

Warszawa, 10.05.2023 r.

mgr Szymon Sutuła
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski

Autoreferat pracy doktorskiej zatytułowanej:

On Accuracy and Precision of X-Ray and Neutron Single Crystal Glycine Results

Tytuł w języku polskim:

O dokładności i precyzji rezultatów rentgenowskich i neutronowych badań dyfrakcyjnych wykonanych na monokryształach glicyny

Promotor: prof. dr hab. Krzysztof Woźniak

Promotor pomocniczy: dr Maura Malińska

Przedmiotem rozprawy doktorskiej są badania nad strukturą α -glicyny przy pomocy rentgenowskich i neutronowych monokrystalicznych eksperymentów dyfrakcyjnych. W pracy poruszane są trzy zagadnienia. Pierwsze z nich dotyczy możliwości zaobserwowania anharmonicznego ruchu atomów wodoru w cząsteczce. Drugie przedstawione badanie związane jest ze zmianami rozkładu gęstości elektronowej w kryształach pod wpływem wysokiego ciśnienia. Trzecie z opisywanych zagadnień dotyczy precyzji i dokładności wartości parametrów opisujących strukturę na podstawie jednokrotnych oraz wielokrotnych rentgenowskich i neutronowych eksperymentów dyfrakcyjnych.

Przedstawione zagadnienia były testowane na kryształach α -glicyny, najprostszego z aminokwasów i wymagały pomiarów wykonywanych w specjalistycznych laboratoriach badawczych dysponujących wiązką neutronową czy też promieniowaniem synchrotronowym. Ten prosty związek organiczny zbudowany z relatywnie lekkich pierwiastków: tlenu, azotu, węgla i wodoru, został wybrany jako modelowy, gdyż tworzy kryształy molekularne wysokiej jakości i odpowiednich rozmiarów.

α -Glicyna łatwo krystalizuje z roztworu wodnego i chociaż nie można jej uznać za stabilną w warunkach pokojowych, to proces transformacji kryształów jest na tyle powolny, że wielokrotnie można wykonać odpowiednio długie pomiary na kryształach nim pierwsze objawy spadku jakości zostaną zaobserwowane. Głównym elementem niesprzyjającym prowadzonym badaniom jest jednak niska symetria ($P2_1/n$), co obniża kompletność zebranych danych podczas eksperymentów i zwiększa liczbę parametrów podlegających procesowi udokładnienia.

Pierwsze wyzwanie badawcze opisywane w toku pracy doktorskiej dotyczy drgań atomów wodoru w strukturze. Zgodnie z teorią, każdy atom w sieci drga wokół swojej pozycji równowagi, a opis gęstości prawdopodobieństwa znalezienia atomu w danej pozycji jest wyznaczany przy pomocy atomowych parametrów przemieszczenia (ang. Atomic Displacement Parameters, ADPs). Zazwyczaj stosowane jest harmoniczne przybliżenie zachowania atomów, gdzie siła zwrotna działająca na nie jest wprost proporcjonalna do wysunięcia z pozycji równowagi, a gęstość prawdopodobieństwa obecności centrum atomu określona rozkładem normalnym. W ramach opisu harmonicznego ruchu może być uznany za izotropowy – sferycznie symetryczny, wówczas wszystkie kierunki wychyleń są równocenne i żaden nie jest wyróżniony lub za anizotropowy – gdzie każdy z trzech głównych

wektorów rozpinających przestrzeń ma swój własny współczynnik określający szybkość zaniku gęstości prawdopodobieństwa przy wzrastającej odległości od położenia równowagi. Taki opis pozwala trafniej modelować zachowanie atomu w cząsteczce, gdzie drgania są wyraźniejsze w płaszczyźnie prostopadłej do wiązania łączącego dany atom niż wzdłuż niego. O ile przybliżenie ruchu harmonicznego jest wystarczające w większości badań dyfrakcyjnych, czasem obserwacja resztkowej gęstości (elektronowej w przypadku badań prowadzonych przy pomocy wiązki rentgenowskiej lub nuklearnej w przypadku badań prowadzonych przy pomocy wiązki neutronowej) po finalnym udokładnieniu struktury sugerują silnie anharmoniczne zachowanie danego atomu. Wówczas do opis rozkładu gęstości prawdopodobieństwa trzeba uwzględnić dodatkowe poprawki określone przez wielkość współczynników Grama-Charliera. Chociaż w rzeczywistości każdy atom drga w sposób anharmoniczny, to zazwyczaj w zebranych zestawie danych eksperymentalnych przejawy odstępstwa od zachowania harmonicznego nie są odpowiednio silnie zmanifestowane.

Celem pierwszego z badań opisywanych w rozprawie doktorskiej było określenie, czy możliwe jest zaobserwowanie efektów anharmonicznych atomów wodoru w strukturze oraz sprawdzenie, jakie zmiany pociąga za sobą wymodelowanie tych drgań dla wszystkich 5 atomów wodoru poprzez udokładnienie współczynników Grama-Charliera. Badania do tego projektu zostały wykonane przy pomocy wiązki neutronowej w ośrodku Institut Laue-Langevin (ILL) w Grenoble. Pomiary były wykonane w dwóch temperaturach – 90 K i 200 K na kryształach odpowiednio o wielkości $1.5 \times 2.5 \times 3.0 \text{ mm}^3$ i $1.7 \times 3.0 \times 4.1 \text{ mm}^3$. Struktura została udokładniona w programie Jana2020, a dla zebranych danych z obu temperatur, oprócz modelu zawierającego anharmoniczny opis atomów wodoru, w celach porównawczych został też przygotowany model zawierający harmoniczny anizotropowy opis atomów. Dla każdej z temperatur oba modele zostały porównane najpierw na podstawie wartości parametrów opisujących jakość udokładnienia (tzn. zgodności intensywności refleksów otrzymanych podczas eksperymentu z teoretycznymi dla wymodelowanej struktury), a następnie zostały poddane testowi Prince-Spiegelmana analizującemu trend w intensywnościach refleksów w celu określenia, który z modeli – z harmonicznym czy anharmonicznym opisem atomów wodoru – jest bardziej zgodny z zebraniem intensywności refleksów. W ramach bardziej kompletnego ujęcia różnic pojawiających się w modelu struktury, gdy opis atomów wodoru staje się anharmoniczny, parametry geometryczne (tzn. długości wiązań, kąty walencyjne i kąty torsyjne) zostały dokładnie przeanalizowane. Dodatkowo otrzymane dla obu modeli rozkłady gęstości prawdopodobieństwa obecności centrum atomu zostały zestawione ze sobą w celu określenia stopnia odkształcenia elipsoid drgań oraz wyznaczenia poziomu walidacji modelu zawierającego opis anharmoniczny atomów wodoru (tzn. czy wartości współczynników Grama-Charliera nie zostały udokładnione do wartości na tyle ekstremalnych, że pojawiają się obszary o ujemnej wartości gęstości prawdopodobieństwa, co oznaczałoby brak sensu fizycznego otrzymanego modelu).

Otrzymane wyniki wskazują, że o ile pomiar w niższej ze wspomnianych temperatur daje jednoznaczną odpowiedź, że anharmoniczne drgania wodorów nie zostały w żaden sposób dostrzeżone i model harmoniczny ma nawet lepiej dopasowane statystyki zgodności względem zebranych danych, to eksperyment przeprowadzany w 200 K sugeruje, że udokładnienie parametrów Grama-Charliera prowadzi do wyższej zgodności z zebranymi danymi. Wynika to nie tylko z wartości samych parametrów R, ale także z przeprowadzonego testu Prince-Spiegelmana. Obliczenia minimalnej rozdzielczości niezbędnej do udokładniania drgań anharmonicznych na podstawie pracy W. F. Kuhsa opublikowanej w 1992 roku ukazują, że eksperyment przeprowadzony w 90 K nie pozwolił na osiągnięcie wymaganej rozdzielczości zebranego zestawu refleksów, natomiast pomiar wykonany w 200 K już tak. Jedyną kłopotliwą w interpretacji kwestią dotyczącą wyników badań z wyższej z omawianych temperatur jest fakt, iż otrzymane współczynniki Grama-Charliera mają niski

stosunek swojej wartości do niepewności. Oznacza to, iż nie udało się ich wyznaczyć z zadowalająco wysoką precyzją.

Drugi projekt badawczy opisywany w toku rozprawy doktorskiej jest związany z udokładnieniem rozkładu gęstości elektronowej przy użyciu modelu multipolowego dla badań wykonanych pod wysokim ciśnieniem. Połączenie tych dwóch, na pozór wzajemnie wykluczających się eksperymentów, było testowane w poprzednich latach przez innych badaczy, ale tylko kilka prac dotyczących tego problemu jest opublikowanych. Brak powszechności tego typu pomiarów wynika przede wszystkim z wymagań, jakie są stawiane wobec badań nad rozkładem gęstości elektronowej. Eksperymenty dyfrakcyjne niezbędne do wykonania takich udokładnień wymuszają zebranie danych w pełni kompletnych do bardzo wysokiej rozdzielczości i jak najmniej zanieczyszczonych sygnałem z innych źródeł. Samo otrzymanie kryształu odpowiednio wysokiej jakości do takich badań jest kwestią problematyczną, a dla większości związków jest to po prostu niemożliwe. Badania wysokociśnieniowe z kolei wymagają umieszczenia badanej próbki wewnątrz komory wysokociśnieniowej, która ze względu na swoją budowę mocno ogranicza kąty, dla których da się zebrać dane dyfrakcyjne. W konsekwencji zestaw obserwowanych refleksów ma obniżoną rozdzielczość i pokrywa sferę Ewalda w znacząco ograniczonym stopniu, co przekłada się na niższą kompletność zestawu danych. Otrzymywaną w wyniku eksperymentu kompletność można jednak zwiększyć poprzez użycie innego związku o wyższej symetrii albo wykonanie pomiarów na kilku oddzielnych kryształach wewnątrz komory w celu późniejszego połączenia tak zebranych informacji. Drugie rozwiązanie niestety niesie za sobą poważne ryzyko otrzymania zestawu danych o niskiej wewnętrznej zgodności, co skutkuje mniej precyzyjnym określeniem parametrów wyznaczonej struktury. Kolejnym utrudnieniem związanym z przeprowadzaniem eksperymentu pod ciśnieniem jest sygnał pochodzący od komory wysokociśnieniowej, głównie od diamentów pełniących rolę elementów wywierających ciśnienie, ale też i rubinu pełniącego rolę sensora ciśnienia czy też metalowych uszczelek. Eliminacja tego sygnału jest konieczna i wymaga dokładnego przejrzenia surowych danych pomiarowych i walidacji, które refleksy pochodzące od próbki mają zafałszowaną intensywność poprzez nałożenie się z silnymi refleksami od diamentów. Procedura ta musi być przeprowadzona ręcznie przez użytkownika i jedynie finalnie otrzymane statystyki rozkładu intensywności refleksów są w stanie określić stopień powodzenia tej czynności.

W ramach projektu, by odpowiedzieć na pytanie o możliwość przeprowadzenia udokładnienia modelu multipolowego dla danych zebranych w eksperymencie wysokociśnieniowym oraz by wskazać ewentualne przeszkody i sugerowane techniki obchodzenia ich, został zaplanowany eksperyment na kryształach α -glicyny w wysokim ciśnieniu (oznaczony jako HP, high-pressure). Ze względu na kwestie porównawcze, został również przeprowadzony wysokorozdzielczy eksperyment na kryształach glicyny o podobnej wielkości w warunkach pokojowych przy pomocy typowego dyfraktometru (oznaczony jako FD, full data). Modele uzyskane na podstawie udokładnienia na tych zestawach danych zostały ze sobą zestawione, ale w celu odseparowania efektu obniżonej kompletności i rozdzielczości na wynik udokładnienia od efektu nałożenia szumu na zbierany sygnał w sztuczny sposób został utworzony dodatkowy zestaw danych – plik zawierający informacje o intensywnościach refleksów z pomiaru w warunkach pokojowych, którego liczba refleksów została zredukowana w taki sposób, by zostały w nim tylko te, które są zaobserwowane w eksperymencie wysokociśnieniowym (oznaczony CP, common part). Porównanie modelu FD i CP ukazuje efekt obniżonej kompletności i rozdzielczości zestawu danych, a porównanie modelu HP i CP ukazuje efekt dodatkowego sygnału od komory wysokociśnieniowej nakładającego się na zbierane ramki pomiarowe.

Eksperyment wykonany przy pomocy wiązki rentgenowskiej na stacji synchrotronowej Soleil we Francji na pojedynczym kryształ α -glicyny poddanemu ciśnieniu 1.55 GPa pokazuje, że model multipolowy może być udokładniony na tak zebranych danych, ale najpierw wymaga on dokładnego określenia podczas redukcji danych, które zebrane refleksy są zafałszowane sygnałem pochodzącym od diamentów. Po wykonaniu tego etapu zestaw refleksów miał kompletność równą prawie 65%, co wobec standardów stawianych typowym pomiarom do badań nad rozkładem gęstości elektronowej byłoby uznane za zbyt niską. Biorąc jednak poprawkę, że dla związku o takiej symetrii w pojedynczym pomiarze wysokociśnieniowym należy się liczyć z tego rzędu wartością, należy ją zaakceptować. Z przeprowadzonych badań wynika, że bardziej problematyczną kwestią podczas badań dyfrakcyjnych pod ciśnieniem jest zbieranie dodatkowego sygnału pochodzącego od elementów komory. Nawet jeśli wszystkie refleksy mające zawyżoną intensywność w skutek nakładania się z refleksami od diamentów zostaną zidentyfikowane, to otrzymane dane nadal zawierają szum na dużo wyższym poziomie niż te zebrane podczas typowego pomiaru wysokorozdzielczego. Jeśli jednak wykona się odpowiednie statystyki rozkładu niezgodności intensywności refleksów, okazuje się, że obecny szum podlega rozkładowi normalnemu, co sprawia, że nie powinien wprowadzać systematycznych odchyień do otrzymanego modelu, a jedynie zwiększać niepewność wartości otrzymanych parametrów. Oznacza to, że otrzymane modele rozkładu gęstości elektronowej w strukturze na podstawie badań wysokociśnieniowych mogą być traktowane jako odzwierciedlające sytuację rzeczywistą, jeśli tylko pomiary i obróbka danych spełniły odpowiednie kryteria.

Trzecia z opisywanych analiz w toku rozprawy doktorskiej dotyczy precyzji i dokładności otrzymywanych wartości parametrów z rentgenowskich i neutronowych eksperymentów dyfrakcyjnych. Wszystkie udokładnione struktury są opisywane modelami, gdzie każdy z parametrów ma wyznaczoną wartość oraz jej estymowaną niepewność będącą miarą odchylenia standardowego. Podczas wszystkich pomiarów dochodzi jednak do wielu różnego rodzaju błędów. Jedne z nich są losowe i w wyniku nich wartość wyznaczanego parametru ma takie samo prawdopodobieństwo zostać zawyżona jak i zaniżona. Ponowne wykonanie identycznego pomiaru i wyznaczenie badanej wielkości mogłoby zostać obarczone tym samym rodzajem błędu o innej wartości. Natura takich błędów losowych często jest nieznana, co sprawia, że ciężko je wyeliminować lub jest to niemożliwe. Losowy charakter tych błędów sprawia jednak, że można zmniejszyć ich wkład poprzez wielokrotne powtarzanie tego samego pomiaru, a statystyka pozwoli wyznaczyć wartość średnią i odchylenie standardowe (będące miarą siły błędów losowych) z próby, gdzie wzrastająca liczba pomiarów pozwala coraz lepiej określić populację wartości parametru. Błędy losowe obniżają precyzję pomiaru, nie mają jednak wpływu na dokładność. Innym rodzajem błędów, które mają miejsce podczas pomiarów, są błędy systematyczne, które zawsze zafałszowują prawdziwą wartość parametru w dokładnie ten sam sposób i zazwyczaj mają swoje źródło w zastosowanych uproszczeniach, zaokrągleniach albo niewłaściwej kalibracji sprzętu. Ponowne wykonywanie eksperymentów nie pozwala ich wyeliminować, a jedynym sposobem ich wykrycia jest porównanie otrzymanego wyniku z wynikiem z innej metody. O ile obecność błędów losowych zwiększa odchylenie standardowe z jednoczesnym brakiem wpływu na wartość średnią populacji, to błędy systematyczne skutkują przesunięciem całej populacji. Oznacza to, że błędy systematyczne obniżają dokładność pomiaru, ale nie mają wpływu na jego precyzję.

Trzecie z badań opisanych w pracy doktorskiej składa się z serii ośmiu rentgenowskich i ośmiu neutronowych pomiarów dyfrakcyjnych na kryształach α -glicyny w temperaturze 90 K w celu wyznaczenia dokładności i jakości precyzji wybranych parametrów opisujących strukturę – parametry komórki elementarnej, wartość U_{equiv} dla każdego z atomów będąca miarą siły drgań wokół pozycji równowagi uśrednionej po wszystkich kierunkach, długości wiązań oraz kąty walencyjne i torsyjne. Jakość deklarowanej przez program do udokładnień precyzji parametru była określona poprzez

porównanie wartości niepewności estymowanej (w postaci średniej kwadratowej z serii otrzymanych wartości) przez program z wartością odchylenia standardowego próby z serii zebranych wartości, która to jest bardziej realistyczną miarą odchylenia standardowego populacji. Tego typu porównania wykonane oddzielnie dla każdego parametru i źródła promieniowania pozwalają ocenić, czy oprogramowanie poprawnie estymuje niepewność i jeśli nie, to czy ma tendencję do zaniżania czy zawyżania jej wartości. Dokładność z kolei mogła być wyznaczona tylko dla parametrów dotyczących atomów wodoru (czyli parametrów U_{equiv} atomów wodorów oraz długości wiązań, kątów walencyjnych i torsyjnych, gdzie obecny był chociaż jeden atom wodoru) oszacowanych przez metody dyfrakcji rentgenowskiej, gdzie badania neutronowe były traktowane jako niezależna metody weryfikacyjna pełniąca rolę wzorca. Porównanie otrzymanych wyników między dwoma metodami zostało wykonane na podstawie stopnia nakładania się spodziewanych populacji oraz w bardziej ilościowy sposób za pomocą t-testu Welcha, sprawdzającego hipotezę zerową, że obie zebrane próby pochodzą z populacji o identycznej wartości średniej.

Otrzymane wyniki sugerują, że wyznaczone parametry komórki elementarnej w badaniach rentgenowskich mają dużo gorszą precyzję niż ta deklarowana przez oprogramowanie, gdzie z kolei dla pomiarów neutronowych został zaobserwowany odwrotny efekt i wartości niepewności są mocno zawyżone. Wyraźnie niepoprawnie określona niepewność jest również obserwowana w przypadku parametrów U_{equiv} dla cięższych pierwiastków wyznaczonych w badaniach rentgenowskich, gdzie wartości te mają mocno zawyżoną precyzję. Ewaluacja dokładności otrzymywanych w pomiarach rentgenowskich wartości parametrów wskazuje, że pomiary te mają tendencję do zawyżania wartości U_{equiv} dla atomów wodoru oraz zaniżania długości wiązań z atomami wodoru. Dokładniejsza analiza wskazuje, że długości wiązań typu N–H są mocniej niedoszacowane niż wiązania typu C–H. W przypadku kątów walencyjnych i torsyjnych żadna wyraźna zależność nie została zaobserwowana.