

НЕЗЕРКАЛЬНОЕ РЕНТГЕНОВСКОЕ РАССЕЯНИЕ НА ПЛАНАРНОМ ФОСФОЛИПИДНОМ МУЛЬТИСЛОЕ

*А. М. Тихонов**

*Институт физических проблем им. П. Л. Капицы Российской академии наук
119334, Москва, Россия*

*Институт физики твердого тела Российской академии наук
142432, Черноголовка, Московская обл., Россия*

Поступила в редакцию 28 мая 2020 г.,
после переработки 28 мая 2020 г.
Принята к публикации 28 мая 2020 г.

По данным рефлектометрии и незеркального (диффузного) рентгеновского рассеяния уточнены параметры структуры планарных мультислойных пленок толщиной около 400 Å из насыщенных фосфолипидов DPPC и DSPC, сформированных на поверхности водной суспензии наночастиц кремнезема диаметром около 27 нм. Согласованный анализ данных рассеяния показывает, что структуру границы гидрозоля–липидная пленка–воздух образуют монослой наночастиц, ламеллярный липидный слой и примерно наполовину заполненный (рыхлый) монослой фосфолипида на границе с воздухом. Модельные профили электронной концентрации свидетельствуют о гидратации ламеллярной структуры на уровне примерно 6 молекул H₂O на липид. При этом вода и катионы Na⁺ локализованы в районе фосфохолиновых групп, что согласуется с результатами вычислений молекулярной динамики других авторов. Наблюдаемая шероховатость границ между липидными слоями составляет не менее 5 Å и указывает на наличие у них некапиллярно-волновой структуры шириной 3–6 Å. Покрытие липидным мультислоем вогнутой поверхности вращающейся гидрозолевой жидкости в дефлекторе рентгеновского излучения с эффектом шепчущей галереи, по нашему мнению, является одним из возможных применений описанной технологии.

DOI: 10.31857/S0044451020110061

1. ВВЕДЕНИЕ

В литературе широко обсуждается использование различных мультислойных пленок из дифильных молекул, например, в нанотехнологических приложениях и в производстве современных электронных приборов [1–3]. Относительно простая и дешевая технология формирования планарных слоистых пленок на поверхности твердого субстрата из монослоев, первоначально сформированных на поверхности жидкости, основана на методе разработанным Ленгмюром и Блоджетт [4–8]. Ранее нами была описана новая мультислойная технология, основанная на спонтанном формировании плоской ламеллярной структуры из дифильных молекул фосфолипида DSPC на поляризованной поверхности

жидкой подложки из кремнеземного гидрозоля [9]. Существенно, что толщина адсорбционной пленки (число слоев в ней) зависит от уровня pH в гидрозолевой субфазе [10, 11]. В настоящей работе мы даем обзор имеющихся и приводим новые систематические экспериментальные данные по рефлектометрии и незеркальному (диффузному) упругому рассеянию на мультислоях, сформированных из двух разных насыщенных фосфолипидов, DPPC и DSPC. Согласованный анализ этих данных позволяет уточнить параметры структуры мультислоя и однозначно указывает на то, что он состоит из гидратированных липидных бислоев. Это принципиально отличается от модели «сухих» бислоев, предложенной ранее [9]. По нашему мнению, покрытие вогнутой поверхности вращающейся жидкости (кремнеземного гидрозоля) липидным мультислоем в дефлекторе рентгеновского излучения с эффектом шепчущей галереи является одним из возможных применений описанной в работе [12] технологии.

* E-mail: tikhonov@kapitza.ras.ru

2. ЭКСПЕРИМЕНТ

Образцы пленок 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DPPC, C₄₀H₈₀NO₈P) и 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC, C₄₄H₈₈NO₈P) приготавливались и изучались во фторопластовой тарелке диаметром около 100 мм (рис. 1 и 2), помещенной в герметичный одноступенчатый термостат. Методика эксперимента описана в работе [9]. В качестве подложки использовались растворы Ludox TM-40 и TM-50 (рН ≈ 9) аморфных частиц кремнезема диаметром $d \approx 27$ нм (Grace Davison) с концентрацией SiO₂ соответственно 40 и 50% [13–15]. С помощью шприца (Hamilton) на поверхность золя высаживается капля объемом 5–10 мкл раствора с высокой концентрацией фосфолипида в хлороформе (около $3 \cdot 10^{-2}$ моль/л). Размазывание капли по поверхности жидкой подложки сопровождается падением поверхностного натяжения γ границы гидрозоль–воздух примерно с 74 мН/м до 45–35 мН/м, которое в нашем случае регистрировалось по методу Вильгельми с помощью датчика поверхностного давления NIMA PS-2 [16]. Количества вещества в распределенном таким образом по поверхности липидном слое достаточно для формирования однородного мультислоя из более чем десяти монослоев. Далее, образец поверхности приводился в равновесие в течение примерно 12 ч при $T = 298$ К.

Измерения коэффициента отражения R и интенсивности поверхностного незеркального (диффузного) рентгеновского рассеяния I на границе

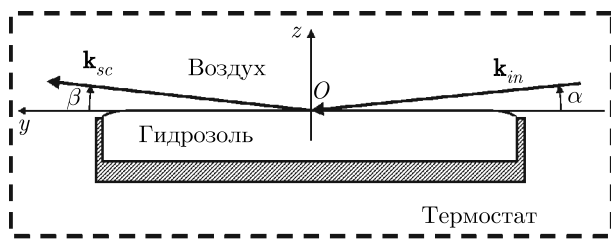


Рис. 1. Термостатированная экспериментальная ячейка. В эксперименте рефлектометрии $\alpha = \beta$, при измерении рассеяния $\alpha = \text{const}$

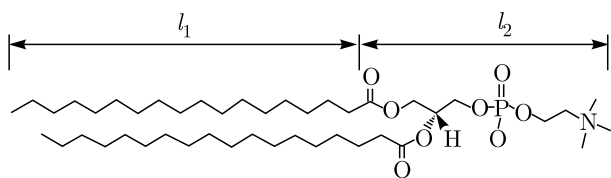


Рис. 2. Молекулярная структура насыщенных фосфолипидов DPPC и DSPC

гидрозоль–воздух проведены с использованием синхротронного излучения на станции X19C синхротрона NSLS [17]. Источником излучения служил поворотный магнит с критической энергией около 6 кэВ. Конструкция этой станции позволяет изучать структуру плоских поверхностей твердых тел и жидкостей, а также межфазных границ углеводородная жидкость–вода, ориентированных силой гравитации [18–20]. В экспериментах использовался сфокусированный монохроматический луч фотонов с энергией $E = 15$ кэВ ($\lambda = 0.825 \pm 0.002$ Å) и интенсивностью порядка 10^{10} фотон/с при минимальной расходимости в вертикальной плоскости на уровне порядка 10^{-5} рад.

Введем систему координат, у которой начало O лежит в центре освещаемой падающим лучом области, а плоскость xy совпадает с границей жидкость–воздух. В ней ось x перпендикулярна к направлению луча, а ось z направлена вдоль нормали к поверхности противоположно силе тяжести (см. рис. 1). Пусть \mathbf{k}_{in} и \mathbf{k}_{sc} — волновые векторы с амплитудой $k_0 = 2\pi/\lambda$ соответственно падающего и рассеянного лучей. Пусть α — угол скольжения, а β — угол между плоскостью границы жидкости и направлением на детектор в плоскости падения yz . В наших экспериментах оба угла $\alpha, \beta \ll 1$. Более того, угол ϕ между направлением падающего луча и направлением рассеяния в плоскости xy составляет $\phi \approx 0$. В этой системе координат компоненты вектора рассеяния $\mathbf{q} = \mathbf{k}_{in} - \mathbf{k}_{sc}$ в плоскости границы равны

$$q_x = k_0 \cos \beta \sin \phi \approx k_0 \phi \approx 0,$$

$$q_y = k_0 (\cos \beta \cos \phi - \cos \alpha) \approx k_0 (\alpha^2 - \beta^2)/2,$$

а вертикальная составляющая

$$q_z = k_0 (\sin \alpha + \sin \beta) \approx k_0 (\alpha + \beta).$$

Измерение коэффициента отражения R проводится при условии $\alpha = \beta$, тогда единственной ненулевой компонентой вектора рассеяния является $q_z = 2k_0 \sin \alpha$. Экспериментальные зависимости $R(q_z)$ для липидных мультислоев из молекул DPPC и DSPC на границе гидрозоль–воздух показаны на рис. 3 соответственно кружками (субфаза TM-40) и квадратами (TM-50). На зависимостях $R(q_z)$ видна периодическая последовательность брэгговских рефлексов от липидной пленки. Их вид для мультислоев DSPC находится в полном соответствии с данными, опубликованными ранее, например, в работе [9].

При углах скольжения меньше $\alpha_c = \lambda \sqrt{r_e \rho_b / \pi} \approx 0.1^\circ$ (где $r_e = 2.814 \cdot 10^{-5}$ Å — классический радиус электрона) падающий луч испытывает полное

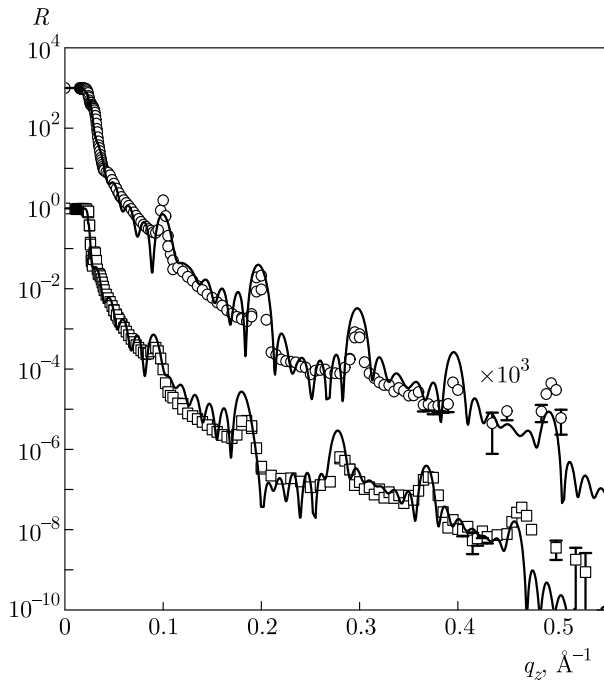


Рис. 3. Коэффициент отражения $R(q_z)$ от планарной границы гидрозоль–липидная пленка–воздух: квадраты — мультислой DSPC (TM-50); кружки — мультислой DPPC (TM-40). Непрерывные линии — расчет в борновском приближении искаженных волн с модельным структурным фактором (10) для $N = 5$

внешнее отражение $R \approx 1$. Если электронная концентрация ρ_w в чистой воде при нормальных условиях составляет $\rho_w \approx 0.333 \text{ e}^-/\text{Å}^3$, то в гидрозолях концентрация $\rho_b \approx 1.2\rho_w$ и $\rho_b \approx 1.3\rho_w$ для соответственно TM-40 и TM-50.

В эксперименте размер падающего луча задается двухщелевым коллиматором и при углах скольжения $\alpha \approx \alpha_c$ составляет 10 мкм в вертикальной и около 2 мм в горизонтальной плоскостях. С возрастанием угла α вертикальный размер луча пропорционально увеличивается до максимального значения 0.2 мм при $\alpha \approx 10\alpha_c$ и далее при больших α остается неизменным. Таким образом, зависимости на рис. 3 получены усреднением значений $R(q_z)$ по макроскопически большой площади $A_0 \approx 0.2 \text{ см}^2$, заданной геометрическими размерами падающего луча.

Измерения интенсивности поверхностного рассеяния, I/I_0 , проводились при фиксированном угле скольжения α , соответствующего первому максимуму на кривой $R(q_z)$. Для пленок DPPC и DSPC соответственно $\alpha \approx 0.35^\circ$ и $\alpha \approx 0.38^\circ$. При этом использовался коллимированный луч с угловой расходимостью в вертикальной плоскости $\Delta\alpha \approx 10^{-4}$ рад при

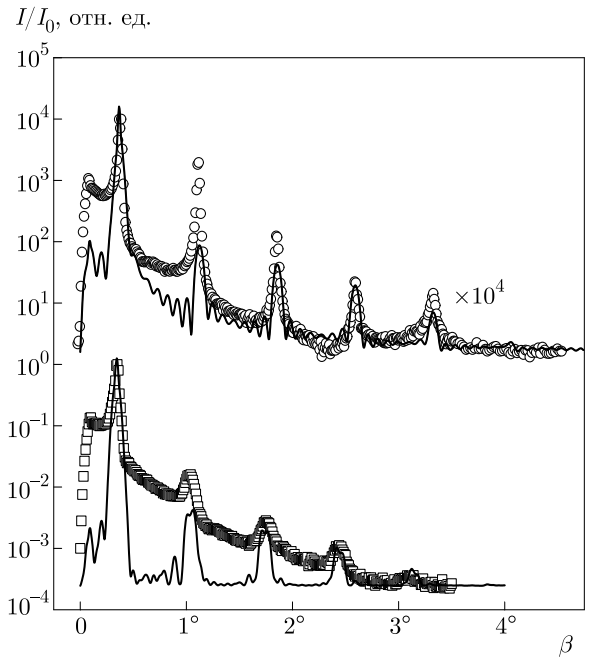


Рис. 4. Нормированная интенсивность диффузного рассеяния I/I_0 на липидных мультислоях как функция угла β : квадраты — мультислой DSPC (TM-50); кружки — мультислой DPPC (TM-40). Непрерывные линии — расчет в борновском приближении искаженных волн с модельным структурным фактором (10) для $N = 7$

угловым разрешением детектора $\Delta\beta \approx 3 \cdot 10^{-4}$ рад. Величина $I(\beta)$ — число фотонов, зеркально отраженных и диффузно рассеянных образцом в направлении β точечного детектора, а $I_0(\alpha)$ — нормировочная величина, пропорциональная интенсивности падающего луча. Коэффициент пропорциональности определяется из условия нормировки $I(\alpha)/I_0(\alpha) \equiv 1$. Измерение величин $I_0(\alpha)$ и $I(\beta)$ проводилось синхронизовано с помощью двух независимых сцинтилляционных точечных детекторов (Vicron), чтобы исключить временную зависимость интенсивности зондирующего луча от величины тока в кольце синхротрона NSLS. Данные рассеяния получены при размере падающего луча приблизительно 0.06 мм в вертикальной плоскости и 2 мм в горизонтальной. Таким образом, площадь области засветки в этом эксперименте составляет примерно равна A_0 . Экспериментальные зависимости $I(\beta)/I_0(\alpha)$ для липидных мультислоев DPPC и DSPC на границе гидрозоль–воздух показаны на рис. 4.

У кривых на рис. 4 самый интенсивный пик соответствует зеркальному отражению при $\beta = \alpha$, а пик в диффузном фоне при $\beta \rightarrow 0$ соответству-

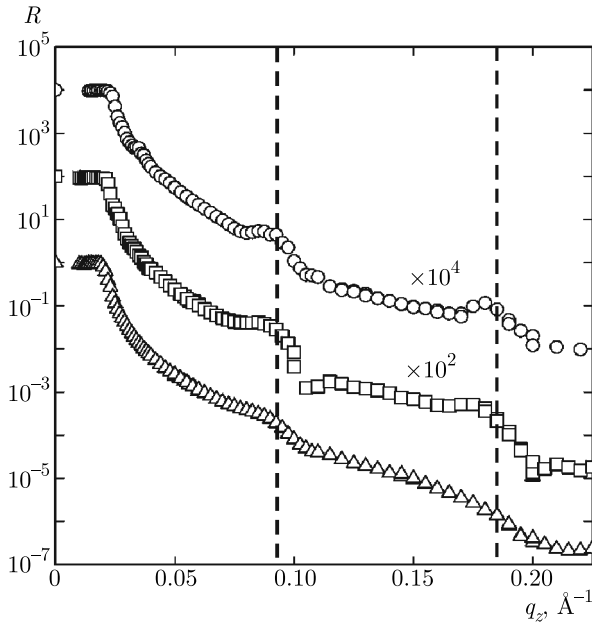


Рис. 5. Коэффициент отражения R как функция q_z от планарной границы гидрозоль–мультислои DSPC–воздух в зависимости от концентрации кремнезема в подложке: квадраты — 50 %; кружки — 25 %; треугольники — 3 %

ет аномалии Йонеды при угле полного внешнего отражения α_c [21, 22]. В диффузном фоне на правом плече пика зеркального отражения для обоих мультислоев наблюдаются по четыре пика, интенсивность которых падает с возрастанием β . Относительно большой уровень диффузного фона на левом плече мы связываем с фоном малоуглового рассеяния на аморфных наночастицах в объеме субфазы.

Согласно нашим наблюдениям, мультислои формируются и остаются стабильными на поверхности около гидрозоль со значительно меньшим размером наночастиц кремнезема, 5 нм (FM, pH = 10), а также при достаточно низкой концентрации кремнезема в субфазе (примерно 3 %). Как продемонстрировано для липида DSPC на рис. 5, уменьшение концентрации кремнезема в подложке (раствор частиц размером 27 нм) более чем в 10 раз принципиально не влияет на возникновение интерференционных максимумов при $q_z \approx 0.09 \text{ \AA}^{-1}$ и $q_z \approx 0.18 \text{ \AA}^{-1}$ (штриховые линии), т.е. на процесс образования мультислоистой структуры. При этом не важно, в какой момент изменяется объемная концентрация наночастиц методом замещения гидрозоль раствором NaOH (5 ммоль/л) в деионизированной воде, до или после нанесения липидного слоя. Кроме того, увеличив содержание ионов Na^+ в субфазе (pH > 11), можно вызвать в ней переход золь–гель. После за-

твердевания поверхность подложки остается достаточно гладкой, так что механического повреждения, как и других структурных изменений в поверхностном мультислое, не происходит.

3. ТЕОРИЯ

Анализ экспериментальных данных мы провели с привлечением модельного подхода (slab model), при котором экспериментальные зависимости $R(q_z)$ и I/I_0 аппроксимируются расчетными кривыми при варьировании параметров модельного профиля электронной концентрации $\rho(z)$ (см. Приложение). Параметризация последнего проводилась с помощью функции ошибок

$$\text{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x \exp(-y^2) dy,$$

которая используется, например, в общепринятой теории капиллярных волн [23–25].

В интервале $q_z > 0.05 \text{ \AA}^{-1}$ согласованная интерпретация данных рефлектометрии и незеркального рассеяния проведена в борновском приближении искаженных волн (distorted wave Born approximation, DWBA) [26]. Зависимости I/I_0 моделировались в предположении, что основной вклад в незеркальное рассеяние дают шероховатости поверхности с корреляционной функцией высот, как у тепловых флуктуаций (капиллярных волн) [27–29]. В области малых значений $q_z < 0.05 \text{ \AA}^{-1}$, где использование борновского приближения некорректно, моделирование кривых отражения проводилось при помощи рекуррентных соотношений Парратта [30].

Отметим, что применительно к слоисто-неоднородным структурам на твердых и жидких подложках борновское приближение искаженных волн является достаточно удобным способом интерпретации данных рассеяния как рентгеновских, так и нейтронных экспериментов [31–35]. Для планарных липидных мультислоев, сформированных на твердых кремневых подложках по технологии Ленгмюра–Блоджетт, это хорошо проиллюстрировано в работе [36]. Однако во всех этих системах субфаза является гомогенной средой, а граница пленка–субфаза достаточно гладкая, так что ее шероховатость составляет порядка нескольких ангстрем. В нашем случае граница пленка–гидрозоль имеет не резкую, а диффузную границу из осажденных («сконденсированных») наночастиц SiO_2 [15].

В борновском приближении искаженных волн интенсивность рассеяния

$$I/I_0 = I_{diff} + I_{spec},$$

где I_{diff} — интенсивность диффузного рассеяния, а I_{spec} — вклад зеркального отражения [26]. Угловая зависимость зеркального отражения $I_{spec}(\beta)$ при $\alpha = \text{const}$ определяется аппаратной функцией углового разрешения детектора [27]. Если $I_{diff} \ll I_{spec}$, то при $\alpha = \beta$

$$I_{spec}(\alpha) \propto R(q_z) = \left| \frac{q_z - q_z^t}{q_z + q_z^t} \right|^2 \left| \Phi(\sqrt{q_z q_z^t}) \right|^2, \quad (1)$$

где $q_z^t \approx k_0 \left(\sqrt{\alpha^2 - \alpha_c^2} + \sqrt{\beta^2 - \alpha_c^2} \right)$ — z -компонента вектора рассеяния в нижней фазе, а структурный фактор

$$\Phi(q) = \frac{1}{\Delta\rho} \int_{-\infty}^{\infty} \left\langle \frac{d\rho(z)}{dz} \right\rangle e^{iqz} dz, \quad (2)$$

где $\Delta\rho = \rho_b - \rho_0 \approx \rho_b$, так как концентрация электронов в воздухе $\rho_0 \approx 0$.

Незеркальная часть рассеяния имеет вид

$$I_{diff}(\alpha, \beta) \propto |T(\alpha)|^2 |T(\beta)|^2 |\Phi(\sqrt{q_z q_z^t})|^2, \quad (3)$$

где $T(\theta) = 2\theta/[\theta + \sqrt{\theta^2 - \alpha_c^2}]$, $\theta = \alpha, \beta$ — трансмиссионный коэффициент Френеля для амплитуды волны с поляризацией в плоскости межфазной границы (естественная поляризация синхротронного излучения).

При расчетах мы использовали выражения для I_{diff} и I_{spec} , которые в явном виде приведены в работе [37]. Они учитывают гауссово распределение интенсивности луча в плоскости падения и оптическую схему измерений, реализованную на станции X19C синхротрона NSLS.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Особенности на кривых отражения $R(q_z)$ от гидрозольных поверхностей в области малых $q_z < 0.05 \text{ \AA}^{-1}$, в принципе, содержат информацию о толщине липидного слоя и распределении наночастиц кремнезема вблизи его поверхности. Простейшая качественная модель, которая описывает коэффициент отражения в этой области, состоит из слоя наночастиц толщиной D с электронной концентрацией ρ_p , который граничит непосредственно с липидной пленкой толщиной L и со средней концентрацией электронов в ней $\bar{\rho}$ (см. вставку на рис. 6). Профиль модельного распределения $\rho^*(z)$ для этой двухслойной структуры имеет следующий вид:

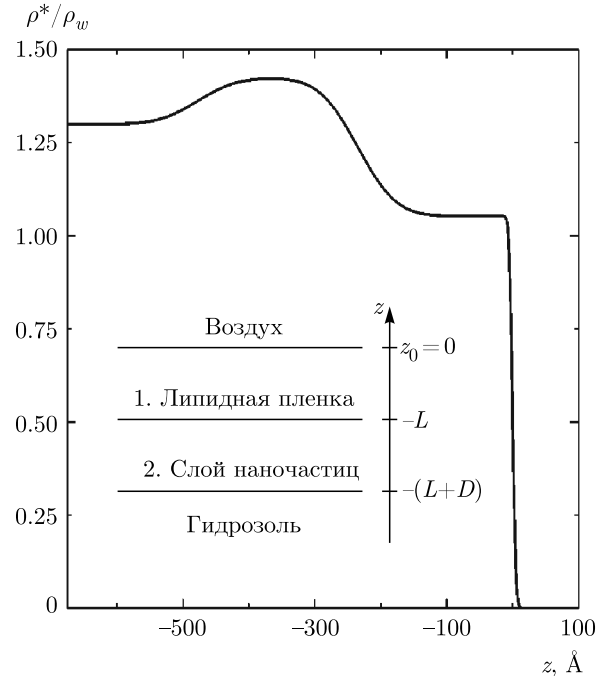


Рис. 6. Модельное распределение $\rho^*(z)$ на границе гидрозоль–липидная пленка–воздух по данным рефлектометрии при $q_z < 0.05 \text{ \AA}^{-1}$ для мультислой DSPC (субфаза: TM-50), нормированное на электронную концентрацию в воде $\rho_w \approx 0.333 \text{ e}^-/\text{\AA}^3$ при нормальных условиях. Вставка — двухслойная модель межфазной границы

$$\rho^*(z) \approx \frac{1}{2}\bar{\rho} + \frac{1}{2}\bar{\rho} \operatorname{erf}\left(\frac{z}{\sigma\sqrt{2}}\right) + \frac{1}{2}(\rho_p - \bar{\rho}) \operatorname{erf}\left(\frac{z+L}{\sigma_p\sqrt{2}}\right) + \frac{1}{2}(\rho_b - \rho_p) \operatorname{erf}\left(\frac{z+L+D}{\sigma_p\sqrt{2}}\right), \quad (4)$$

где σ — среднеквадратичное отклонение положения границы воздух–липидная пленка при $z_0 = 0$, а σ_p — среднеквадратичное отклонение положения границ слоя наночастиц от их номинальных значений $-L$ и $-(L+D)$.

Минимальная величина квадрата параметра σ^2 , определяющего ширину (шероховатость) границ раздела в липидной пленке, задана квадратом «капиллярной ширины»

$$\sigma_0^2 = \frac{k_B T}{2\pi\gamma} \ln \frac{Q_{max}}{Q_{min}}, \quad (5)$$

которая, в свою очередь, задается коротковолновым пределом в спектре капиллярных волн $Q_{max} = 2\pi/a$ ($a \approx 10 \text{ \AA}$ — по порядку величины межмолекулярное расстояние) и $Q_{min} = q_z^{max} \Delta\beta/2$ (q_z^{max} — максимальное значение q_z в эксперименте) [27, 28, 38].

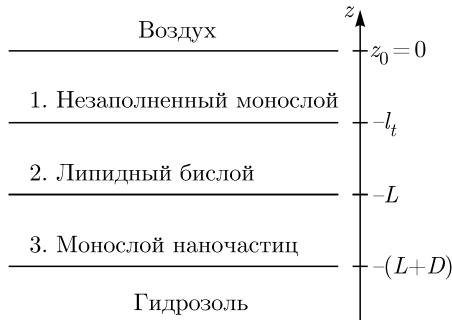


Рис. 7. Модель границы гидрозоля-липидная пленка-воздух

Согласно выражению (5), для нашего эксперимента $\sigma_0 \approx 4 \text{ \AA}$.

На рис. 6 сплошной линией показано нормированное модельное распределение $\rho^*(z)$ на границе воздух-пленка DSPC-гидрозоль TM-50 по данным рефлектометрии при $q_z < 0.05 \text{ \AA}^{-1}$ с подгоночными параметрами $D \approx 250 \text{ \AA}$, $\rho_p \approx 1.4\rho_w$, $L \approx 250 \text{ \AA}$ и $\bar{\rho} \approx 1.1\rho_w$. Так как $D \approx d$, слой наночастиц можно условно считать монослоем.

Во-первых, отметим большое значение параметра $\sigma_p \approx 50 \text{ \AA}$, демонстрирующее диффузность границ у слоя наночастиц. Интенсивность отражения от них, пропорциональная $\exp(-\sigma_p^2 q_z^2)$, становится незначительной при $q_z > 0.05 \text{ \AA}^{-1}$. Во-вторых, толщина изучаемой приповерхностной структуры $L+D > 500 \text{ \AA}$, т. е. не менее длины пространственной когерентности источника излучения в эксперименте, $\lambda^2/\delta\lambda \approx 400 \text{ \AA}$. По этим причинам более детально разъяснить вопрос об устройстве границы слой наночастиц-липидная пленка только по зависимости $R(q_z)$ затруднительно.

На рис. 7 представлена качественная многослойная модель планарной межфазной границы гидрозоля-липидная пленка-воздух, которая отображает элементы структуры, установленные по всей совокупности экспериментальных данных. Она включает монослой наночастиц 3, сконденсированных на поверхности липидного слоя 2 с ламеллярной структурой и незаполненный («рыхлый») монослой 1 фосфолипида на границе с воздухом.

Положение, интенсивность и ширина пиков в зависимостях $R(q_z)$ в области $q_z > 0.05 \text{ \AA}^{-1}$ содержит информацию о внутреннем строении липидной пленки. Расстояние Δq_z между пиками на кривых отражения задает период структуры $l \approx 2\pi/\Delta q_z$. Для пленки DPPC $\Delta q_z \approx 0.1 \text{ \AA}^{-1}$, а для пленки

DSPC $\Delta q_z \approx 0.09 \text{ \AA}^{-1}$, что соответствует периодам $l \approx 64 \text{ \AA}$ и $l \approx 69 \text{ \AA}$. Величины l примерно равны двум длинам липидных молекул, т. е. пленка состоит из бислоев (ламеллярная структура).

Условно дифильную молекулу фосфолипида (см. рис. 2) можно представить как состоящую из двух частей, а именно, гидрофобной и гидрофильной. Первая образована алифатическими цепями $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{m-1}-$, по две на молекулу, где $m = 15$ для DPPC и $m = 17$ для DSPC. Вторая образована глицеро-фосфохолиновыми группой $-\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{NO}_8\text{P}$ и содержит 164 электрона. Положим, что бислой образуют два липидных монослоя, ориентированных алифатическими (жирными) хвостами навстречу друг другу, тогда $l = 2(l_1 + l_2)$, где l_1 — толщина слоя, состоящего из жирных хвостов, а l_2 — толщина слоя, образованного полярными группами. Электронные концентрации в слоях хвостов и полярных головок соответственно ρ_1 и ρ_2 .

В этом случае модельное распределение электронной концентрации ламеллярной структуры P_2 (см. выражение (8) в Приложении) описывается пятью параметрами, l_1 , l_2 , ρ_1 , ρ_2 и σ , значения которых можно оценить, воспользовавшись известными рентгеноструктурными данными для кристаллов углеводородов, значением поверхностного натяжения γ , данными скользящей дифракции для мультислоя DSPC, а также информацией о молекулярной структуре фосфолипидов. Согласно данным скользящей дифракции, мультислой DSPC находится в упорядоченном состоянии с упаковкой, близкой к гексагональной фазе $P_{2'}$ с площадью на молекулу $2S \approx 42 \text{ \AA}^2$ [9, 39]. Объем, занимаемый группой $-\text{CH}_2-$, в гексагональной фазе равен $V_0 \approx 25-26 \text{ \AA}^3$ [40]. Таким образом, оценочная толщина слоя углеводородных хвостов $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{m-1}-$ составляет $l_1 \sim mV_0/S \approx 18 \text{ \AA}$ для DPPC и $l_1 \approx 21 \text{ \AA}$ для DSPC. Таким образом, $l_2 = l/2 - l_1 \approx 14 \text{ \AA}$. Ожидаемая электронная плотность в слоях хвостов $\rho_1 \approx \rho_w (8m + 1)$ электронов в объеме mV_0 , где $\rho_w = 0.333 e^-/\text{ \AA}^3$ — электронная концентрация в воде. Номинальная электронная концентрация ρ_2 в слое полярных групп составляет $164e^-/2Sl_2 \approx 0.8\rho_w$. Эта оценка параметров верна только для пленки, состоящей из «сухих» липидов.

В окрестности $q_z \approx 0.25 \text{ \AA}^{-1}$ наблюдается небольшой провал на кривых $R(q_z)$. Это указывает на наличие незаполненного монослоя на границе с воздухом. В модельном профиле $\rho(z)$ (см. выражение (6) в Приложении) структуру монослоя описывает член P_1 (7) с двумя свободными параметрами, а именно, толщиной слоя жирных хвостов

Таблица. Модельные параметры гидратированных липидных бислоев

Липид	ρ_b/ρ_w	$l_1, \text{Å}$	$l_2, \text{Å}$	ρ_1/ρ_w	ρ_2/ρ_w	$\sigma, \text{Å}$	$\sigma', \text{Å}$
DPPC	1.2	27 ± 0.5	5 ± 0.5	1.01 ± 0.03	1.3 ± 0.06	5.0 ± 0.2	3–6
DSPC	1.3	29 ± 0.5	5 ± 0.5	1.04 ± 0.03	1.27 ± 0.06	5.0 ± 0.2	3–6

Примечание. l_1 — толщина слоя углеводородных хвостов с плотностью ρ_1 ; l_2 — толщина слоя фосфохолиновых групп с плотностью ρ_2 ; σ — ширина границ по данным рефлектометрии; σ' — оценка ширины некапиллярно-волновой структуры; $\rho_w = 0.333 \text{ e}^-/\text{Å}^3$ — электронная плотность воды. Ошибки в определении параметров были установлены с использованием стандартного критерия χ^2 на доверительном уровне 0.9.

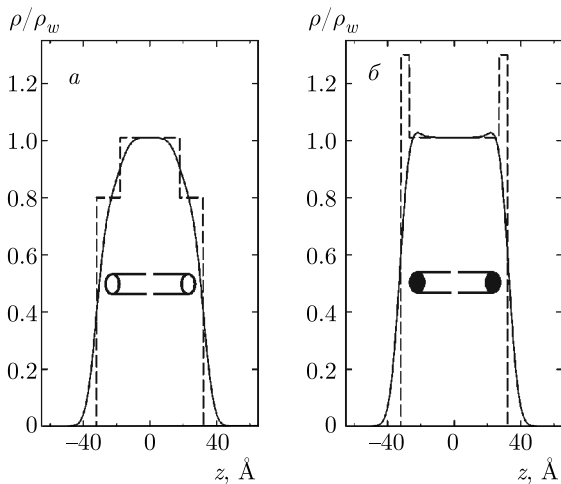


Рис. 8. Модельные профили сухого (а) и гидратированного (б) липидных бислоев. Штриховые линии — профили при шероховатости $\sigma = 0$

l_t и электронной концентрацией ρ_t . Полярная часть молекул рыхлого моноосла в этой модели для $\rho(z)$ формально присоединяется к гидрофильному слою ламеллярной структуры. При $l_t \approx 14 \text{ Å}$ и $\rho_t \approx 0.4\rho_w$ можно добиться заметно лучшего согласия между расчетными кривыми и экспериментальными зависимостями $R(q_z)$ для пленок обоих липидов, чем при расчетах без учета рыхлого моноосла.

Таким образом, зависимости $R(q_z)$ на рис. 3 при $q_z > 0.05 \text{ Å}^{-1}$ достаточно хорошо описываются расчетными кривыми со структурным фактором $\Phi(q)$ (см. формулу (10) в Приложении) для модельного мультислоя, включающего рыхлый моноослой и $N = 5-7$ фисфолипидных бислоев ($L = 350-450 \text{ Å}$). Именно при этих значениях N расчетная ширина интерференционных максимумов сопоставима с экспериментально наблюдаемой величиной $\delta q_z \approx 0.02 \text{ Å}^{-1}$. Однако допускаются два решения: с $\rho_2 \approx 0.8\rho_w$, $l_2 \approx 14 \text{ Å}$ («сухой» мультислой) и $\rho_2 \approx 1.3\rho_w$, $l_2 \approx 5 \text{ Å}$ (гидратированный мультислой).

На рис. 8 представлены профили бислоев для этих альтернативных аппроксимаций.

Положение и ширина пиков в фоне незеркального рассеяния I/I_0 на рис. 4 качественно описываются моделями адсорбционных пленок с шестью-семью бислоями. Интенсивность пиков рассеяния и высокий уровень диффузного фона не могут быть описаны только вкладом рассеяния на тепловых флуктуациях поверхности, которым соответствует ширина $\sigma_0 \approx 4 \text{ Å}$. Наблюдаемая шероховатость границ ламеллярной структуры по данным рассеяния значительно выше, чем по данным рефлектометрии ($\sigma = 5.0 \pm 0.2 \text{ Å}$) и составляет примерно 8 Å . Отсутствие пика в окрестности $\beta \approx 4^\circ$ на рис. 4 накладывает сильное ограничение на допустимые диапазоны подгоночных параметров $\rho_2 > 1.1\rho_w$ и $l_2 \approx 5 \text{ Å}$. Таким образом, угловая зависимость незеркального рассеяния позволяет отвергнуть модель с сухими бислоями (рис. 8а) и свидетельствует в пользу структуры с гидратированными бислоями (рис. 8б). Непрерывными линиями на рис. 3 и 4 показан расчет, а в таблице приведены подгоночные значения для модельных параметров гидратированного мультислоя, основанные на согласованном анализе данных зеркального отражения и незеркального рассеяния. По нашему мнению, лучшего согласия между экспериментальными зависимостями I/I_0 и расчетными кривыми можно добиться при учете малоуглового рассеяния на наночастицах в объеме субфазы, которым пренебрегалось.

5. ОБСУЖДЕНИЕ

Спонтанное образование липидного мультислоя обеспечивается необычными граничными условиями на поверхности гидрозоля, которые обусловлены разницей в потенциалах сил электрического изображения для катионов Na^+ и отрицательно заряженных наночастиц (макроионов) кремнезема. Образующаяся приповерхностная структура имеет ширину

порядка дебаевской длины экранирования в объеме раствора (500 Å) [41, 42]. При этом на поверхности гидрозоля наблюдается достаточно высокая концентрация катионов $\text{Na}^+ = (4-7) \cdot 10^{18} \text{ м}^{-2}$, которые, по-видимому, вовлекаются в процесс формирования структуры мультислоя [43]. Восстановленные ранее с помощью модельно-независимого подхода профили электронной концентрации демонстрируют, что толщина, например, пленки DSPC на поверхности золя по порядку величины также совпадает с дебаевской длиной экранирования [10].

Ранее рядом авторов по результатам вычислений молекулярной динамики было показано, что ионы Na^+ могут внедряться в липидные мембраны и формировать тем самым положительный поверхностный потенциал [44–46]. Для бислоев DPPC катионы натрия локализуются в районе фосфатной и карбонильных групп [47]. В работе [11] обсуждалось, что при образовании мультислоя может происходить перераспределение поверхностного заряда за счет спонтанной электропорации липидных бислоев в поле поверхностного электрического двойного слоя [48–50]. При этом должна возникать некоторая система каналов транспорта ионов Na^+ из объема гидрозоля к границе с воздухом [51, 52]. Такой механизм переноса заряда объясняет относительно небольшое характерное время формирования мультислоя, $(1-7) \cdot 10^5 \text{ с}$ [11].

Поскольку в водной среде золя катионы Na^+ находятся в гидратированном состоянии, ионный транспорт также должен приводить к переносу и накоплению в липидной пленке координационной воды и, возможно, анионов OH^- . Это отражено в наблюдаемом контрасте ламеллярной структуры. Параметр l_1 превышает полную длину алифатических хвостов липидных молекул примерно на 8 Å, что порядка размера глицериновой группы. Разумно предположить, что параметры ρ_2 и l_2 отражают упаковку (контраст) только фосфохолиновых групп, в районе которых могут быть локализованы молекулы воды и ионы Na^+ , OH^- .

Ионный транспорт должен неизбежно приводить к образованию множества дефектов структуры, проявляющихся, например, как уширение границ между липидными слоями. По данным для $R(q_z)$ подгоночное значение для параметра шероховатости $\sigma \approx 5 \text{ Å}$ ($\sigma \ll \sigma_p$) заметно превышает капиллярную ширину $\sigma_0 \approx 4 \text{ Å}$ (5), что свидетельствует о некапиллярно-волновой или диффузной природе этих границ. Грубая оценка вклада этой собственной структуры в наблюдаемое значение σ по данным рефлектометрии составляет $\sigma' = \sqrt{\sigma^2 - \sigma_0^2} \geq 3 \text{ Å}$

[38, 53]. Аппроксимация зависимостей I/I_0 показывает, что $\sigma' \approx 6 \text{ Å}$.

Факт существенного отклонения электронной концентрации $\rho_2 \approx 1.3\rho_w$ от «номинальной» величины $0.8\rho_w$ является принципиальным. Он позволяет отвергнуть модель сухой ламеллярной структуры, предложенной в работе [9] и согласуется с экспериментальными данными по кинетике формирования мультислоев DSPC из работы [11]. В мультислоях регистрируемый избыток электронов $\Delta\Gamma$ на молекулу липида составляет примерно одинаковую величину:

$$\Delta\Gamma = 2S(l_1\rho_1 + l_2\rho_2) - \Gamma = 70 \pm 20,$$

где Γ — число электронов в молекулах DPPC ($\Gamma = 406$) и DSPC ($\Gamma = 438$). Ион Na^+ и молекула H_2O содержат по 10 электронов, а в анионе OH^- их 8. Согласно молекулярно-динамическим расчетам в среднем на две молекулы фосфолипида может приходиться по паре ионов Na^+ и OH^- [47], тогда на одну фосфохолиновую группу в мультислое приходится примерно 6 молекул воды. Эта величина в два-три раза меньше степени гидратации, которая сообщалась для объемных гексагональной P_{6v} или орторомбической L_{6v} жидкокристаллических фаз DPPC [39]. Однако она является типичной величиной для конденсированной LC-фазы ленгмюровского фосфолипидного монослоя [54, 55].

В заключение отметим, что мультислойные покрытия имеют широкую область применений в оптических приборах, например, в рентгеновских зеркалах и монохроматорах [56]. Недавно в работе [12] с помощью рентгеновской рефлектометрии и флуоресценции были исследованы моды шепчущей галереи на вогнутой поверхности вращающейся жидкости. В этих экспериментах изучены галереи, возникающие на поверхности воды и гидрозоля наночастиц аморфного кремнезема TM-40. В последнем случае был достигнут наибольший угол отклонения рентгеновского луча поверхностью, $\Psi \approx 4^\circ$, при допустимых потерях в его интенсивности. Так как величина Ψ зависит от скорости вращения тарелки с жидкостью, эту систему можно рассматривать, как дефлектор рентгеновских лучей с возможностью непрерывной регулировки угла отклонения. По нашему мнению, покрытие поверхности вращающейся гидрозолевой жидкости липидным мультислоем является одним из возможных применений описанной технологии и позволит задействовать в дефлекторной системе незеркальный канал упругого рассеяния на шероховатостях межфазной границы. Острые пики на

угловых зависимостях I/I_0 (см. рис. 4) позволяют ожидать заметного увеличения диапазонов как для угла входа падающего луча в галерею, так и его отклонения Ψ .

Финансирование. Синхротрон NSLS использовался при поддержке Департамента энергетики США по контракту № DE-AC02-98CH10886. Станция X19C финансировалась из фондов ChemMatCARS, Университета Чикаго, Университета Иллинойса в Чикаго и Университета Стони Брук. Теоретическая часть работы выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-12-00108).

ПРИЛОЖЕНИЕ

Параметризация профиля $\rho(z)$, соответствующего многослойной структуре, изображенной на рис. 7, может быть проведена следующим образом:

$$\rho(z) \approx P_1 + P_2 + P_3 + \frac{1}{2}\rho_b, \quad (6)$$

где граница с воздухом выбрана при $z_0 = 0$.

Незаполненный (рыхлый) монослой липидных хвостов толщиной l_t и плотностью ρ_t на границе с воздухом описывается первым слагаемым

$$P_1 \approx \frac{1}{2}\rho_t \operatorname{erf}\left(\frac{z}{\sigma\sqrt{2}}\right) + \frac{1}{2}(\rho_2 - \rho_t) \operatorname{erf}\left(\frac{z + l_t}{\sigma\sqrt{2}}\right), \quad (7)$$

где σ — среднеквадратичное отклонение положения границ в липидной структуре от их номинальных значений.

Мультислой из N фосфолипидных бислоев описывается периодической структурой

$$P_2 \approx \sum_{j=1}^{j=N} \frac{1}{2}(\rho_2 - \rho_1) \operatorname{erf}\left(\frac{z + z_j - 2l_1}{\sigma\sqrt{2}}\right) + \frac{1}{2}(\rho_p - \rho_2) \operatorname{erf}\left(\frac{z + L}{\sigma\sqrt{2}}\right), \quad (8)$$

где l_1 — толщина слоя с плотностью ρ_1 , состоящего из углеводородных цепей, l_2 — толщина слоя с плотностью ρ_2 , образованного полярными группами, $z_j = l_t + jl$ — период, $l = 2(l_1 + l_2)$ — толщина бислоя, $L = z_N + l_2$ — полная толщина липидной пленки, а ρ_p — электронная концентрация в монослое наночастиц. Границы ламеллярной структуры на рис. 7 образованы слоями из полярных групп липидных молекул и лежат в интервале $(-l_t, -L)$.

Электронная концентрация в монослое наночастиц SiO_2 , примыкающего к липидной пленке, описывается третьим слагаемым

$$P_3 \approx \frac{1}{2}(\rho_p - \rho_2) \operatorname{erf}\left(\frac{z + L}{\sigma_p\sqrt{2}}\right) + \frac{1}{2}(\rho_b - \rho_p) \operatorname{erf}\left(\frac{z + L + D}{\sigma_p\sqrt{2}}\right), \quad (9)$$

где D — толщина монослой наночастиц с ρ_p , σ_p — среднеквадратичное отклонение положения его границ от их номинальных значений $-L$ и $-(L + D)$.

Поскольку $\sigma_p \gg \sigma$, при согласованном анализе данных вкладом неоднородностей P_3 можно пренебречь. В этом случае структурный фактор пленки $\Phi(q)$ имеет следующий вид:

$$\Phi \approx \Phi_1 + \Phi_2. \quad (10)$$

Рыхлому монослою липидных хвостов соответствует

$$\Phi_1(q) \approx \frac{\exp(-\sigma^2 q^2/2)}{\rho_b} [\rho_t + (\rho_2 - \rho_t) \exp(-iq l_t)]. \quad (11)$$

Структурный фактор мультислоя из N бислоев равен

$$\Phi_2(q) \approx \frac{\exp(-\sigma^2 q^2/2)}{\rho_b} \times \sum_{j=1}^N (\rho_1 - \rho_2) [1 - \exp(2iq l_1)] \exp(-iq z_j) + \frac{\exp(-\sigma^2 q^2/2)}{\rho_b} (\rho_p - \rho_2) \exp(-iq L). \quad (12)$$

Отметим, что модель ламеллярной структуры вполне соответствует пространственному разрешению имеющихся экспериментальных данных ($2\pi/q_z^{max} \approx 10 \text{ \AA}$). Использование более сложных моделей приводит к значительному увеличению неоднозначности в определении значений их параметров.

ЛИТЕРАТУРА

1. X. Chen, S. Lenhert, M. Hirtz, N. Lu, H. Fuchs, and L. Chi, *Accounts Chem. Res.* **40**, 393 (2007).
2. O. Purrucker, A. Fortig, K. Ludtke, R. Jordan, and M. Tanaka, *J. Amer. Chem. Soc.* **127**, 1258 (2005).
3. H. Kaur, S. Yadav, A. K. Srivastava, N. Singh, J. J. Schneider, Om. P. Sinha, V. V. Agrawal, and R. Srivastava, *Sci. Rep.* **6**, 34095 (2016).

4. I. Langmuir, J. Amer. Chem. Soc. **39**, 1848 (1917).
5. K. B. Blodgett, J. Amer. Chem. Soc. **57**, 1007 (1935).
6. K. B. Blodgett and I. Langmuir, Phys. Rev. **51**, 964 (1937).
7. I. R. Peterson, J. Phys. D **23**, 379 (1990).
8. N. A. Kotov, F. C. Meldrum, C. Wu, and J. H. M. Fendler, J. Phys. Chem. **98**, 2735 (1994).
9. А. М. Тихонов, Письма в ЖЭТФ **92**, 394 (2010).
10. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Письма в ЖЭТФ **102**, 536 (2015).
11. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Б. С. Роцин, И. С. Монахов, И. С. Смирнов, Письма в ЖЭТФ **104**, 880 (2016).
12. L. I. Goray, V. E. Asadchikov, B. S. Roshchin, Yu. O. Volkov, and A. M. Tikhonov, OSA Continuum **2**, 460 (2019).
13. T. Graham, Phil. Trans. Roy. Soc. London **151**, 183 (1861).
14. J. W. Ryznar, *Colloidal Chemistry: Theoretical and Applied*, Vol. VI, ed. by J. B. Alexander, Reinhold Publ. Corp., New York (1946).
15. В. Е. Асадчиков, В. В. Волков, Ю. О. Волков, К. А. Дембо, И. В. Кожевников, Б. С. Роцин, Д. А. Фролов, А. М. Тихонов, Письма в ЖЭТФ **94**, 625 (2011).
16. A. W. Adamson, *Physical Chemistry of Surfaces*, John Wiley & Sons, New York (1976).
17. M. L. Schlossman, D. Synal, Y. Guan, M. Meron, G. Shea-McCarthy, Z. Huang, A. Acero, S. M. Williams, S. A. Rice, and P. J. Viccaro, Rev. Sci. Instrum. **68**, 4372 (1997).
18. F. A. Akin, I. Jang, M. L. Schlossman, S. B. Sinnott, G. Zajac, E. R. Fuoco, M. B. J. Wijesundara, M. Li, A. M. Tikhonov, S. V. Pingali, A. T. Wroble, and L. Hanley, J. Phys. Chem. B **108**, 9656 (2004).
19. J. Koo, S. Park, S. Satija, A. M. Tikhonov, J. C. Sokolov, M. H. Rafailovich, and T. Koga, J. Colloid and Interface Sci. **318**, 103 (2008).
20. S. V. Pingali, T. Takiue, G. Guangming, A. M. Tikhonov, N. Ikeda, M. Aratono, and M. L. Schlossman, J. Dispersion Sci. Technol. **27**, 715 (2006).
21. Y. Yoneda, Phys. Rev. **131**, 2010 (1963).
22. J. B. Bindell and N. Wainfan, J. Appl. Cryst. **3**, 503 (1970).
23. F. P. Buff, R. A. Lovett, and F. H. Stillinger, Phys. Rev. Lett. **15**, 621 (1965).
24. E. S. Wu and W. W. Webb, Phys. Rev. A **8**, 2065 (1973).
25. J. D. Weeks, J. Chem. Phys. **67**, 3106 (1977).
26. S. K. Sinha, E. B. Sirota, S. Garoff, and H. B. Stanley, Phys. Rev. B **38**, 2297 (1988).
27. A. Braslau, P. S. Pershan, G. Swislow, B. M. Ocko, and J. Als-Nielsen, Phys. Rev. A **38**, 2457 (1988).
28. D. K. Schwartz, M. L. Schlossman, E. H. Kawamoto, G. J. Kellogg, P. S. Pershan, and B. M. Ocko, Phys. Rev. A **41**, 5687 (1990).
29. D. M. Mitrinovic, S. M. Williams, and M. L. Schlossman, Phys. Rev. E **63**, 021601 (2001).
30. L. G. Parratt, Phys. Rev. **95**, 359 (1954).
31. G. Vignaud, A. Gibaud, J. Wang, S. K. Sinha, J. Dailant, G. Grubel, and Y. Gallot, J. Phys. Condens. Matter **9**, L125 (1997).
32. M. Li, A. M. Tikhonov, and M. L. Schlossman, Europhys. Lett. **58**, 80 (2002).
33. А. М. Тихонов, Письма в ЖЭТФ **105**, 737 (2017).
34. R. A. Campbell, Yu. Saaka, Ya. Shao, Yu. Gerelli, R. Cubitt, E. Nazaruk, D. Matyszevska, and M. J. Lawrence, J. Colloid and Interface Sci. **531**, 98 (2018).
35. M. Delcea and C. A. Helm, Langmuir **35**, 8519 (2019).
36. J. K. Basu and M. K. Sanyal, Phys. Rep. **363**, 1 (2002).
37. А. М. Тихонов, Письма в ЖЭТФ **104**, 318 (2016).
38. D. M. Mitrinovic, A. M. Tikhonov, M. Li, Z. Huang, and M. L. Schlossman, Phys. Rev. Lett. **85**, 582 (2000).
39. M. G. Ruocco and G. G. Shipley, Biochem. Biophys. Acta **691**, 309 (1982).
40. D. M. Small, *The Physical Chemistry of Lipids*, Plenum Press, New York (1986).
41. A. Madsen, O. Konovalov, A. Robert, and G. Grubel, Phys. Rev. E **64**, 061406 (2001).
42. A. M. Tikhonov, J. Phys. Chem. B **110**, 2746 (2006).
43. A. M. Tikhonov, J. Chem. Phys. **130**, 024512 (2009).
44. S. A. Pandit and M. L. Berkowitz, Biophys. J. **82**, 1818 (2002).

45. M. Yi, H. Nymeyer, and H.-X. Zhou, *Phys. Rev. Lett.* **101**, 038103 (2008).
46. R. D. Porasso and J. J. L. Cascalesa, *Colloids and Surf. B* **73**, 42 (2009).
47. S. A. Pandit, D. Bostick, and M. L. Berkowitz, *Biophys. J.* **84**, 3743 (2003).
48. J. M. Crowley, *Biophys. J.* **13**, 711 (1973).
49. U. Zimmermann, G. Pilwat, and F. Riemann, *Biophys. J.* **14**, 881 (1974).
50. И. Г. Абидор, В. Б. Аракелян, В. Ф. Пастушенко, М. Р. Тарасевич, Л. В. Черномордик, *ДАН СССР* **240**, 733 (1978).
51. K. C. Melikov, V. A. Frolov, A. Shcherbakov, A. V. Samsonov, Yu. A. Chizmadzhev, and L. V. Chernomordik, *Biophys. J.* **80**, 1829 (2001).
52. M. Tarek, *Biophys. J.* **88**, 4045 (2005).
53. A. Braslau, M. Deutsch, P. S. Pershan, A. H. Weiss, J. Als-Nielsen, and J. Bohr, *Phys. Rev. Lett.* **54**, 114 (1985).
54. H. Mohwald, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **41**, 441 (1990).
55. Yu. A. Ermakov, V. E. Asadchikov, B. S. Roschin, Yu. O. Volkov, D. A. Khomich, A. M. Nesterenko, and A. M. Tikhonov, *Langmuir* **35**, 12326 (2019).
56. D. G. Stearns, R. S. Rosen, and S. P. Vernon, *Appl. Opt.* **32**, 6952 (1993).