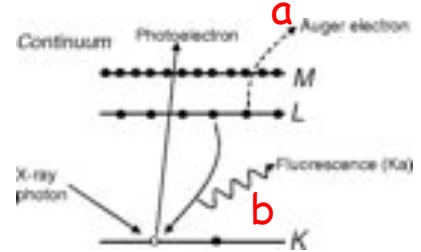


L'indice di rifrazione per i raggi X è circa uguale a 1 → non si possono fabbricare lenti per i raggi X

$$n = \frac{v}{c} = 1 - \delta \Rightarrow \delta \propto \frac{N_{el}}{V} r_{el} \lambda^2 \approx 0$$

Interazione dei raggi X con la materia:

- 1) diffusione (scattering) senza perdita di energia
- 2) diffusione con perdita di energia: scattering incoerente *Compton*
- 3) assorbimento da parte di un elettrone che viene espulso: effetto fotoelettrico: l'atomo eccitato rilassa:
 - a. decade un elettrone esterno nella lacuna e un nuovo el. viene emesso: *Auger*
 - b. decade un elettrone esterno nella lacuna con emissione di onde e.m.: *fluorescenza*



Diffrazione: scattering coerente + interferenza

Onda piana incidente

Onda diffusa a dist r

$$A_0 \cos(2\pi\nu t) \rightarrow A_0 f \cos\left(2\pi\nu\left(t - \frac{r}{c}\right) - \phi\right)$$

f = fattore di scattering; ϕ = sfasamento

1

notazione complessa: $\cos(2\pi\nu t) \rightarrow \exp(2\pi i \nu t)$

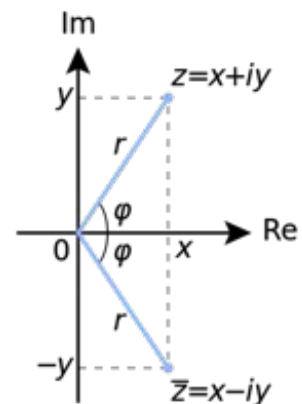
$$z = x + iy = r(\cos\varphi + i \sin\varphi) = rF(\varphi) \quad \frac{dF}{d\varphi} = (-\sin\varphi + i \cos\varphi) = iF \Rightarrow F = e^{i\varphi}$$

$$z = r e^{i\varphi} \quad e^{i\varphi} = \cos\varphi + i \sin\varphi$$

$$A_0 f \exp\left(2\pi i \nu \left(t - \frac{r}{c}\right) - i\phi\right)$$

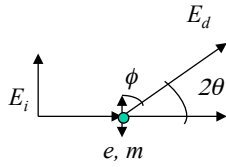
$$f \Rightarrow f e^{-i\phi}$$

scattering da un elettrone libero: $\phi = \pi$



2

**onda piana + elettrone libero:
campo elettrico diffuso da una carica e di massa m (Thomson)**



$$E_d \propto a = \frac{eE_i}{m} \Rightarrow E_d = \frac{1}{r} E_i \left(\frac{e^2}{mc^2} \right) \sin \varphi$$

accelerazione

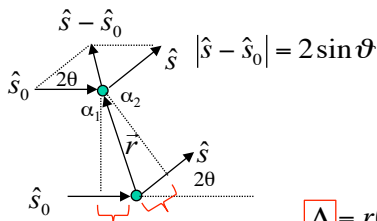
$$I_d = I_i \left(\frac{e^4}{m^2 c^4 r^2} \right) \sin^2 \varphi = I_i \left(\frac{e^4}{m^2 c^4 r^2} \right) \cos^2 2\vartheta \rightarrow \text{dip. da: } \frac{e^4}{m^2} \cos^2 2\vartheta$$

$$m_p \approx 10^3 m_e$$

lo scattering e' dominato dagli elettroni

3

Interferenza costruttiva



$$\Delta = r(\sin \alpha_1 + \sin \alpha_2) = \vec{r} \cdot (\hat{s} - \hat{s}_0) = n\lambda$$

Perché ci sia **int. costruttiva** la **diff. di cammino ottico (Δ)** deve essere pari ad un numero intero di lunghezze d'onda ($n\lambda$)

$$|\hat{s} - \hat{s}_0| = 2 \sin \vartheta$$

$$\Delta = \underbrace{\vec{r} \cdot \text{ver}(\hat{s} - \hat{s}_0)}_d 2 \sin \vartheta = 2d \sin \vartheta = n\lambda \quad \text{Legge di Bragg}$$

Sfasamento

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta = \frac{2\pi}{\lambda} \vec{r} \cdot (\hat{s} - \hat{s}_0) = 2\pi \vec{r} \cdot \vec{S} \quad \text{S = vettore di scattering} \quad \vec{S} \equiv \frac{(\hat{s} - \hat{s}_0)}{\lambda}$$

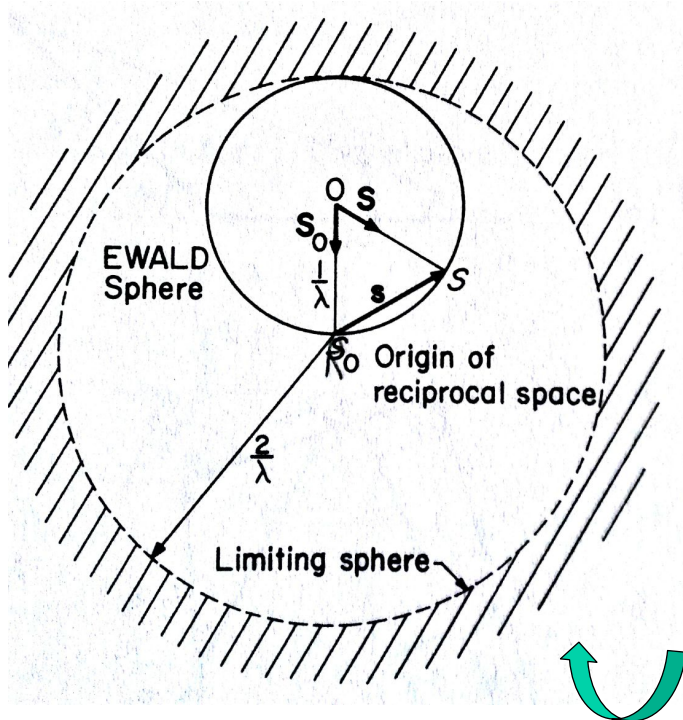
l'intensita' diffusa dipende dall'interferenza che dipende dal vettore di scattering

$$I = I(\vec{S})$$

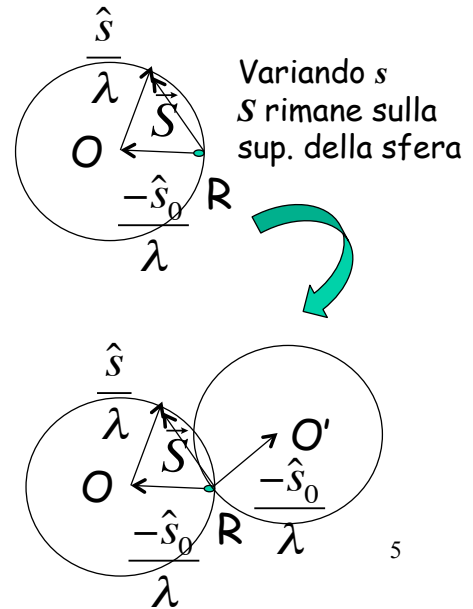
4

$$\vec{S} \equiv \frac{(\hat{s} - \hat{s}_0)}{\lambda}$$

se fisso S ho gradi di liberta' nella terna $\hat{s}, \hat{s}_0, \lambda$



fisso \hat{s}_0, λ



onde diffuse da un sistema di N punti

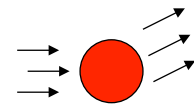
$$A = \sum_{j=1}^N A_j \exp(-2\pi i \vec{r}_j \cdot \vec{S})$$

sfasamento

$$|\vec{S}| \equiv \frac{|\hat{s} - \hat{s}_0|}{\lambda} = \frac{2 \sin \theta}{\lambda}$$

onde diffuse da un atomo
fattore di scattering atomico:

$$f(\vec{S}) = \int_{\text{spazio}} d\vec{r} \rho(\vec{r}) \exp(-2\pi i \vec{S} \cdot \vec{r})$$



densita' elettronica

$$\rho(\vec{r}) = \rho(-\vec{r})$$

distribuzione centrosimmetrica attorno al nucleo

$$f = 2 \int_{\text{spazio}/2} d\vec{r} \rho(\vec{r}) \cos(2\pi \vec{S} \cdot \vec{r}) = f(S) = f\left(\frac{2 \sin \theta}{\lambda}\right)$$

$$f(0) = N_{\text{elettroni}}$$

Simmetria sferica attorno al nucleo

$$f(\vec{S}) = \int_{\text{spazio}} d\vec{r} \rho(\vec{r}) \exp(-2\pi i \vec{S} \cdot \vec{r}) = \int_{\text{spazio}} dr r^2 \sin \vartheta d\vartheta d\varphi \rho(\vec{r}) \exp(-2\pi i S \cdot r \cos \vartheta) =$$

$$= -2\pi \int d\cos \vartheta dr r^2 \rho(r) \exp(-2\pi i S \cdot r \cos \vartheta) = 4\pi \int dr r^2 \rho(r) \frac{\sin(2\pi S \cdot r)}{2\pi S \cdot r}$$

$$f(\vec{S}) \rightarrow f(S) = f\left(\frac{2 \sin \vartheta}{\lambda}\right) = 4\pi \int_0^{\infty} dr r^2 \rho(r) \frac{\sin(2\pi S \cdot r)}{2\pi S \cdot r}$$

Fattore di scattering di un sistema di atomi
 fattore di scattering della cella elementare = **fattore di struttura**

$$F(\vec{S}) = \sum_{j=1}^N f_j(S) \exp(-2\pi i \vec{r}_j \cdot \vec{S})$$

fattore di scattering dell'atomo j

7

dipende dalla posizione dell'origine

$$F(\vec{S}) = \sum_{j=1}^N f_j(S) \exp(-2\pi i \vec{r}_j \cdot \vec{S})$$

$$I(\vec{S}) \propto |F(\vec{S})|^2 = \sum_{i,j=1}^N f_i(S) f_j^*(S) \exp(-2\pi i (\vec{r}_i - \vec{r}_j) \cdot \vec{S})$$

non dipende dalla posizione dell'origine

8

Fattore di scattering di un cristallo

Reticolo cristallino= reticolo di punti

$$\vec{Q}_{tuv} = t\vec{a} + u\vec{b} + v\vec{c}$$

$t, u, v \in \mathfrak{Z}$
cella primitiva

Fattore di scattering del reticolo cristallino

$$K(\vec{S}) = F(\vec{S}) \sum_{t=0}^{n_1} \exp(2\pi i t \vec{a} \cdot \vec{S}) \sum_{u=0}^{n_2} \exp(2\pi i u \vec{b} \cdot \vec{S}) \sum_{v=0}^{n_3} \exp(2\pi i v \vec{c} \cdot \vec{S})$$

Cella elementare

$$\sum_{t=0}^n \exp(2\pi i t \vec{a} \cdot \vec{S}) = ?$$

Serie geometrica

$$S_n = \sum_{i=0}^n x^i \quad \Rightarrow \quad S_{n+1} = S_n x + 1 = S_n + x^{n+1} \quad \Rightarrow \quad S_n = \frac{1 - x^{n+1}}{1 - x}$$

numero di celle elementari nella dir. a

$$\sum_{t=0}^n \exp(2\pi i t \vec{a} \cdot \vec{S}) = \sum_{t=0}^n \left(\exp(2\pi i \vec{a} \cdot \vec{S}) \right)^t = \frac{1 - \exp(2\pi i (n+1) \vec{a} \cdot \vec{S})}{1 - \exp(2\pi i \vec{a} \cdot \vec{S})} = \exp(\pi i n \vec{a} \cdot \vec{S}) \frac{\sin(\pi (n+1) \vec{a} \cdot \vec{S})}{\sin(\pi \vec{a} \cdot \vec{S})}$$

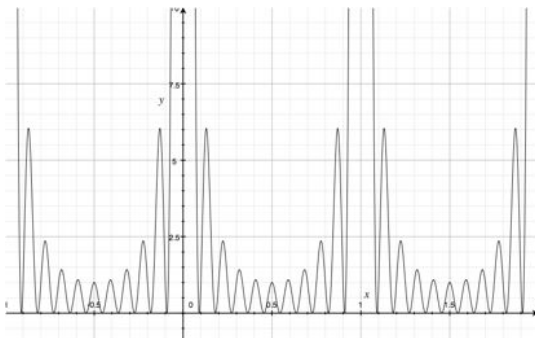
9

$$2\pi \vec{a} \cdot \vec{S} = A$$

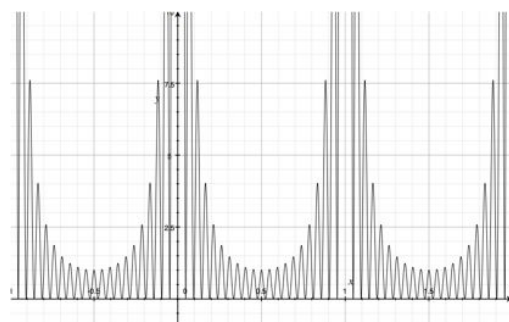
$$\frac{1 - \exp(i(n+1)A)}{1 - \exp(iA)} = \frac{\exp(i \frac{(n+1)A}{2}) \exp(-i \frac{(n+1)A}{2}) - \exp(i \frac{(n+1)A}{2})}{\exp(i \frac{A}{2}) \exp(-i \frac{A}{2}) - \exp(i \frac{A}{2})}$$

$$\left| \frac{1 - \exp(i(n+1)A)}{1 - \exp(iA)} \right|^2 = \frac{\sin^2 \frac{(n+1)A}{2}}{\sin^2 \frac{A}{2}} = \frac{\sin^2 (n+1) \pi \vec{a} \cdot \vec{S}}{\sin^2 \pi \vec{a} \cdot \vec{S}}$$

n=10



n=20



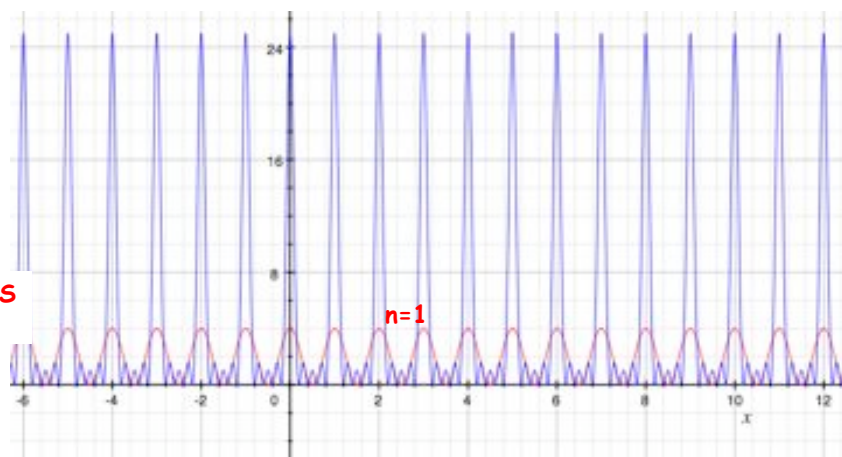
$$I \propto |K|^2 \Rightarrow \left| \sum_{l=0}^n \exp(2\pi i l \vec{a} \cdot \vec{S}) \right|^2 = \left(\frac{\sin(\pi(n+1)\vec{a} \cdot \vec{S})}{\sin(\pi\vec{a} \cdot \vec{S})} \right)^2$$

$\neq 0$

Selezione di numeri interi

$$\vec{a} \cdot \vec{S} = h \in \mathfrak{S}$$

rende possibili solo alcuni valori di S
definisce il reticolo reciproco



$$h = \vec{a} \cdot \vec{S} = |\vec{a}| |\vec{S}| \cos \omega = |\vec{a}| \cos \omega \left(\frac{2 \sin \theta}{\lambda} \right) = d \left(\frac{2 \sin \theta}{\lambda} \right)$$

$$|\vec{a}| \cos \omega = d \quad \downarrow$$

La proiezione di \mathbf{a} su \mathbf{S} è uguale alla distanza tra piani reticolari d

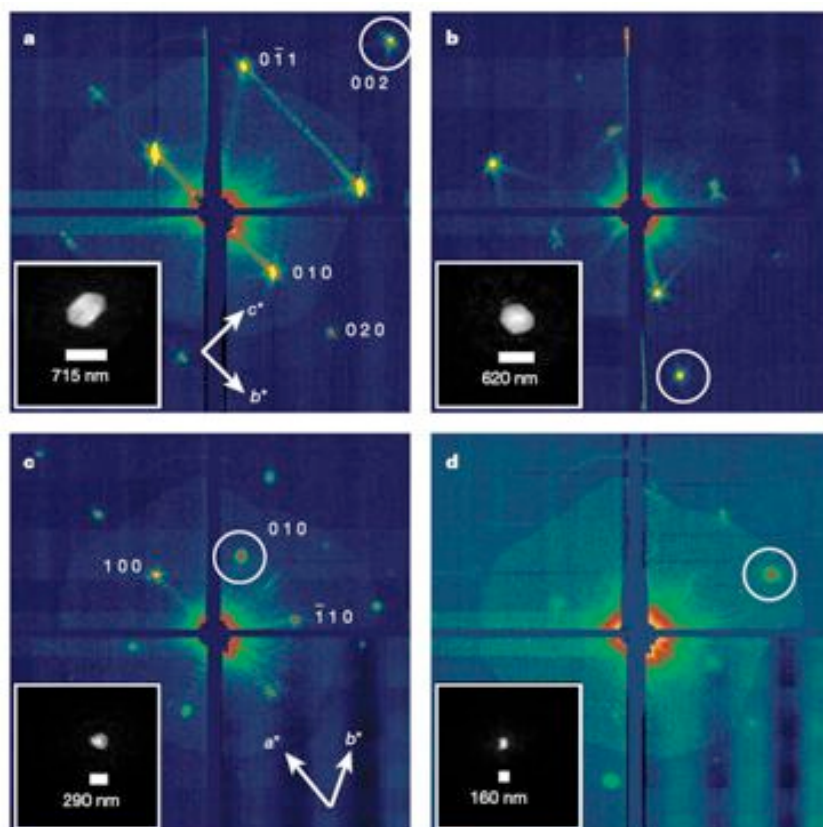
$$h = d \left(\frac{2 \sin \theta}{\lambda} \right)$$

Legge di Bragg

$h \in \mathfrak{S}$

11

Femtosecond X-ray protein nanocrystallography



Low-angle diffraction patterns recorded revealing coherent diffraction from the structure of the photosystem I nanocrystals. In c we count seven fringes in the b^* direction, corresponding to nine unit cells, or 250 nm. Insets, real-space images of the nanocrystal, determined by phase retrieval (using the Shrinkwrap algorithm15) of the circled coherent Bragg shape transform.

12

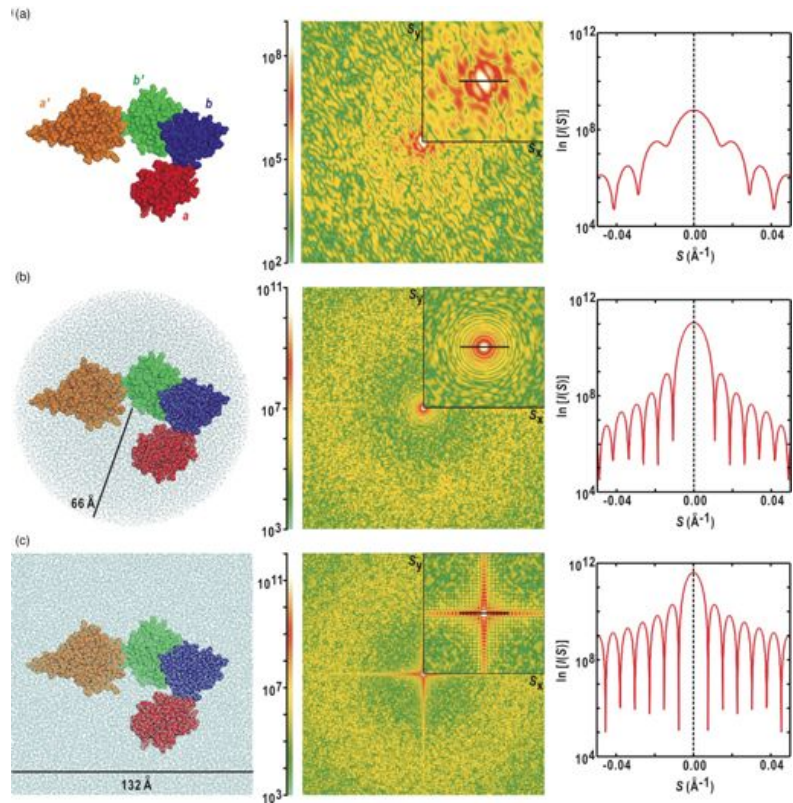
Singole proteine = oggetti non periodici

$$I(\vec{S}) = |F(\vec{S})|^2$$

$$F(\vec{S}) = \int d\vec{r} \rho(\vec{r}) \exp(2\pi i \vec{S} \cdot \vec{r})$$

Application of a real-space three-dimensional image reconstruction method in the structural analysis of noncrystalline biological macromolecules enveloped by water in coherent x-ray diffraction microscopy

Diffraction patterns of a PDI molecule in a vacuum (a), in a spherical droplet of water with a 66 Å radius (b), and in a cube with 132 Å sides



Reticolo reciproco

Reticolo cristallino = reticolo diretto $\vec{Q}_{uvw} = t\vec{a} + u\vec{b} + v\vec{c}$

Si definisce il reticolo reciproco: $\vec{S}_{hkl} = h\vec{a}^* + k\vec{b}^* + l\vec{c}^*$

... in modo tale che il prodotto scalare di un vettore di ret. diretto e uno di ret. reciproco sia uguale ad un numero intero

$$\vec{Q}_{uvw} \cdot \vec{S}_{hkl} = (t\vec{a} + u\vec{b} + v\vec{c}) \cdot (h\vec{a}^* + k\vec{b}^* + l\vec{c}^*) \in \mathfrak{Z}$$

$$\vec{a} \cdot \vec{S} = h \in \mathfrak{Z} \Rightarrow \vec{a} \cdot \vec{a}^* = 1 \Rightarrow |\vec{a}^*| = \frac{1}{|\vec{a}|} \Rightarrow \vec{a} = a\hat{a}; \vec{a}^* = \frac{\hat{a}}{a}$$

$$\vec{b} \cdot \vec{S} = k \in \mathfrak{Z}$$

$$\vec{c} \cdot \vec{S} = l \in \mathfrak{Z}$$

L'interferenza tra riflessi diffusi dal reticolo diretto **seleziona** (definisce) il reticolo reciproco

$$\vec{Q}_{uvw} \cdot \vec{S}_{hkl} = (ta\hat{a} + ub\hat{b} + vc\hat{c}) \cdot (h\frac{\hat{a}}{a} + k\frac{\hat{b}}{b} + l\frac{\hat{c}}{c}) \in \mathfrak{Z}$$

$$\vec{Q}_{uvw} \cdot \vec{S}_{hkl} = th + uk + vl = m \in \mathfrak{Z}$$

Variando m si ottiene una famiglia di piani reticolari paralleli

$$\vec{Q}_{tuv} \cdot \vec{S}_{hkl} = th + uk + vl = m \in \mathfrak{S}$$

$$hx + ky + lz = m \in \mathfrak{S} \quad \text{Eq. del piano, } x, y, z \text{ sono su di un piano}$$

Gli indici h, k, l definiscono una famiglia di piani paralleli: se si sceglie $m = 1$ allora il piano interseca gli assi del reticolo diretto nei punti

$$\left(\frac{1}{h}, \frac{1}{k}, \frac{1}{l} \right)$$

Gli indici h, k, l sono detti **indici di Miller** e definiscono una famiglia di piani paralleli nel ret. diretto

Intensità diffusa in un esperimento di scattering

$$I \propto \frac{d\sigma}{d\omega} = |f|^2 \propto \left| \int d\vec{x}' e^{i\vec{q}\vec{x}'} V(\vec{x}') \right|^2 \propto \left| \int d\vec{x}' e^{i\vec{q}\vec{x}'} \rho(\vec{x}') \right|^2$$

$$\rho_{\text{cristallo}}(\vec{x}) = \sum_{t,u,v}^{N_u, N_v, N_w} \rho_{\text{cella}(t,u,v)}(\vec{x})$$

15

Intensità diffusa in un esperimento di scattering da cristallo

Reticolo cristallino: $\vec{Q}_{tuv} = t\vec{a} + u\vec{b} + v\vec{c}$

Fattore di scattering del cristallo

$$K(\vec{S}) = \int_{\text{cristallo}} d\vec{r} e^{i2\pi\vec{S}\cdot\vec{r}} \rho(\vec{r}) = \sum_{\text{cristallo}} e^{i2\pi\vec{S}\cdot\vec{Q}} \int_{\text{cella}} d\vec{r} e^{i2\pi\vec{S}\cdot\vec{r}} \rho(\vec{r}) = \sum_{\text{cristallo}} e^{i2\pi\vec{S}\cdot\vec{Q}} F(\vec{S})$$

Fattore di scattering della cella elementare = **fattore di struttura**

$$F(\vec{S}) = \sum_{j=1}^N f_j(\vec{S}) \exp(2\pi i \vec{r}_j \cdot \vec{S}) = \int_{\text{cella}} d\vec{r} e^{i2\pi\vec{S}\cdot\vec{r}} \rho(\vec{r})$$

$$K(\vec{S}) = F(\vec{S}) \sum_{t=0}^{n_1} \exp(2\pi i t \vec{a} \cdot \vec{S}) \sum_{u=0}^{n_2} \exp(2\pi i u \vec{b} \cdot \vec{S}) \sum_{v=0}^{n_3} \exp(2\pi i v \vec{c} \cdot \vec{S})$$

16

Intensità diffusa in un esperimento di scattering

$$\hat{s}_0 \rightarrow \hat{s} \quad 2\theta$$

$$\vec{S} = \frac{(\hat{s} - \hat{s}_0)}{\lambda}$$

$$I(\vec{S}) \propto |K(\vec{S})|^2 = \left| \sum_{\text{cristallo}} e^{i2\pi\vec{S}\cdot\vec{Q}} F(\vec{S}) \right|^2$$

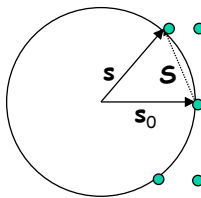
La presenza del reticolo cristallino **seleziona** solamente quei valori di S che corrispondono al reticolo reciproco (S deve essere un vettore di reticolo reciproco). **Il fattore di struttura si misura solo su valori discreti (su un reticolo)!**

$$S \text{ continuo} \quad I \propto |F(\vec{S})|^2 \xrightarrow{\text{cristallo}} |F(h,k,l)|^2 \quad S \text{ discreto}$$

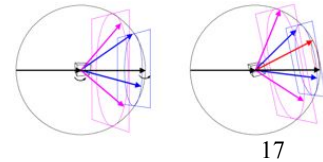
Sfera di Ewald

Si ha diffrazione solamente quando la **sfera di Ewald** (definita dalla lunghezza d'onda λ) interseca un punto del **reticolo reciproco**

Ruotando il cristallo si ruota il reticolo reciproco

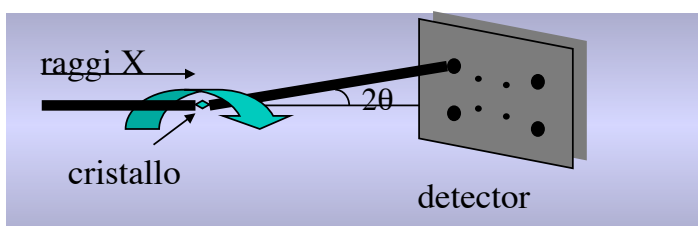
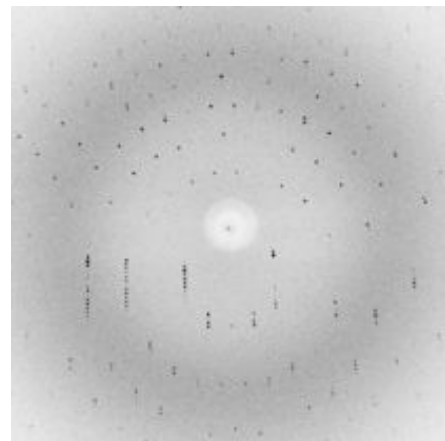
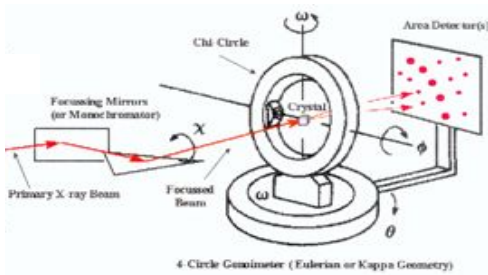


$$|s| = \frac{1}{\lambda} \quad \text{raggio della sfera}$$



http://www-structmed.cimr.cam.ac.uk/Course/Adv_diff2/data_animation.html

Esperimento di diffrazione



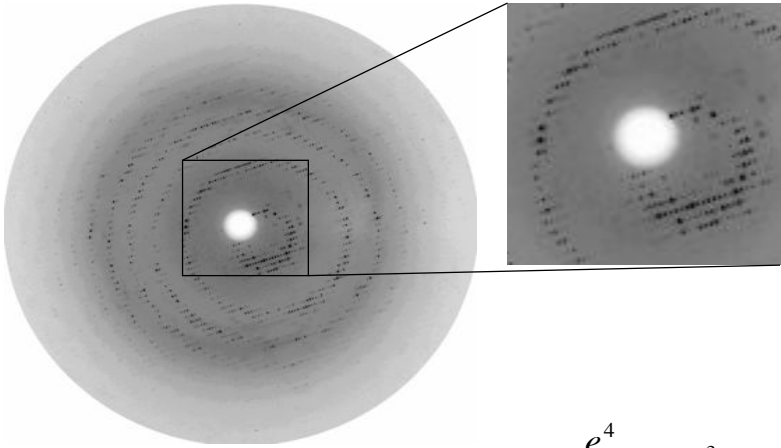
Corso di cristallografia

<http://escher.epfl.ch/eCrystallography/>

la sfera di Ewald

<http://escher.epfl.ch/x-ray/diff.mpeg>

Risultato sperimentale



h	k	l	I	σ
0	0	18	5377.7	426.7
0	0	30	87315.1	7080.9
0	0	39	79150.9	5678.3
0	0	42	88255.3	6544.6
0	0	45	14582.6	1511.1
0	0	48	8125.2	596.7
0	0	51	46929.6	3740.0
0	0	54	79917.3	8107.1
0	0	57	2243.6	316.8
0	0	60	21097.8	1703.7
0	0	63	90391.1	6236.3
0	0	66	96333.2	9161.3
0	0	72	38851.1	2596.8
0	0	75	106827.0	11204.0
0	0	78	76020.8	6028.0
0	0	84	882.7	197.4

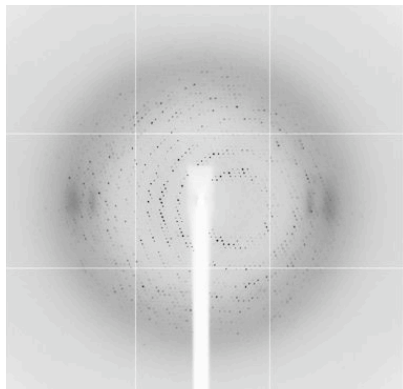
$$I(h,k,l) = \frac{e^4}{m^2 c^4 \omega} I_0 \lambda^3 ALP \frac{V_x}{V_0} |F(h,k,l)|^2$$

- I_0 = intensità raggio incidente
- λ = lunghezza d'onda
- A = correzione assorbimento
- L, P = fattore di Lorenz, Polarizzazione
- V_x = volume cristallo
- V_0 = volume unità di cella
- ω = velocità di rotazione del cristallo

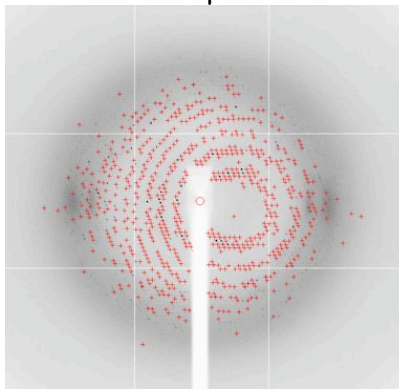
19

Indicizzazione

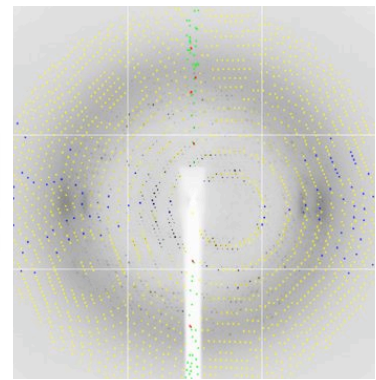
Immagine ($\Delta\phi=1^\circ$)



Trova picchi



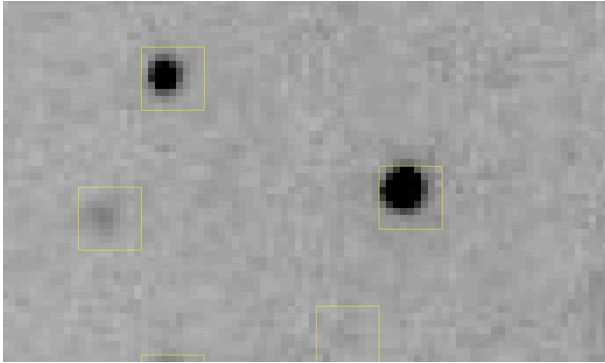
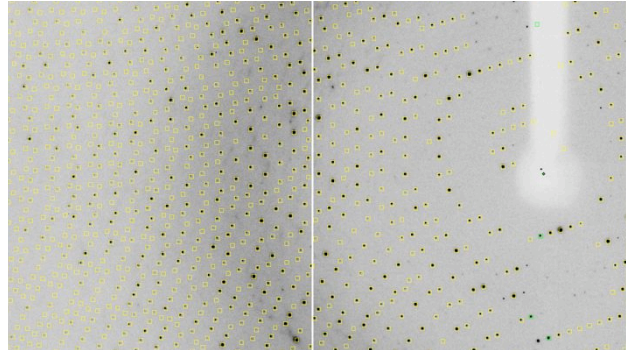
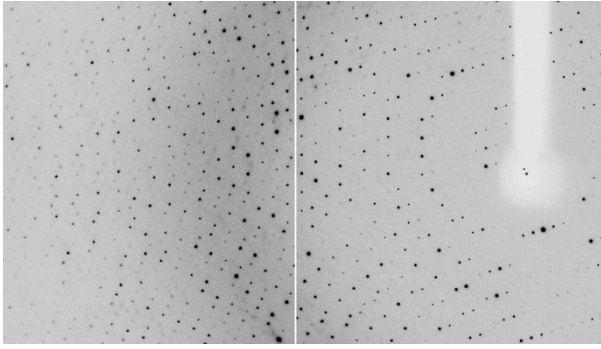
Indicizzazione no. 10, gruppo spaziale P3



Mosaicità 0.6°

No	PENALTY	LATT	a	b	c	alpha	beta	gamma	Possible spacegroups
14	58	oC	138.62	240.03	148.16	89.9	89.9	90.0	C222,C2221
13	57	mP	138.62	148.16	138.54	90.2	120.0	89.9	P2,P21
12	56	mC	138.62	240.03	148.16	89.9	90.1	90.0	C2
11	56	mC	240.03	138.62	148.16	89.9	90.1	90.0	C2
10	3	hP	138.54	138.62	148.16	89.9	90.2	120.0	P3,P31,P32,P312,P321,P3112,P3121,P3212,P3221,P6,P61,P65,P62,P64,P63,P622,P6122,P6522,P6222,P6422,P6322
9	3	mP	138.54	148.16	138.62	89.9	120.0	90.2	P2,P21
8	3	oC	138.54	240.16	148.16	90.0	90.2	90.0	C222,C2221
7	3	mC	138.64	240.00	148.16	89.8	90.1	90.0	C2
6	3	oC	138.64	240.00	148.16	89.8	90.1	90.0	C222,C2221
5	2	mC	240.16	138.54	148.16	90.2	90.0	90.0	C2
4	1	mC	138.54	240.16	148.16	90.0	90.2	90.0	C2
3	1	mC	240.00	138.64	148.16	90.1	90.2	90.0	C2
2	1	aP	138.54	138.62	148.16	89.9	90.2	120.0	P1
1	0	aP	138.54	138.62	148.16	89.9	89.8	60.0	P1

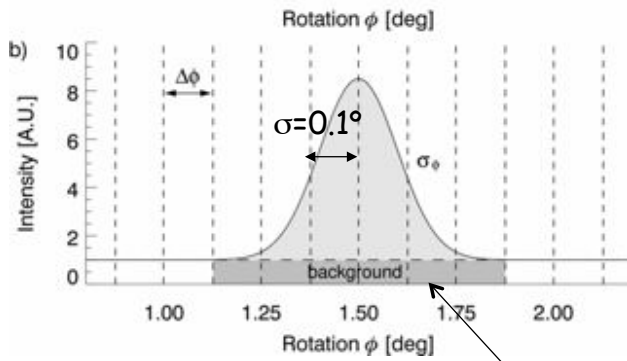
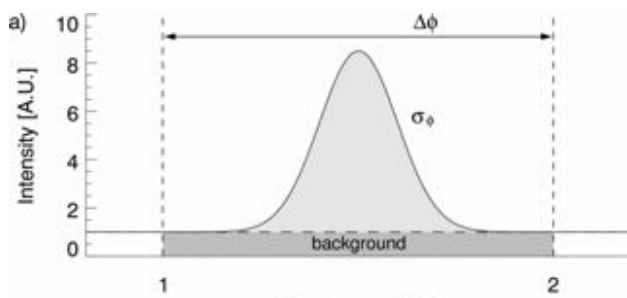
20



114	115	130	110	111	121	125	126	137	127	129	137	143	146	144	142	134	136	143	137	134	
117	127	116	116	122	123	133	127	131	127	125	131	134	153	151	146	149	145	153	136	135	
124	136	128	123	135	134	129	117	128	118	120	134	140	140	144	143	134	151	138	134	133	
121	114	124	114	121	128	124	130	135	128	133	145	141	141	243	235	287	205	159	153	133	136
133	128	111	122	127	123	134	134	136	142	143	170	251	438	555	458	285	185	168	143	141	
134	129	131	123	129	138	134	139	142	145	169	209	437	625	1002	762	415	239	165	132	135	
119	137	134	125	122	134	135	137	143	135	152	206	534	1189	1435	1940	447	230	172	144	132	
131	126	135	128	128	135	134	144	137	132	149	232	486	877	1122	795	368	206	165	140	127	
133	140	129	122	123	132	135	134	132	138	146	175	256	389	471	389	250	162	143	134	127	
135	132	129	127	123	132	129	124	131	129	136	148	171	199	232	216	173	159	140	141	122	
115	122	113	125	133	134	127	132	138	129	129	138	140	146	146	145	156	151	142	151	148	137
117	117	118	123	132	135	125	135	135	135	140	138	138	137	136	145	142	138	141	148	136	
125	128	127	123	136	133	124	123	123	136	140	139	138	133	137	138	135	134	129	131	136	

21

Mosaicita'



mosaicita' $\sigma = 0.1^\circ$

Riflesso parziale

22

Scalatura dei dati: $\forall h \{I_{hi}\}_{i=1}^{N_i} \Rightarrow I_h$

$$h = \{h, k, l\}$$

N=numero di osservazioni

(Vengono usati anche riflessi parziali)

Per scalare si minimizza la seguente equazione: $\psi = \psi(I_h) = \sum_h \left(\sum_i \varphi_{hi}^2 \right)$

$$\varphi_{hi}^2 = W_{hi} (I_{hi} - G_{l(i)} I_h)^2$$

h = indice hkl del riflesso

i = i -esima osservazione dell'intensità (riflesso h)

W = errore sulla singola intensità (stimato sperimentalmente)

G = fattore di scala che dipende dall'immagine di diffrazione raccolta (**incognita**)

l = indice dell'immagine di diffrazione

I_{hi} = intensità raccolta sperimentalmente

I_h = intensità scalata a partire dalle intensità raccolte sperimentalmente (**incognita**)

Minimizzazione:

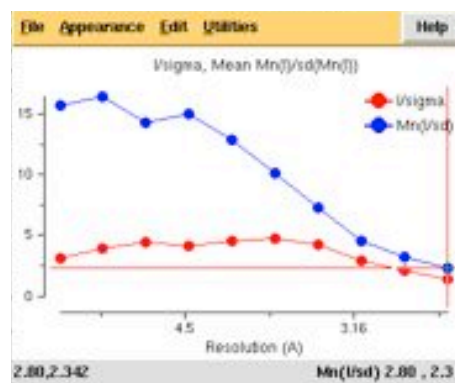
$$\frac{\partial \psi}{\partial I_h} = 0 \Rightarrow I_h = \frac{\sum_i W_{hi} G_{l(i)} I_{hi}}{\sum_i W_{hi} G_{l(i)}^2}$$

Procedura iterativa per stimare il fattore di scala $G_{l(i)}$

23

Scaling dei dati:

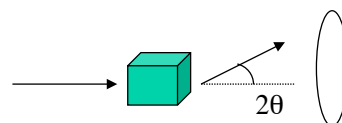
	Overall	InnerShell	OuterShell
Low resolution limit	40.00	40.00	2.95
High resolution limit	2.80	8.85	2.80
Rmerge	.130	.090	.462
Rpim (all I+ & I-)	.086	.062	.320
Total number of obs.	207114	7104	27384
Total number unique	68480	2294	9565
Mean (I) /sd(I)	8.6	15.7	2.3
Completeness	4.3	90.1	91.7
Multiplicity	3.0	3.1	2.9



Risoluzione (legge di Bragg)

$$d = \frac{\lambda}{2 \sin \vartheta} \longrightarrow \vartheta = \sin^{-1} \left(\frac{\lambda}{2d} \right) = \sin^{-1} \left(\frac{0.97930}{2 \times 2.8} \right) = 10.1^\circ$$

$$R_{merge} = \frac{\sum_h \sum_i |I_{hi} - I_h|}{\sum_h \sum_i I_{hi}}$$



precision-indicating merging R-factor ($R_{p.i.m.}$)

$$R_{p.i.m.} = \frac{\sum_h \frac{1}{\sqrt{N-1}} \sum_i |I_{hi} - I_h|}{\sum_h \sum_i I_{hi}}$$

24