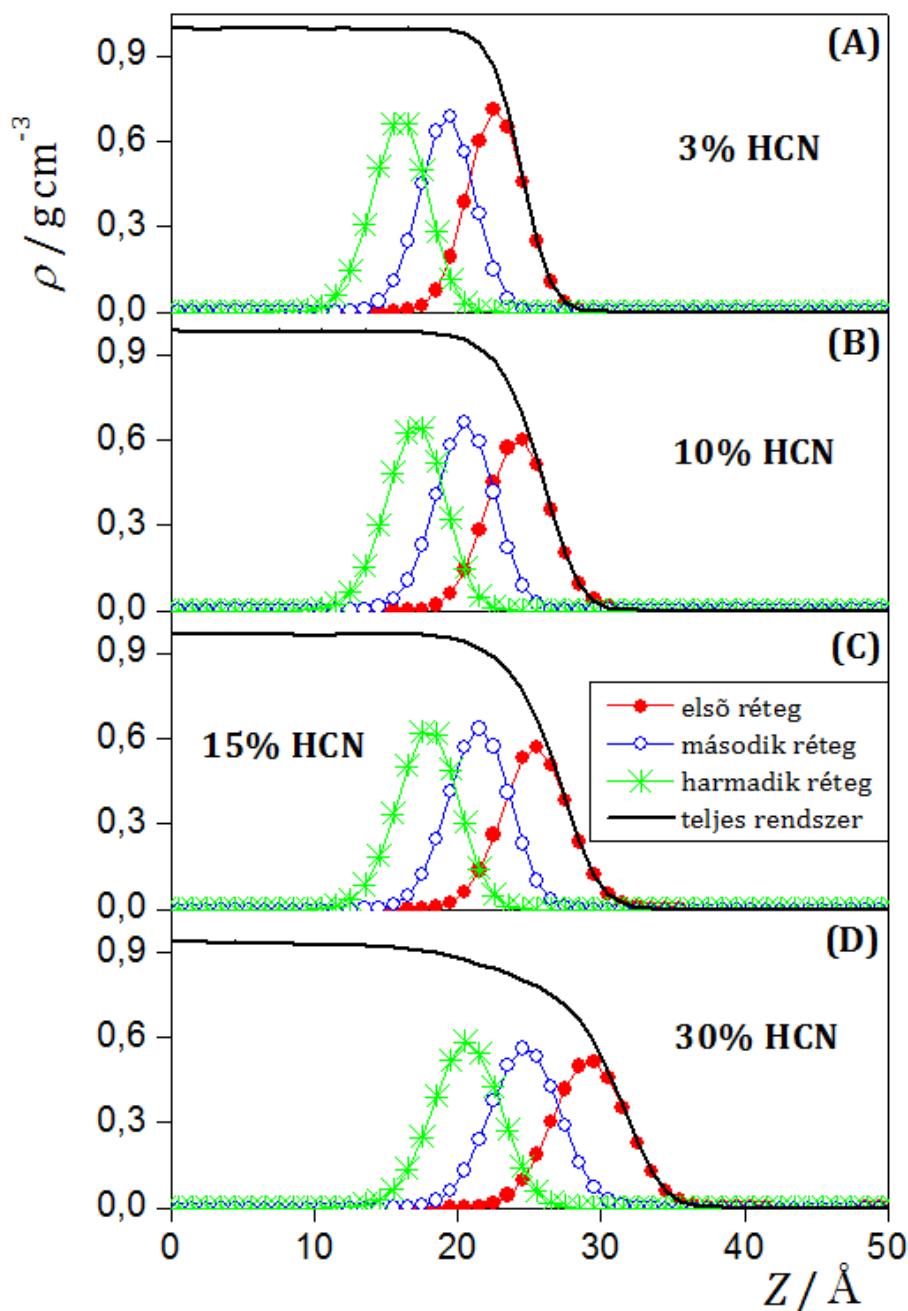
7.2. ábra: A határfelületi rétegek összetétele a tömbfázis koncentrációjának függvényében

A tömbfázis összetételének tengelyén szereplő HCN koncentrációk nem azonosak a szimulált rendszerek névleges értékeivel, mivel az adszorpció miatt a véges méretű tömbfázisban található HCN mennyisége számottevő mértékben csökken. Az ábrázoláshoz minden esetben a valós koncentrációkat használtam, amelyeket a víz és a HCN részecskeszám-sűrűség profilok állandó, tömbfázishoz tartozó sűrűség értékeinek aránya alapján számítottam. A 7.2. ábrán jól látható a HCN jelentős

mértékű határfelületi adszorpciója. Híg oldatokban a HCN koncentrációja akár egy nagyságrenddel is meghaladhatja a tömbfázisban tapasztalható értéket, míg a 30% HCN rendszer esetében ez azt jelenti, hogy a tömbfázis körülbelül 17% HCN tartalma mellett a határfelületi rétegben tartózkodó molekulák 80%-a HCN. Ezek mellett megemlítendő az a tény is, hogy a tömbfázis HCN koncentrációjának növelésével az adszorpció egyre több, közvetlenül a felület alatt található rétegre terjed ki. A 10% HCN rendszer esetén már a felület alatt húzódó második, míg a 20% HCN rendszer esetén a harmadik réteg is észrevehetően gazdagabb HCN-ben, mint a tömbfázis. Hasonló, több molekuláris rétegre kiterjedő adszorpció tapasztalható a HCN homológja, az acetonitril esetében is [58].

A 7.1. ábra (C) és (D) tömegsűrűség profiljait összehasonlítva megállapítható, hogy a felületi rétegbe tartozó molekulákat reprezentáló csúcsok nem elhanyagolható hányada a teljes rendszerek tömegsűrűség profiljainak állandó sűrűségű tartományában található. Ezáltal a határfelületnek a sűrűségprofil átmeneti tartománya alapján történő definíciója egyértelműen hibás eljárás, mivel az nagyszámú, a gázfázis felől látható, tehát valójában a felületi réteghez tartozó részecskét tévesen a tömbfázis elemeként azonosít. Ez a teljes rendszer és az ITIM módszer során meghatározott rétegek tömegsűrűség profiljait tartalmazó 7.3. ábrán is világosan megfigyelhető. Tekintve, hogy nem csak a második, de a harmadik rétegeknek is számottevő átfedése van a teljes rendszer átmeneti sűrűségű szakaszával, így az átmeneti tartomány alapján meghatározott határfelület amellett, hogy jelentős mennyiségű felületi molekulát figyelmen kívül hagy, számos, igazából a tömbfázishoz tartozó részecskét tévesen határfelületiként azonosít.

Az ITIM analízis eredményeként számított molekuláris rétegek görbéi minden esetben nagyon jól illeszthetők Gauss-függvénnyel. Tekintve, hogy a rétegekre vonatkozó elméleti megfontolások is Gauss-eloszlást jósolnak [59], ez alátámasztja az ITIM analízis során használt R_p próbagolyó sugarának [57] helyes megválasztását, továbbá a függvény illesztési paraméterei megfelelő eszközként szolgálnak a rétegek részletes jellemzésére.



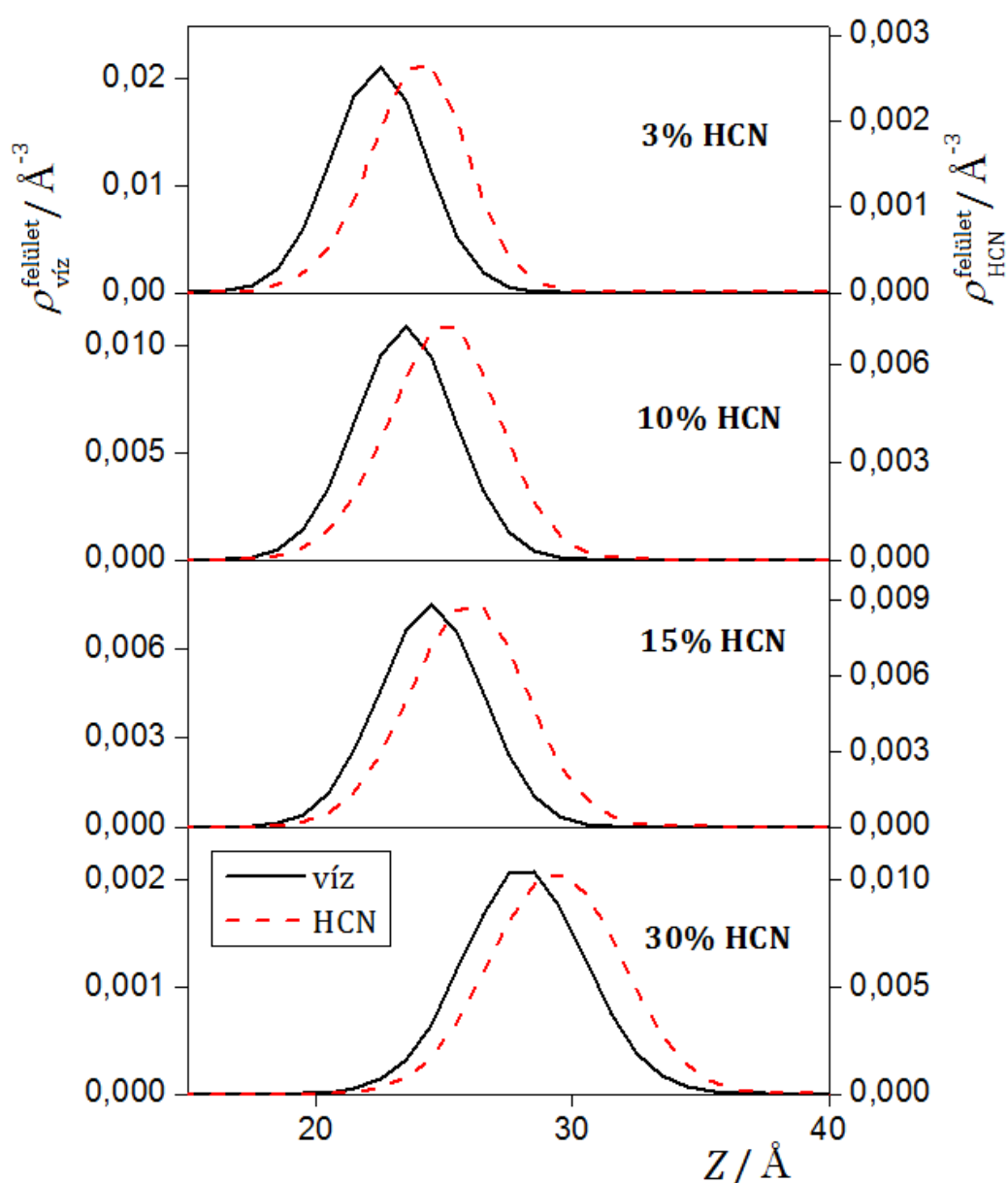
7.3. ábra: Az ITIM módszerrel meghatározott felületi rétegek sűrűségprofiljai a határfelület normálisa mentén

Az illesztett Gauss függvény szélességét jellemző δ paraméter egyben a réteg szélességének mértéke is, míg a Gauss függvény X_c középpontja a réteg pozícióját adja meg. Emellett az egymás alatti rétegek X_c értékeinek különbsége, ΔX_c , a rétegek egymástól való átlagos távolságáról szolgáltat információt. A vizsgált rendszerek ITIM analízise során meghatározott három molekuláris réteg δ és X_c értékei a 7.1. táblázatban szerepelnek.

molekuláris réteg	rendszer	$\delta/\text{\AA}$	$X_c/\text{\AA}$	τ/ps	
				víz	HCN
első réteg	0% HCN	3,71	22,07	27,8	-
	3% HCN	3,91	22,66	26,20	200,1
	5% HCN	4,03	23,11	21,24	167,2
	10% HCN	4,41	24,23	13,86	77,67
	15% HCN	4,65	25,41	10,88	55,80
	20% HCN	5,09	26,64	9,23	39,26
	30% HCN	5,16	29,20	8,78	28,81
	100% HCN	5,33	47,69	-	22,55
második réteg	0% HCN	3,78	18,70	2,00	-
	3% HCN	3,80	19,24	2,10	7,86
	5% HCN	3,86	19,63	2,00	6,88
	10% HCN	4,09	20,50	2,16	4,33
	15% HCN	4,29	21,47	2,62	3,52
	20% HCN	4,69	22,42	3,45	4,14
	30% HCN	4,86	24,67	3,26	3,86
	100% HCN	5,23	42,78	-	1,86
harmadik réteg	0% HCN	3,87	15,38	2,24	-
	3% HCN	3,85	15,94	2,28	10,51
	5% HCN	3,90	16,29	2,22	8,21
	10% HCN	4,09	17,05	2,15	5,76
	15% HCN	4,26	17,90	2,12	3,56
	20% HCN	4,59	18,68	2,24	3,74
	30% HCN	4,73	20,58	2,78	3,48
	100% HCN	5,21	37,97	-	1,82

7.1. táblázat: Az ITIM módszerrel meghatározott
felületi rétegek tulajdonságai

A tiszta vízzel ellentétben, a HCN-ot tartalmazó rendszerek határfelületi rétege átlagosan 2-3%-al szélesebb, mint az azt követő rétegek, és ez a különbség a koncentráció növekedésével egyre számottevőbb (6-8%). Ez a változás a második és a harmadik réteg összehasonlításakor már nem tapasztalható. Emellett növekvő HCN koncentrációval mindhárom réteg szélesebbé válik, amint az a δ paraméter 20-30%-os növekedéséből is látszik. Hasonló módon nemcsak az első és második réteg egymástól való ΔX_c távolsága nagyobb, mint a második és harmadik réteg esetében, de a rétegek közötti távolságok értéke, azaz X_c maga is növekszik a HCN tartalom emelkedésével.



7.4. ábra: Az egyes határfelületi rétegek HCN és víz részecskeszám-sűrűség profiljai. Az ábra bal és jobboldali skálája a víz illetve a HCN sűrűségére vonatkozik

Mindezen eredmények arra utalnak, hogy a folyadék felületén lévő részecskék kevésbé szorosan illeszkednek egymáshoz, mint a tömbfázisban lévő társaik. A hatás a HCN molekulák esetében hangsúlyosabb, mint a vízmolekuláknál. A jelenség oka valószínűleg az, hogy a határfelület közelsége által kiváltott orientációs preferenciák nem egyeztethők össze kellően a tömbfázis szoros illeszkedést biztosító elrendezésével. Amennyiben ez a feltevés helyes, a határfelületi és a tömbfázis különböző orientációs sajátságai kedvezően befolyásolhatják a bioaktív részecskék képződését.

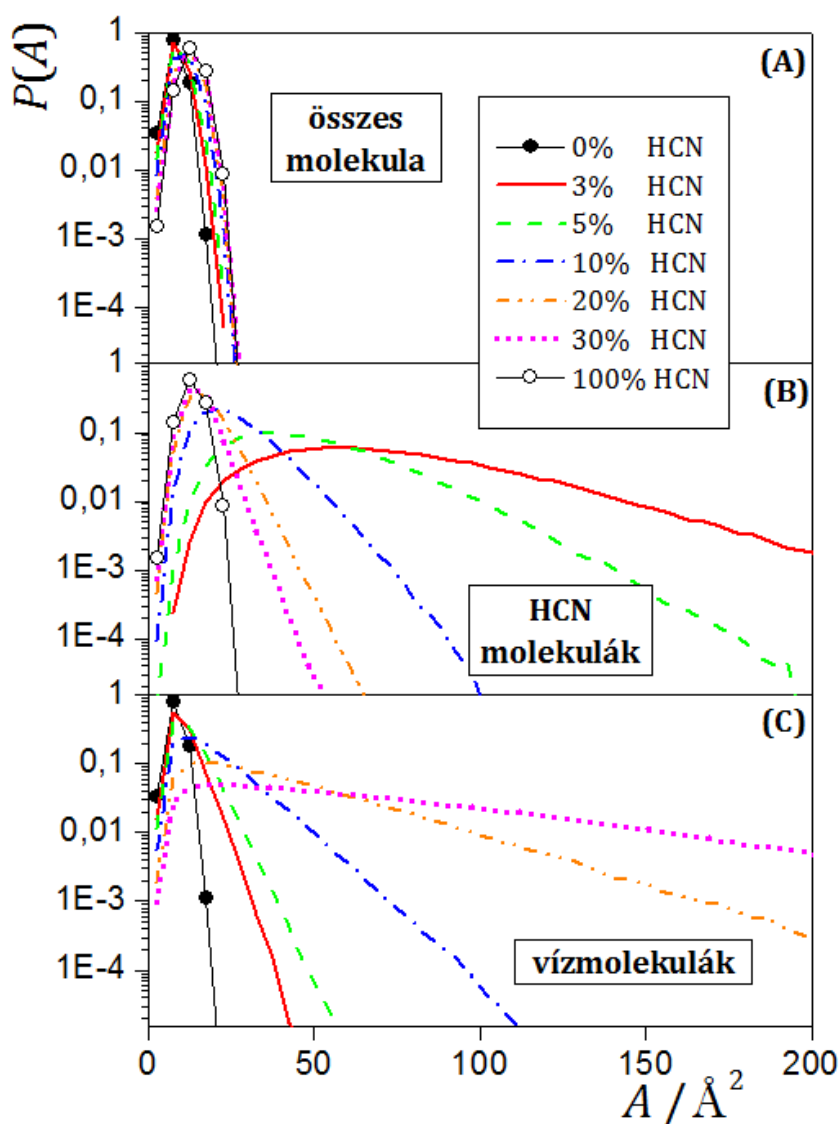
A 7.4. ábra négy kiválasztott rendszer felületi rétegének részecskeszám-sűrűség profiljait tartalmazza. A molekulák pontos pozíciójának meghatározása a víz esetében az O, míg a HCN esetében a C atom alapján történt. Az egyszerűbb összehasonlíthatóság kedvéért a két görbe értékeit különböző skálán ábrázoltam. Amint az nyilvánvaló, a HCN molekulákhoz tartozó csúcs minden esetben 1,7-2,0 Å-mel el van tolódva a vízhez képest a gázfázis irányába. Ezek alapján a HCN nemcsak a határfelület közelében lévő rétegekben dúsul fel, hanem a felületi réteg esetében is határozottan közelebb helyezkedik el a gázfázishoz, mint a víz. Ily módon a részecskéknél a felület normálisa mentén történő differenciálódása további lokális HCN koncentráció növekedést eredményezhet.

7.2. A felületi molekulák laterális önasszociációja

Az előző pontban bemutattam, hogy a HCN erősen adszorbeálódik híg vizes oldatok határfelületén. A lokális koncentráció további növelésének lehetséges módja a hasonló részecskék laterális asszociációja. Kétkomponensű rendszerek önasszociációjának tanulmányozásához kézenfekvő eljárás a Voronoi analízis [59-61]. A Voronoi-poligonok (VP) egy olyan matematikai transzformáció eredményei, amely egy sík- vagy térbeli pontthalmaz minden eleméhez hozzárendeli a sík vagy tér azon pontjait, amelyekhez az adott pont van legközelebb. Az analízis során tetszőleges pontthalmazhoz meghúzzuk a szomszédos pontok közötti felezőket, amelyeket a sokszögek élleinek tekintünk. Egyenletes eloszlású pontthalmaz esetén annak a valószínűsége, hogy egy VP területe A , Gauss-eloszlást mutat, míg aggregátumok esetén a nagyobb szabad területek miatt a görbe hosszú,

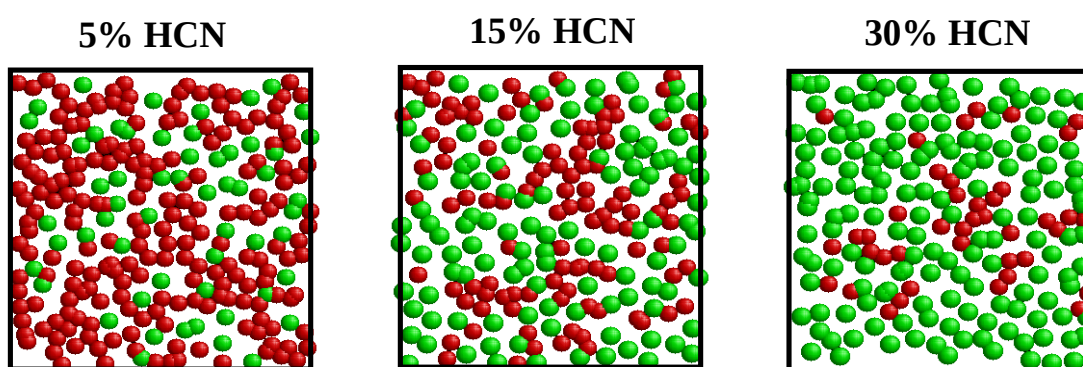
exponenciálisan csökkenő farokkal rendelkeznek [62]. Az eljárást sikerrel alkalmazták számos két- és háromdimenziós rendszer esetén [44,58,63-65].

A HCN önasszociációjának tanulmányozásához először levetítettem a határfelületi réteg molekuláinak középpontjait az XY síkra, majd az így kapott kétdimenziós ponthalmazon Voronoi analízist végeztem. A vetítéshez a víz O atomját, míg a HCN esetében a C atomot használtam fel. Az eljárás során kapott görbék a 7.5. ábrán láthatók. Első lépésben a részecskék egyenletes eloszlásának igazolásához a molekulák típusától függetlenül a teljes réteget elemeztem (A). Az eredmény valóban Gauss-eloszlás lett (az ábra skálája logaritmikus az exponenciális farok könnyebb detektálása miatt). Ezt követően először a víz (B), majd a HCN molekulák (C) figyelmen kívül hagyásával megismételtam a számítást.



7.5. ábra: A Voronoi poligonok területeinek eloszlása

Ekkor, mivel az önasszociáció esetén a mellőzött komponens miatt megnő az asszociátumok szélén lévő részecskékhez tartozó terület, a görbék exponenciálisan csökkenő farkat mutatnak. Ez a jelenség tisztán megfigyelhető a 7.5. ábra (B) és (C) részén, ahol a szemléletesség kedvéért logaritmikus skálát használtam, amely az exponenciálisan csökkenő részt egyenesként reprezentálja. Az ábrákon látható továbbá az is, hogy minél kisebb az adott komponens koncentrációja, annál szélesebb a $P(A)$ eloszlás. Mindezen eredmények tükrében kijelenthető, hogy a felületi rétegben található hasonló molekulák erősen önasszociálnak, és ez a hajlam alacsonyabb koncentrációk esetében fokozódik. Ezt hivatott szemléltetni a 7.6. ábra.



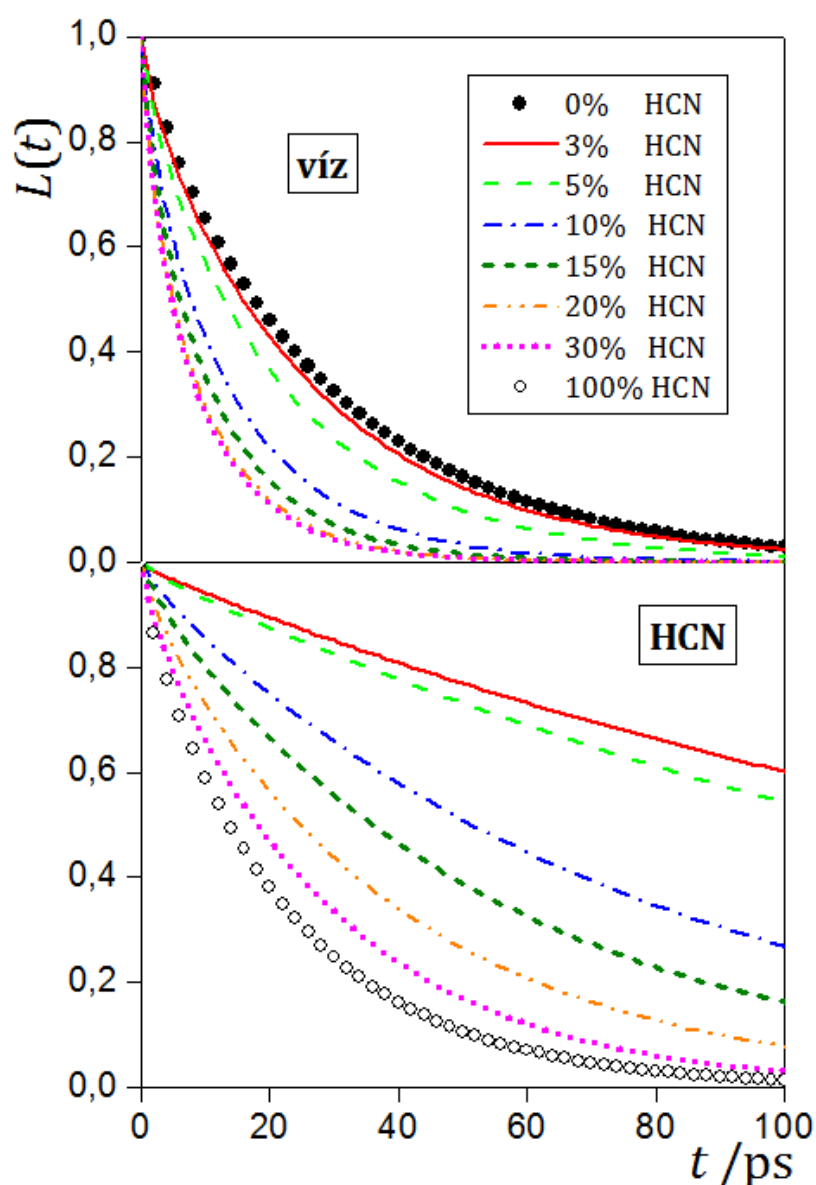
7.6. ábra: A komponensek önasszociációja a határfelületi rétegben
(piros - víz; zöld - HCN)

Az HCN önasszociációjának számszerűsítéséhez meghatároztam a legnagyobb üres területek méretét a HCN molekulák figyelmen kívül hagyása mellett, mivel ezek azok a területek, amelyeket HCN-asszociátumok borítottak. A kapott területeket összehasonlítottam a 7.5. ábra (B) része alapján az egy HCN molekula által a 100% HCN rendszerben elfoglalt átlagos területtel. Ez alapján kiszámoltam, hogy az asszociátumok akár rendre 8, 12, 25, 35, 55 HCN molekulából is állhatnak a 3% HCN, 5% HCN, 10% HCN, 15% HCN, 20% HCN és 30% HCN rendszerekben.

A szimulációkban megfigyelt határfelületi önasszociáció a lokális HCN koncentráció további növelése révén hozzájárulhat a HCN polimerizációjához és az adenin képződéséhez.

7.3. A felület és a tömbfázis közötti kicserélődés dinamikája

Az ITIM módszer segítségével meghatározott felületi réteg és a tömbfázis közötti kicserélődés dinamikai leírására alkalmas mennyiség a molekulák határfelületen való túlélésének valószínűsége, $L(t)$, vagyis az a valószínűség, hogy egy t_0 időpillanatban a határfelületen tartózkodó részecske $t_0 + t$ idő múlva is a felületen marad.



7.7. ábra: A határfelületi részecskék $L(t)$ túlélési valószínűsége

Mivel a szimulációk során gyűjtött konfigurációk a fázistér diszkrét pontjai, így az analízishez valamilyen megfelelő Δt időlépés szükséges, amely elteltével ismét

megvizsgáljuk a felületi rétegben tartózkodó molekulákat. A vizsgálat során két esetet kell megkülönböztetnünk. A molekulák oszcilláló mozgásuk révén rövid időre elhagyhatják a felületet úgy, hogy az oszcilláció végére visszatérnek, vagy ténylegesen távozhatnak is onnan. Az ilyen oszcilláló mozgások időskáláját szem előtt tartva, a számítások során a konvencionális $\Delta t = 2$ ps értéket használtam. Figyelembe véve az 1 ps különbséggel gyűjtött konfigurációkat, ez azt jelenti, hogy egy részecske akkor hagyja el végleg a felületi réteget, ha két egymást követő határfelületi konfigurációból hiányzik. Ellenőrzésként elvégeztem a számításokat $\Delta t = 1$ ps mellett is, amikor a molekulák egy konfigurációban sem hagyhatták el a felületet, de az elemzés következtetéseit ez nem befolyásolta.

Mivel a határfelületi rétegből való végleges távozás elsőrendű kinetikájú folyamat, ezért az $L(t)$ adatsorok kiválóan illeszthetők egy exponenciálisan csökkenő függvényvel, amelynek alakja $\exp(-t/\tau)$. Az egyenletben szereplő τ a molekulák határfelületen való átlagos tartózkodási ideje.

A szimulált rendszerekben a molekulák határfelületi túlélési valószínűségének görbéi a 7.6. ábrán láthatók, míg a hozzájuk tartozó τ karakterisztikus idők a 7.1. táblázatban találhatók. Amint az világosan látszik az adatokból, a τ értékek a második és harmadik réteg esetén egy nagyságrenddel kisebbek, mint az első réteg esetében, és összemérhetők az analízishez használt $\Delta t = 2$ ps értékkel. Ez azt jelenti, hogy a határfelület közelsége kizárólag az első rétegre fejt ki hatást, a további rétegek dinamikailag már a tömbfázishoz tartoznak.

Fontosabb következtetés azonban, hogy a HCN molekulák átlagosan sokkal hosszabb ideig tartózkodnak a határfelületen, mint a víz, és ez a hatás még hangsúlyosabb a hígabb oldatok esetén. A 3% HCN rendszer esetén a HCN nyolcszor annyi ideig marad a felületen, mint a víz, míg a 30% HCN esetében ez az arány már csak 3:1. Emellett a víz és a HCN esetében is megfigyelhető, hogy a HCN koncentrációjának növelése gyorsítja a felületi és tömbfázisban lévő molekulák kicserélődését.

A szimulációkból nyert eredmények azt mutatják, hogy a HCN molekulák nemcsak erősen adszorbeálódnak a határfelületen és jelentős laterális önasszociációt mutatnak, de emellett egy nagyságrenddel tovább is tartózkodnak a folyadékfázis felületén, mint a vízmolekulák.

8. Összefoglalás

Munkám során különböző arányú HCN-víz elegyek határfelületi tulajdonságait tanulmányoztam a kanonikus sokaságon molekuláris dinamikai szimulációk segítségével. A szimulációk során nyert egyensúlyi konfigurációkat az ITIM módszer segítségével analizáltam. Elsődleges célom az esetleges határfelületi adszorpció felderítése volt, annak prebiotikus jelentősége miatt.

Eredményeim a várakozásoknak megfelelően igazolták a HCN erős felületi adszorpciójának meglétét. A koncentráció növekedésével az adszorpció fokozatosan kiterjed a további, közvetlenül a határfelület alatt húzódó molekuláris rétegekre is. A sűrűségprofilokon emellett az is látható, hogy a HCN egy adott felületi rétegen belül is közelebb helyezkedik el a gázfázishoz, mint a vízmolekulák. A határfelületi rétegen végzett Voronoi-analízis során a hasonló részecskék laterális asszociációját tapasztaltam. A HCN felületi adszorpciója, a határfelületi rétegben található molekuláknak a felület normálisa mentén való differenciálódása és a laterális önasszociáció egyaránt hozzájárulnak a HCN koncentrációjának lokális növekedéséhez, amely hitelt adhat a „HCN-világ” elméletnek.

További, a „HCN-világ” hipotézisét erősítő eredmény, hogy a HCN-nak a felületen való túlélési valószínűsége egy nagyságrenddel nagyobb, mint a vízmolekuláké, és ez a hatás híg oldatok esetében még hangsúlyosabb.

Eredményeim világos értelmezéséhez szükséges megjegyezni, hogy „HCN-világ” feltevését nem *igazolják*, de mindenképpen alátámasztják azt, és lehetőséget nyújthatnak az elmélet kibontakoztatásához. Ezt szem előtt tartva, a dolgozatban nem tárgyalt eredményként meghatároztam a határfelületi molekulák jellemző orientációját, amellyel kiindulási pontot kívántam nyújtani olyan kvantumkémiai számításokhoz, amelyek a HCN határfelületi reakcióit és az adenin képződését vizsgálják.

9. Irodalomjegyzék

- [1] Allen, M. P.; Tildesley D. J.: *Computer Simulation of Liquids* (Oxford University press, Oxford, 1987).
- [2] Holzinger, R.; Warneke C. et al., *Geophys. Res. Lett.*, **1999**, 26, 1161– 1164.
- [3] Singh, H. B.; Salas, L. et al., *J. Geophys. Res. – Atmos.*, **2014**, 108, GTE16-1-14.
- [4] Li, Q.; Jacob, D. J. et al., *J. Geophys. Res. – Atmos.*, **2003**, 108, GTE48-1-13.
- [5] U.S. Environmental Protection Agency: *Toxicological review of hydrogen cyanide and cyanide salts* (CARNR various, Washington, 2010).
- [6] Akagi, S. K.; Yokelson, R. J. et al., *Atmos. Chem. Phys.*, **2011**, 11, 4039-4072.
- [7] Le Breton, M.; Bacak, A. et al., *Atmos. Chem. Phys.*, **2013**, 13, 9217-9232.
- [8] Liang, Q.; Jaeglé, L. et al., *J. Geophys. Res. - Atmos.*, **2007**, 112, D12S11-1-20.
- [9] Singh, H. B.; Salas, L. et al., *J. Geophys. Res. - Atmos.*, **2007**, 112, D12S04-1-15.
- [10] Kleinböhl, A.; Toon, G. C. et al., *Geophys. Res. Lett.*, **2006**, 33, L11806-1-5.
- [11] Bernath, P. F.; McElroy, C. T. et al., *Geophys. Res. Lett.*, **2005**, 32, L15S01-1-5.
- [12] Randel, W. J.; Park, M. et al., *Science*, **2010**, 328, 611-613.
- [13] Li, Q.; Jacob, D. J. et al., *Geophys. Res. Lett.*, **2000**, 27, 357-360.
- [14] Miller, S. L., *Science*, **1953**, 117, 528-529.
- [15] Ferris, J. P.; Hagan, W. J., *Tetrahedron*, **1984**, 40, 1093-1120.
- [16] Barnun, A.; Shaviv, A., *Icarus*, **1975**, 24, 197-210.
- [17] Matthews, C. N.: *Origins: Genesis, Evolution and Diversity of Life* (editor Seckbach, J., Kluwer Academic Publishing, Dodrecht, 2004).
- [18] Johnson, A. P.; Cleaves, H. J. et al., *Science*, **2008**, 322, 404.
- [19] Ferris, J. P.; Joshi, P. C. et al., *J. Mol. Evol.* **1978**, 11, 293-311.
- [20] Schwartz, A. W., *Chem. Biodivers.*, **2007**, 4, 656-664.
- [21] Eschenmoser, A., *Chem. Biodivers.*, **2007**, 4, 554-573.
- [22] Holm, N. G.; Neubeck, A., *Geochem. Trans.*, **2009**, 10, 9-1-11.
- [23] Szőri, M.; Jójárt, B. et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, 13, 7449-7458.
- [24] Minard, R. D.; Matthews, C. N. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 228, U963-U963.
- [25] Cech T. R., *Science*, **2000**, 289, 878–9.
- [26] Yonath, A., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2010**, 49, 4341–54.
- [27] Roy, D.; Najafian, K. et al., *PNAS*, **2007**, 104, 17272-17277.
- [28] Miyakawa, S.; Cleaves, H. J. et al., *Orig. Life Evol. Biosph.*, **2002**, 32, 195-208.
- [29] Saladino, R.; Crestini, C. et al., *Phys. Life Rev.*, **2012**, 9, 84-104.
- [30] Stribling, R.; Miller, S. L., *Orig. Life Evol. Biosph.*, **1987**, 17, 261-273.

- [31] Levy, M.; Miller, S. L. et al., *Icarus*, **2000**, *145*, 609–613.
- [32] Karhu, J.; Epstein, S., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1986**, *50*, 1745–1756.
- [33] Boltzmann, L.: *Vorlesungen über Gastheorie* (J. A. Barth, Leipzig, 1896).
- [34] Axilrod, B. M.; Teller, E., *J. Chem. Phys.*, **1943**, *11*, 299–300.
- [35] Frenkel, D.; Smit, B.: *Understanding molecular simulation* (Academic Press, San Diego, 1996).
- [36] Ewald, P. P., *Ann. Phys.*, **1921**, *21*, 1087.
- [37] Safran, S.: *Statistical thermodynamics of surfaces, interfaces, and membranes* (Addison-Wesley, 1994).
- [38] Griffith, E. C.; Vaida, V., *PNAS*, **2012**, *109*, 15697–15701.
- [39] Richmond, G. L., *Chem. Rev.*, **2002**, *102*, 2693.
- [40] Daillant, J.; Gibaud, A.: *X-Ray and Neutron Reflectivity: Principles and Applications* (Springer, 1999).
- [41] Darvas, M.; Jedlovsky, P., *Magyar Kémikusok Lapja*, **2010**, *LXV*, 384–387.
- [42] Pártay, L. B.; Hantal, Gy. et al., *J. Comput. Chem.*, **2008**, *29*, 945–956.
- [43] Hantal, Gy.; Darvas, M. et al., *J. Phys.: Condens. Matter*, **2010**, *22*, 284112–1–14.
- [44] Pártay, L. B.; Jedlovsky, P. et al., *J. Phys. Chem. B*, **2008**, *112*, 5428–5438.
- [45] Hess, B.; Kutzner, C. et al., *J. Chem. Theory. Comput.*, **2008**, *4*, 435–447.
- [46] www.gromacs.org
- [47] www.gitim.eu
- [48] Jorgensen, W. L.; Chandrasekar, J. et al., *J. Chem. Phys.*, **1983**, *79*, 926–935.
- [49] Kotdawala, R. R.; Ozgur Yazaydin, A. et al., *Mol. Simul.*, **2007**, *33*, 843–850.
- [50] Essman, U.; Perera, L. et al., *J. Chem. Phys.*, **1995**, *103*, 8577–8594.
- [51] Fernández, R. G.; Abascal, J. et al., *J Chem Phys.*, **2006**, *124*, 144506–1–11.
- [52] Miyamoto, S.; Kollman, P. A., *J. Comput. Chem.*, **1992**, *13*, 952–962.
- [53] Hess, B., *J. Chem. Theory Comput.*, **2008**, *4*, 116–122.
- [54] Nosé, S. A., *Mol. Phys.*, **1984**, *52*, 255–268.
- [55] Hoover, W. G., *Phys. Rev. A*, **1985**, *31*, 1695–1697.
- [56] Humphrey, W., Dalke, A. et al., *J. Molec. Graphics*, **1996**, *14*, 33–38.
- [57] Jorge, M.; Jedlovsky P. et al., *J. Phys. Chem. C*, **2010**, *114*, 11169.
- [58] Pártay, L. B.; Jedlovsky, P. et al., *J. Phys. Chem. C*, **2009**, *113*, 18173–18183.
- [59] Chowdhary, J.; Ladanyi, B. M., *Phys. Rev. E*, **2008**, *77*, 031609.
- [60] Jedlovsky, P.; Darvas, M. et al., *Z. Naturforsch A*, **2013**, *68*, 123–129.
- [61] Voronoi, G. F., *J. Reine Angew. Math.*, **1908**, *134*, 198–287.
- [62] Baranyai, A.; Ruff, I., *J. Chem. Phys.*, **1986**, *85*, 365–373.
- [63] Pojják, K.; Darvas, M. et al., *J. Phys. Chem. C*, **2010**, *114*, 12207–12220.

- [64] Ruff, I.; Baranyai, A. et al., *J. Chem. Phys.*, **1986**, *85*, 2169–2177.
- [65] Zaninetti, L., *Phys. Lett. A*, **1992**, *165*, 143–147.