



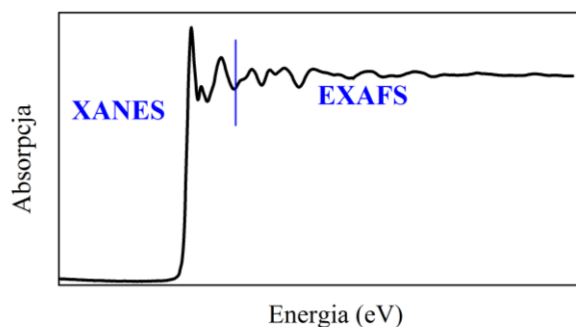
## Rentgenowska spektroskopia absorpcyjna

*Aleksandra Drzewiecka-Antonik,  
Marcin T. Klepka, Anna Wolska*

*Instytut Fizyki Polskiej Akademi Nauk, Warszawa*

Rentgenowska spektroskopia absorpcyjna, często definiowana skrótem XAS bądź XAFS (ang. *X-ray Absorption Spectroscopy*, *X-ray Absorption Fine Structure*), wykorzystuje oddziaływanie rentgenowskiego promieniowania synchrotronowego z badaną próbką. Jest to unikatowa technika spektroskopowa, która pozwala na wyznaczenie lokalnej atomowej struktury wokół większości pierwiastków dla próbek w różnym stanie skupienia (pomiaru mogą być prowadzone w fazie stałej, ciekłej czy gazowej). Metoda ta może być stosowana zarówno do badania związków krystalicznych jak i amorficznych. Głównymi zaletami tej techniki jest selektywność ze względu na rodzaj badanego pierwiastka, wysoka czułość (na poziomie od 10 do 100 cząsteczek na mol) oraz stosunkowo krótki czas pomiaru (rejestracja widma eksperymentalnego zajmuje od milisekund do kilkudziesięciu minut).

Widmo XAS dzieli się na dwa obszary (rys. 1). Pierwszy z nich mieści się w przedziale od 30 eV przed krawędzią absorpcji do ok. 50 eV za krawędzią i reprezentuje strukturę bliską krawędzi absorpcji. Zakres ten nazywany jest XANES (ang. *X-ray Absorption Near Edge Structure*).



Rys. 1. Widmo XAS

Kształt widm XANES zależy od rodzaju i sposobu koordynowania atomów wokół analizowanego centrum absorpcji. Natomiast położenie krawędzi dostarcza informacji o stopniu utlenienia absorbującego atomu w badanym związku chemicznym, gdyż zmiana ładunku zlokalizowanego na danym atomie przesuwają energetycznie położenie krawędzi. Drugi zakres widma zawiera się w przedziale od ok. 50 eV do ok. 1000 eV za krawędzią i odpowiada rozciągniętej subtelnej strukturze widma absorpcyjnego promieniowania X (ang. *Extended*

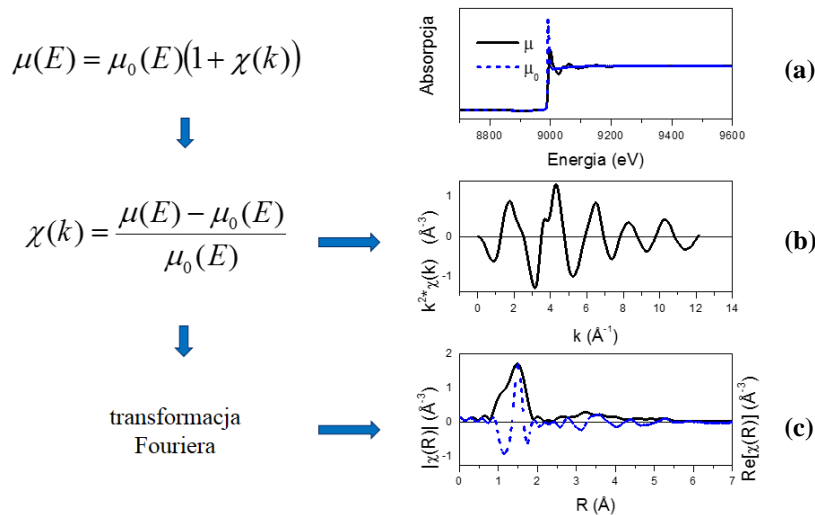
*X-ray Absorption Fine Structure* – EXAFS). Obszar ten można opisać za pomocą tzw. funkcji EXAFS:

$$\chi(k) = \sum_i \frac{N_i f_i(k)}{kr_i^2} \exp(-2k^2 \sigma_i^2) \sin[2kr_i + \delta_i(k)],$$

gdzie  $N_i$  oznacza liczbę atomów w  $i$ -tej sferze koordynacyjnej,  $r_i$  – odległość  $i$ -tej sfery od atomu absorbującego,  $f_i$  – amplitudę wstecznego rozpraszania od sąsiednich atomów leżących w  $i$ -tej sferze koordynacyjnej,  $\sigma_i^2$  – czynnik Debye'a-Wallera opisujący ruch cieplny atomów i nieuporządkowanie strukturalne w  $i$ -tej sferze,  $\delta_i$  – przesunięcie fazowe funkcji falowej fotoelektronu przy rozpraszaniu na  $i$ -tym atomie,  $i$  – wskaźnik, który oznacza sumowanie po kolejnych sferach koordynacyjnych.

Podsumowując, analiza EXAFS dostarcza informacji o najbliższych sferach koordynacyjnych atomu absorbującego promieniowanie rentgenowskie, czyli w oscylacjach zawarta jest informacja na temat rodzaju, liczby i położenia sąsiednich atomów.

W metodzie XAS badana jest zmiana współczynnika absorpcji  $\mu$  w funkcji energii  $E$ . Badanie lokalnego otoczenia atomów wybranego pierwiastka jest możliwe poprzez dostrojenie energii promieni rentgenowskich do danej krawędzi absorpcji, co czyni tę metodę selektywną ze względu na rodzaj pierwiastka. Współczynnik absorpcji  $\mu$  dla danego atomu modyfikowany jest przez obecność atomów z nim sąsiadujących (rys. 2). Zależność ta przedstawiona jest następująco:  $\mu(E) = \mu_0(E)(1 + \chi(k))$ , gdzie  $\mu_0$  to współczynnik absorpcji dla izolowanego atomu, a  $\chi(k)$  – oscylacje EXAFS.



Rys. 2. Funkcja EXAFS jako  $\mu(E)$  (a),  $\chi(k)$  (b) oraz transformata Fouriera funkcji EXAFS (c)

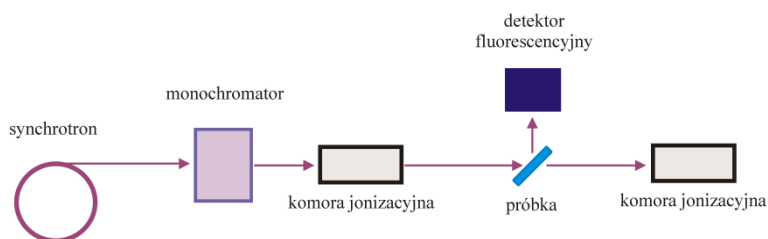
Wykonując transformatę Fourierską oscylacji EXAFS, otrzymuje się krzywą w przestrzeni rzeczywistej, reprezentującą uśredniony rozkład atomów wokół centrum absorbującego (rys. 2). Pozycje pików po uwzględnieniu przesunięcia fazowego odpowiadają odległościom pomiędzy absorberem i atomami sąsiadów. Natomiast ich amplitudy i kształty zależą od typu i liczby sąsiednich atomów.

### **Pomiar i analiza wyników – przykładowe zastosowanie metody XAFS**

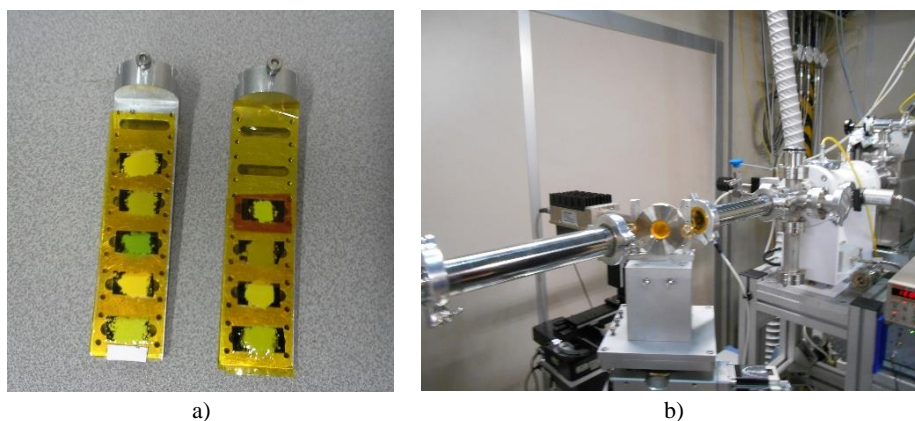
Pomiary widm absorpcyjnych przeprowadzane są w laboratoriach usytuowanych przy synchrotronach. Typowy układ eksperymentalny, którego schemat widoczny jest na rysunku 3, składa się z następujących elementów:

- 1) *Źródło promieniowania rentgenowskiego* – najczęściej synchrotron.
- 2) *Monochromator* – zbudowany np. z kryształów krzemu, wykorzystuje dyfrakcję Bragga w celu wybrania wiązki promieniowania o pożądanej energii.
- 3) *Badana próbka* – dla większości próbek nie jest potrzebna specjalna preparatyka. Wymagają jej próbki proszkowe, które przygotowuje się w formie pastylek (poprzez zmieszanie badanej substancji z celulozą lub BN) lub bezpośrednio nanosi się jednorodną warstwę materiału proszkowego o odpowiedniej grubości np. na taśmę węglową (rys. 4a). Gotową próbkę wprowadza do układu badawczego pod kątem prostym względem padającej wiązki promieniowania synchrotronowego (pomiar w modzie transmisyjnym). W przypadku próbek o dużym rozcieńczeniu przeprowadza się pomiar w modzie fluorescencyjnym. W tym celu próbkę umieszcza się pod kątem  $45^\circ$  względem padającej na nią wiązki promieni oraz detektora (rys. 4b). W przypadku takiego ustawienia promieniowanie rozproszone ma niewielki wkład, co jest związane z liniową polaryzacją promieniowania synchrotronowego.
- 4) *Detektor* – jego budowa zależy od zakresu energetycznego oraz typu pomiaru. Najprostszym sposobem pomiaru absorpcji jest pomiar transmisji promieniowania rentgenowskiego przechodzącego przez badaną, homogeniczną próbkę (koncentracja badanego pierwiastka dla tej metody musi być wyższa od 10%) o grubości  $d$ . Znając natężenie  $I_0$  oraz  $I$ , jesteśmy w stanie w oparciu o prawo Lamberta-Beera,  $\mu d = -\ln(I/I_0)$ , wyznaczyć współczynnik absorpcji  $\mu(E)$ . W celu pomiaru sygnału jako detektorów używa się komór jonizacyjnych wypełnionych gazem obojętnym (np. argonem lub azotem). Pierwszy z nich umieszcza się przed próbką w celu pomiaru  $I_0$ , drugi za badanym obiektem w celu zliczenia  $I$ . Obydwa detektory znajdują się w linii wiązki promieni rentgenowskich. W celu kontrolnego wyznaczenia położenia energetycznego krawędzi absorpcji, dodatkowo można umieścić próbkę referencyjną. W przypadku pomiaru fluorescencji używa się najczęściej detektorów półprzewodnikowych ustawionych pod kątem prostym względem padającej wiązki promieni rentgenowskich. Dla próbek o dużym stężeniu

i grubości, detektor półprzewodnikowy zastępuje się analizatorem energii elektronów, rejestrującym charakterystyczne energie elektronów Augera lub pomiarem prądu z próbki.



Rys. 3. Schemat układu eksperymentalnego do pomiaru absorpcji promieni rentgenowskich



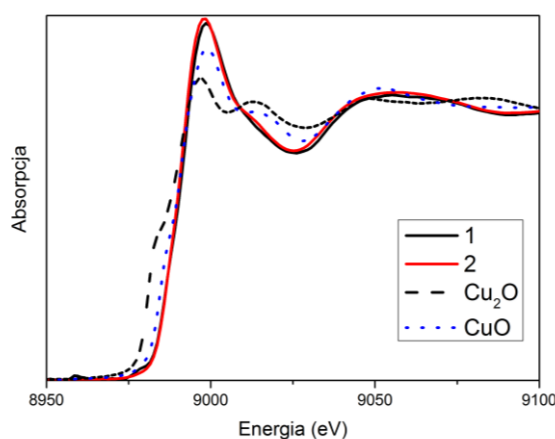
Rys. 4. Próbkki kompleksów metalo-organicznych rozprowadzone na taśmie węglowej i przymocowane do wielopozycyjnego uchwytu (a). Kuweta cieczowa z roztworem badanej substancji wprowadzona do układu pomiarowego (b).

Wykorzystanie metody XAFS, ze względu na unikatowe informacje, jakich dostarcza, obejmuje wiele dziedzin nauki oraz rodzajów materiałów. Służy ona do rozwiązywania problemów i zagadek w dziedzinie badań podstawowych jak i aplikacyjnych.

W Instytucie Fizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, interdyscyplinarna grupa zajmuje się wykorzystywaniem tej techniki do badań m.in. sposobu koordynowania aktywnych biologicznie ligandów do metali przejściowych. Poznanie lokalnego otoczenia kationów metali w tego typu związkach przybliży nas do zrozumienia mechanizmu działania potencjalnego leku. Możliwości analityczne metody zostaną przedstawione (rys. 5) na przykładzie kompleksów Cu(II) z pochodnymi hydroksykumaryny: 6-acetylo-7-hydrokso-4-metylokumaryną (linia 1) i 8-acetylo-7-hydrokso-4-metylokumaryną (linia 2) [1]. Pierwszy kompleks wykazuje aktywność przeciwbakteryjną oraz przeciwnowotworową, na-

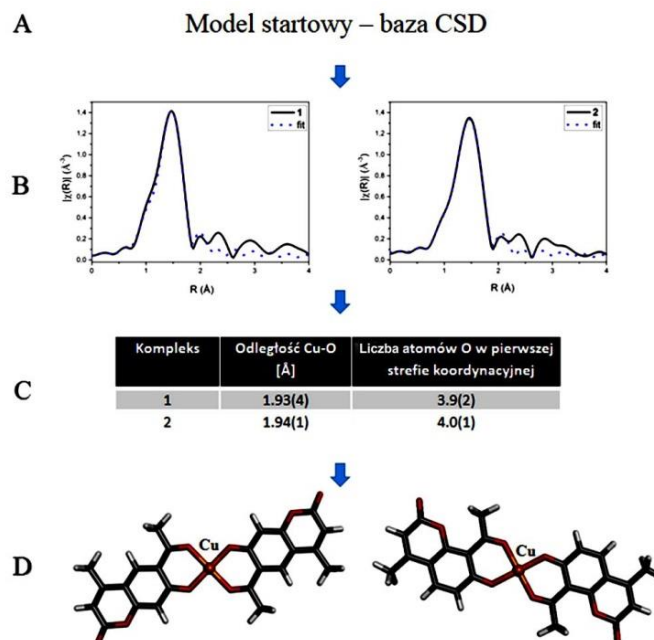
tomiast drugi związek posiada właściwości przeciwgrzybicze porównywalne z komercyjnie stosowanym lekiem – flukonazolem.

Dla tych dwóch związków wykonano pomiary współczynnika absorpcji w funkcji energii wiązki padających fotonów w ośrodku synchrotronowym MAX-lab w Szwecji. W celu określenia stopnia utlenienia miedzi w kompleksach zastosowano jakościową analizę widm XANES. Polegała ona na porównaniu energetycznego położenia krawędzi absorpcji promieniowania rentgenowskiego badanych związków ze związkami referencyjnymi, tlenkiem miedzi(I) oraz tlenkiem miedzi(II). Wraz ze wzrostem stopnia utlenienia metalu krawędź absorpcji przesuwa się w kierunku większych wartości energii. Porównanie obszaru XANES dla badanych kompleksów miedzi z widmami  $\text{Cu}_2\text{O}$  i  $\text{CuO}$  (rys. 5) pozwoliło stwierdzić, iż analizowane związki zawierają kation  $\text{Cu}^{2+}$  [1].



Rys. 5. Porównanie widm XANES dla dwóch kompleksów  $\text{Cu(II)}$  z pochodnymi hydroksykumaryny oraz referencyjnych tlenków.

Na podstawie danych strukturalnych z krystalograficznej bazy CSD (ang. *Cambridge Structural Database*) zaproponowano model cząsteczki kompleksu. Modelu tego użyto jako wyjściowego do analizy EXAFS, a następnie zwiększono dokładność. Poglądowy schemat analizy EXAFS prezentuje rys. 6. Parametry dopasowania z analizy EXAFS pozwoliły stwierdzić, iż oba badane kompleksy charakteryzują się liczbą koordynacyjną równą 4. Wielościan koordynacyjny budowany jest przez cztery atomy tlenu ( $\text{CuO}_4$ ): dwa atomy O zdeprotonowanej grupy hydroksylowej i dwa atomy O grupy acetylowej. Dla całej serii kompleksów spodziewaną koordynacją jest koordynacja płaskiego kwadratu [1].



Rys. 6. Schemat analizy EXAFS: A – zaproponowanie modelu startowego, B – dopasowanie modelu do danych eksperymentalnych, C – ostateczne parametry dopasowania dostarczające informacji o lokalnym otoczeniu jonu centralnego (absorbującego) w badanym związku, D – zaproponowanie schematu koordynowania cząsteczki organicznej do kationu metalu.

Prezentowany przykład pokazuje zastosowanie absorpcyjnej spektroskopii rentgenowskiej do badania związków nieposiadających dalekiego porządku. Za jej pomocą określono stopień utlenienia analizowanego metalu jak również zbadano lokalne otoczenie atomu absorbującego. Łącząc te dane z informacjami pochodzącymi z innych technik, zarówno eksperymentalnych jak i obliczeniowych, udało się zaproponować model strukturalny dla bioaktywnych kompleksów Cu(II) z pochodnymi kumaryny.

### Literatura

- [1] M.T. Klepka, A. Drzewiecka-Antonik, A. Wolska, P. Rejmak, K. Ostrowska, E. Hejchman, H. Kruszewska, A. Czajkowska, I. Młynarczuk-Biały, W. Ferenc, *Journal of Inorganic Biochemistry* **145** (2015) 94

**Zalecany podręcznik** w języku angielskim: Scott Calvin, *XAFS for Everyone*, CRC Press, 2013.

Autorzy zachęcają do lektury rozszerzonej wersji artykułu, który dostępny jest na stronie internetowej *Fotonu*.