

УДК 538.87.91.97

РАЗВИТИЕ СПЕКТРАЛЬНО-СЕЛЕКТИВНЫХ РЕНТГЕНОВСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАНЦИИ “ЛЕНГМЮР” КУРЧАТОВСКОГО ИСТОЧНИКА СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

© 2022 г. С. Н. Якунин¹, Н. Н. Новикова^{1,*}, А. В. Рогачев¹, А. Л. Тригуб¹,
Г. М. Кузьмичева², Н. Д. Степина³, О. А. Розенберг⁴, Э. А. Юрьева⁵, М. В. Ковальчук¹

¹ Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

² “МИРЭА – Российский технологический университет”, Москва, Россия

³ Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

⁴ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. академика А.М. Гранова Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, Москва, Россия

*E-mail: nn-novikova07@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.06.2022 г.

После доработки 29.06.2022 г.

Принята к публикации 04.07.2022 г.

Представлен краткий обзор исследований в области биоорганического материаловедения, проводимых на экспериментальной станции “Ленгмюр” Курчатовского источника синхротронного излучения. Обсуждается специфика экспериментальной инфраструктуры станции, приведены основные рентгенооптические характеристики установки. Исследовательские возможности станции продемонстрированы на примере серии экспериментов, посвященных изучению механизмов повреждения молекулярной организации легочного сурфактанта под действием наноаэрозольных частиц. Особое внимание уделяется экспериментальной реализации метода рентгеновской спектроскопии поглощения для измерений на поверхности жидкости. Представлены результаты исследований *in situ* процессов изменения валентного состояния ионов церия на межфазной границе воздух–жидкость.

DOI: 10.31857/S0023476122060297

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение

1. Рентгеновские исследования на поверхности жидкости в Курчатовском центре синхротронного излучения

2. Возможности спектрально-селективных рентгеновских методик для исследований на поверхности жидкости

2.1. Метод СРВ

2.2. Метод рентгеновской спектроскопии поглощения в геометрии ПВО для исследований на поверхности жидкости

Заключение

ВВЕДЕНИЕ

Современные прецизионные рентгеновские методы позволяют проводить исследования тончайших приповерхностных слоев, включая изучение процессов структурообразования на скрытых границах раздела и поверхностях единичных на-

нообъектов. Такая уникальная возможность появилась благодаря созданию и освоению новых мощных источников рентгеновского излучения, таких как синхротрон и рентгеновский лазер на свободных электронах. Используя высокоинтенсивные пучки рентгеновских лучей, исследователи получили реальную возможность детектировать статистически значимую картину рассеяния на ультратонких пленках толщиной в одну молекулу. Важное направление в развитии синхротронных исследований связано с нанодиагностикой слабоупорядоченных органических и биоорганических слоев, сформированных на поверхности жидкости [1–3].

Изучение процессов, протекающих на межфазных границах жидкость–жидкость и воздух–жидкость, занимает одно из центральных мест в фундаментальных исследованиях целого ряда наук (коллоидной химии, физической химии поверхностей, биологии, медицины и других наук). Понимание общих закономерностей молекулярной самосборки на поверхности жидкости имеет

принципиальное значение для разработки новых методов синтеза органических и биоорганических функциональных материалов самого различного назначения.

В настоящее время в исследованиях на поверхности жидкости используется практически весь спектр поверхностно-чувствительных методик, традиционно применяемых для нанодиагностики твердотельных образцов — рентгеновская рефлектометрия, поверхностная дифракция, малоугловое рассеяние в геометрии полного внешнего отражения (ПВО). Такие исследования позволяют наблюдать процесс самоорганизации молекулярных объектов на поверхности жидкости в режиме реального времени и контролировать особенности структурообразования планарных наносистем на каждом этапе их формирования.

Особое место в арсенале современных прецизионных методов структурной нанодиагностики занимают спектрально-селективные методики, позволяющие получать принципиально новую структурную информацию за счет выделения сигнала от атомов определенного сорта. Метод стоячих рентгеновских волн (СРВ) наиболее широко применяют для изучения молекулярной организации и композиционного состава тонких пленок, сформированных на поверхности жидкости. В таких исследованиях наряду с рентгеновским отражением регистрируют выход вторичных излучений (характеристическую флуоресценцию, фото- и оже-электроны, тепловое и комптоновское рассеяние), возникающих при неупругом рассеянии рентгеновских лучей в условиях ПВО. Форма угловой зависимости выхода вторичного излучения зависит от положения атома-источника вторичного излучения, что позволяет определять местоположение этих атомов напрямую из анализа экспериментальных кривых выхода вторичного излучения [2, 4].

Еще одна спектрально-селективная методика, адаптированная для исследований на жидкости, — рентгеновская спектроскопия поглощения в геометрии ПВО [5, 6]. С ее помощью можно получать информацию о строении локального атомного кластера — нескольких ближайших координационных сфер возбуждаемого атома: длинах связей и координационных числах, а также в некоторых случаях валентных углах. Особый интерес представляет применение метода рентгеновской спектроскопии поглощения в исследованиях белковых двумерных комплексов на поверхности жидкости [6, 7]. Такие измерения позволяют изучать процессы конформационных перестроек в биоорганических молекулах при взаимодействии с компонентами жидкой субфазы.

В настоящем обзоре обсуждаются возможности экспериментальной станции “Ленгмюр” Курчатовского источника синхротронного излу-

чения для реализации исследований на жидкости с использованием двух спектрально-селективных методик: метода СРВ и рентгеновской спектроскопии поглощения.

1. РЕНТГЕНОВСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ ЖИДКОСТИ В КУРЧАТОВСКОМ ЦЕНТРЕ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Органические и биоорганические монослои, сформированные на поверхности жидкости, дают предельно слабый вклад в рассеяние рентгеновского излучения, поэтому экспериментальные исследования таких систем проводятся исключительно в синхротронных центрах. Рентгеновские измерения на жидкости представляют собой сложнейшую задачу. В классических методах, применяемых для структурной диагностики твердотельных образцов, измерения проводят, поворачивая образец относительно пучка. Главные трудности измерений на жидкости связаны с необходимостью наклонять рентгеновский пучок относительно поверхности, так как в этом случае положение “образца” — ленгмюровской ванны, заполненной жидкостью, — должно оставаться горизонтальным.

Сегодня на различных источниках синхротронного излучения работают девять экспериментальных станций, предназначенных для проведения рентгеновских измерений на жидкости, и в большинстве случаев для управления пространственным положением рентгеновского пучка используется рентгенооптическая схема, предложенная Алс-Нельсоном [1, 8]. В такой схеме пучок отклоняется кристаллом-дефлектором, который находится в отражающем положении и вращается вокруг оси пучка. Поворот дефлектора вокруг пучка приводит к отклонению плоскости дифракции от ее горизонтального положения, в результате дифрагированный пучок смещается относительно горизонтальной плоскости. При таком вращении кристалла-дефлектора дифрагированный пучок движется по поверхности конуса с углом раствора $4\theta_B$ (θ_B — угол Брэгга). В последние годы наиболее широко используются двухкристалльные дефлекторы, несмотря на большую сложность реализации такой схемы.

В 2006 г. в нашей стране на Курчатовском источнике синхротронного излучения (КИСИ) была введена в действие станция “Ленгмюр” для исследований тонких пленок на жидкости (рис. 1). На станции используется более простая рентгенооптическая схема на основе двух плоских зеркал, работающих в геометрии ПВО. Первое кварцевое зеркало используется для формирования пучка и отклоняет его вверх под углом $\sim 300^\circ$. Второе зеркало рабочее, имеет вольфрамовое покрытие и служит для наклона пучка относительно по-

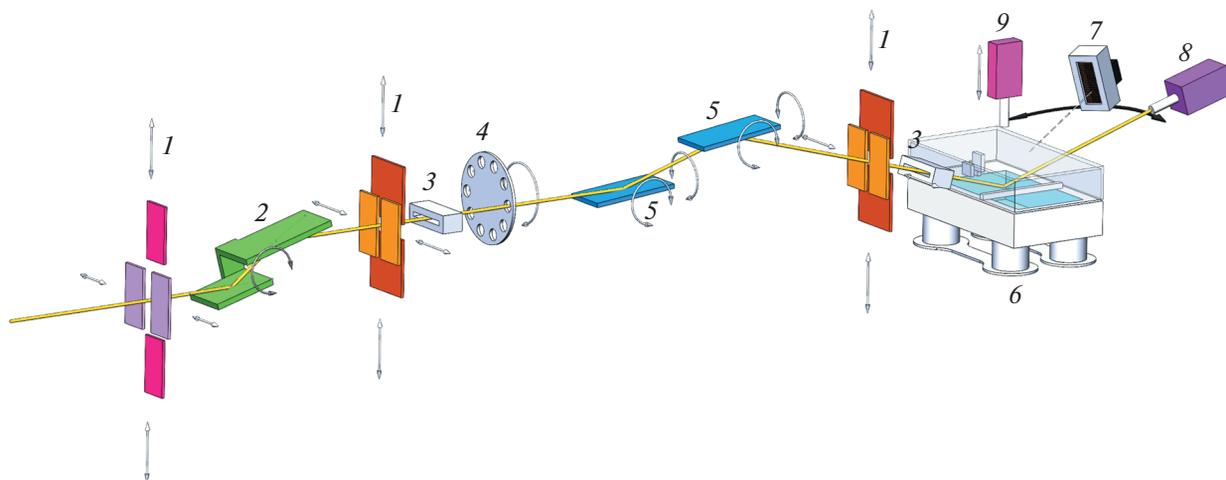


Рис. 1. Рентгенооптическая схема станции “Ленгмюр”: 1 – рентгеновские щели, 2 – кристалл-монохроматор прорезного типа, 3 – мониторы пучка, 4 – аттенюатор пучка, 5 – рентгеновские зеркала ПВО, 6 – блок образца, 7 – щели Соллера с линейным детектором, 8 – точечный рентгеновский детектор, 9 – энергодисперсионный рентгеновский детектор.

верхности жидкости. Разность критических углов для используемых материалов зеркал позволяет изменять угол в диапазоне до $2\theta_w$ (θ_w – критический угол ПВО для воды).

Экспериментальная станция “Ленгмюр” расположена на канале вывода излучения 1.2 КИСИ. Источником излучения служит поворотный магнит с $E_{\text{crit}} = 7.1$ кэВ. Расстояние от точки излучения до первого оптического элемента станции составляет 15 м. Станция позволяет проводить измерения на монохроматизированном и “розовом” пучках. Для монохроматизации излучения используется кремниевый монокристалл прорезного типа со срезом (111) или (311) и энергетическим разрешением вплоть до 3×10^{-4} и 1×10^{-4} соответственно. Диапазон рабочей энергии станции составляет 5.5–25 кэВ. Максимальный угловой диапазон сканирования по поверхности жидкой субфазы составляет $2\theta_w$, шаг сканирования 0.001° . Вертикальное сечение пучка в положении образца может быть задано в диапазоне от 0.2×0.05 до 10×0.5 мм². Характерный поток монохроматизированного излучения в экспериментах в положении образца составляет 5×10^8 фотон/с при интегральном токе 100 мА в накопителе КИСИ с расходимостью $\Delta\theta_{\text{верт}} = 14''$ и $\Delta\theta_{\text{гориз}} = 100''$. Параметры станции кратко представлены в табл. 1.

Ключевым узлом станции “Ленгмюр” является блок образца – ленгмюровская ванна, позволяющая формировать на поверхности жидкой субфазы мономолекулярный слой амфифильного вещества. Измерение поверхностного давления осуществляется с помощью весов Вильгельми с точностью 0.1 мН/м. Площадь поверхности ван-

ны составляет 800 см², глубина 3 мм, объем заливаемой субфазы ~450 мл, коэффициент сжатия при формировании монослоев равен 5. Температура субфазы в ванне контролируется с точностью 0.5°C в диапазоне температур от 4 до 40°C. Исследования растворов возможны в специальном вкладыше объемом 50 мл. Применение защитного герметичного колпака позволяет создавать вокруг образца контролируруемую атмосферу влажного гелия, что заметно повышает чувствительность измерений к легким элементам, а также снижает скорость изменения уровня жидкости за счет испарения до ~2.5 мкм/ч.

Таблица 1. Характеристики станции “Ленгмюр”

Источник излучения	Поворотный магнит, 1.7 Тл, $E_{\text{crit}} = 7.1$ кэВ
Энергетический диапазон	5.5–25 кэВ
Энергетическое разрешение, $\Delta\lambda/\lambda$	Кристалл прорезного типа Si(111), 3×10^{-4} Кристалл прорезного типа Si(311), 1×10^{-4}
Размер пучка	от 0.2×0.05 до 10×0.5 мм
Максимальный поток в положении образца	2×10^8 фотон/с, 100 мА
Окружение образца	Ленгмюровская ванна с регулируемой температурой жидкой субфазы; контролируемая газовая атмосфера
Детекторы	SCSD-4, Mythen2 X 1k, Lambda 750k, Vortex EX-90, Dectris Pilatus 300k

Общая проблема, возникающая при отклонении падающего пучка от горизонтали, связана с тем, что при изменении угла падения заметно меняется положение области засветки рентгеновским пучком на поверхности жидкости. Поэтому в таких экспериментах после каждого шага, изменяющего наклон рентгеновского пучка, необходимо корректировать положение ванны по высоте. Для снижения негативного влияния вибраций, возникающих при работе систем позиционирования, а также вакуумных насосов и инженерных систем здания, на станции “Ленгмюр” используется специальная подставка с активной виброизоляцией. Устройство компенсирует внешние колебания в диапазоне частот от 2 до 200 Гц с амплитудой вплоть до 0.5 мм и обеспечивает виброразвязку ленгмюровской ванны с остальными узлами станции.

Базовым экспериментальным методом, определившим конструкционный облик синхротронной станции “Ленгмюр”, является метод СРВ в геометрии ПВО с измерением характеристического флуоресцентного излучения [9]. В таких измерениях угол падения рентгеновского пучка изменяют с некоторым шагом в угловой области ПВО; для каждого угла падения измеряют интенсивность отраженного рентгеновского пучка и записывают спектр характеристического флуоресцентного излучения. Чтобы получить угловую зависимость выхода флуоресценции от атомов определенного сорта, интегральную интенсивность соответствующего пика в спектрах характеристического флуоресцентного излучения представляют как функцию угла падения. Детектирование флуоресцентного излучения осуществляют с помощью кремниевого дрейфового энергодисперсионного детектора Vortex EX-90, обладающего чувствительным элементом площадью 100 мм² и энергетическим разрешением вплоть до 144 эВ. Детектор установлен по нормали к поверхности образца на защитном колпаке ленгмюровской ванны и защищен рентгенопрозрачным окном. Поверхностно-чувствительная диагностика двумерных наносистем на жидкости с использованием метода СРВ активно развивается на станции и сегодня [10].

После модернизации монохроматора и оснащения детекторного узла на станции “Ленгмюр” была реализована еще одна рентгеновская методика – метод двумерной дифракции в геометрии скользящего падения. Метод широко применяется в исследованиях ленгмюровских слоев и позволяет изучать кинетику процессов структурообразования в двумерных системах на поверхности жидкости. В таких экспериментах первичный пучок падает на поверхность жидкости под скользящим углом менее критического угла ПВО, что ограничивает глубину проникновения излучения в жидкую субфазу. Картины рас-

сеяния излучения на монослой регистрируют под малыми углами как в плоскости слоя (in-plane, компонента рассеяния q_{xy}), так и вне плоскости (out-of-plane, компонента рассеяния q_z). Анализ двумерной картины дифракционного рассеяния позволяет получать детальную информацию об упаковке молекул в латеральном направлении и определять основные параметры двумерной кристаллической решетки монослоя, такие как размер элементарной ячейки, наклоны и повороты хвостов молекул, размер области когерентного рассеяния [11, 12]. Двумерную картину рассеяния излучения на образце получают последовательным угловым сканированием в плоскости образца с помощью линейного позиционно-чувствительного детектора. На станции “Ленгмюр” для измерений доступен диапазон сканирования по q_{xy} от 0.2 до 2.5 Å⁻¹, диапазон по q_z обусловлен геометрией эксперимента и составляет до 1.1 Å⁻¹. Излучение регистрируют с помощью вертикально установленного позиционно-чувствительного детектора Mythen2 X 1k с эффективной апертурой 64 × 8 мм и размером чувствительных полос 8 мм × 50 мкм. Детектор обладает высокой скоростью счета, вплоть до 1 × 10⁶ фотон/с, в каждой чувствительной полосе с динамическим диапазоном 24 бит. Максимальная частота съемки составляет 1000 Гц. Детектор используют в сочетании с вакуумным пластинчатым коллиматором (щели Соллера), обеспечивающим угловое разрешение 0.11°. В [13] представлены первые результаты, полученные на станции методом двумерной дифракции. Исследования были посвящены выявлению молекулярных механизмов действия наночастиц оксидов металлов на изолированные модели клеточных мембран. В качестве модельной системы был использован липидный монослой, сформированный на поверхности гидрозолей наночастиц магнетита и диоксида церия. Проведенные измерения позволили в режиме реального времени наблюдать за процессом структурной реорганизации монослоя. Было показано, что изменение двумерной решетки монослоя зависит не только от собственных характеристик наночастиц, важная роль в процессе структурообразования принадлежит присутствующим в коллоидном растворе молекулам стабилизатора (лимонной кислоты).

Следующим важным шагом в развитии станции явилась реализация метода рентгеновской спектроскопии поглощения для исследований на поверхности жидкости. Быстрая перестройка по энергии была достигнута за счет применения кристалла-монохроматора прорезного типа с малым зазором между отражающими плоскостями. Выбранный тип кристалла позволил изменять энергию отбираемого излучения с использованием лишь одной оси без потери спектрального раз-

решения относительно первоначальной двухкристалльной схемы. Малый зазор обеспечил возможность сканирования по энергии без подстройки оптической схемы, расположенной за монохроматором по ходу пучка.

Измерения методом рентгеновской спектроскопии поглощения проводятся во флуоресцентной моде с использованием многопроходной методики. В таком режиме усреднение отдельных спектров со сдвигами в энергетическом диапазоне приводит к дополнительному размыванию осцилляционной структуры по аналогии с применением фильтра типа “скользящее среднее”, где финальное значение функции в каждой точке равно среднему значению исходных данных, измеренных на предыдущих проходах. Стохастические сбивки в положениях отдельных точек в измерениях при усреднении многих проходов работают как “гауссов фильтр” с некоторой дисперсией, также размывающий тонкие особенности экспериментального профиля. В течение всего эксперимента необходимо многократно проводить угловое сканирование кристалломонохроматором, меняя направление его движения с повторяемостью положений в сотые доли угловой секунды. Применение обратной связи на основе оптических интерферометров в составе систем позиционирования обеспечило необходимую стабильность во времени рентгенооптической схемы станции и повторяемость положения по энергии при измерении на уровне 0.3 эВ.

2. ВОЗМОЖНОСТИ СПЕКТРАЛЬНО-СЕЛЕКТИВНЫХ РЕНТГЕНОВСКИХ МЕТОДИК ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ПОВЕРХНОСТИ ЖИДКОСТИ

2.1. Метод СРВ

В рентгеновском диапазоне длин волн образование стоячей волны можно наблюдать в условиях дифракции или ПВО, когда в образце и над его поверхностью формируется отраженная волна большой амплитуды. В результате сложения двух когерентных волн одинаковой амплитуды в области их перекрытия формируется волновое поле, для которого характерно периодическое изменение амплитуды с координатой. Отличительной чертой СРВ в угловой области ПВО является обратная пропорциональная зависимость периода от угла $D_{\text{СРВ}} = \frac{\lambda}{2\theta}$. Чем меньше угол, тем быстрее растет период, а в пределе $\theta \rightarrow 0$ период обращается в бесконечность (рис. 2). Яркие интерференционные эффекты, наблюдаемые при формировании СРВ, связаны с изменением положения узлов и пучностей при изменении угла падения. В области малых углов у поверхности отражающего зеркала находятся узлы СРВ, так как при $\theta =$

$= 0$ мрад разность фаз между падающей и отраженной волнами равна π . По мере увеличения угла пучности СРВ приближаются к отражающему зеркалу и достигают его поверхности вблизи критического угла θ_c , когда разность фаз между падающей и отраженной волнами обращается в ноль.

Такие “драматические” изменения интенсивности волнового поля приводят к резким модуляциям угловой зависимости выхода вторичного излучения, поскольку его интенсивность пропорциональна интенсивности волнового поля в месте расположения атома. Идея метода СРВ состоит в том, что форма таких модуляций угловой зависимости выхода вторичного излучения строго зависит от положения атома-источника излучения. Это позволяет получать информацию о местоположении атомов определенного сорта в пленке напрямую из анализа формы соответствующей кривой выхода вторичного излучения [14, 15].

Начало спектрально-селективным рентгеновским исследованиям на жидкости было положено в работах американских ученых в конце 80-х годов прошлого столетия, которые изучали процесс сегрегации ионов металла (Mn) из водной субфазы на ленгмюровском моносле стеариновой кислоты, нанесенном на поверхность водной субфазы [16]. Анализ экспериментальных данных позволил получить информацию о профиле распределения ионов Mn у поверхности водной субфазы. Первые исследования белковых пленок на жидкости методом СРВ были выполнены в [17]. В этих экспериментах решали задачу наблюдения процессов самоорганизации, протекающих в биоорганических наносистемах, в условиях, когда белковые молекулы сохраняют свою подвижность. В настоящее время метод СРВ активно применяется в исследованиях на жидкости, главным образом для изучения взаимодействия биоорганических монослоев с компонентами водной субфазы [13, 18, 19].

В настоящем разделе представлены результаты исследований взаимодействия наночастиц с фосфолипидными монослоями, когда наночастицы попадают на монослой со стороны воздушной среды. Такие измерения представляют особый интерес, так как в этом случае для наночастиц доступна непосредственно гидрофобная область монослоя [10].

Изучение механизмов повреждающего действия наноразмерных аэрозольных частиц. Интерес к исследованиям токсического действия наноаэрозолей на организм человека вызван тем, что частицы диаметром 10–20 нм способны проникать глубоко в нижние отделы респираторной системы — непосредственно в альвеолы. Благодаря наличию в эпителии альвеол и эндотелии легочных капилляров микрощелей-окон (фенестров) наночасти-

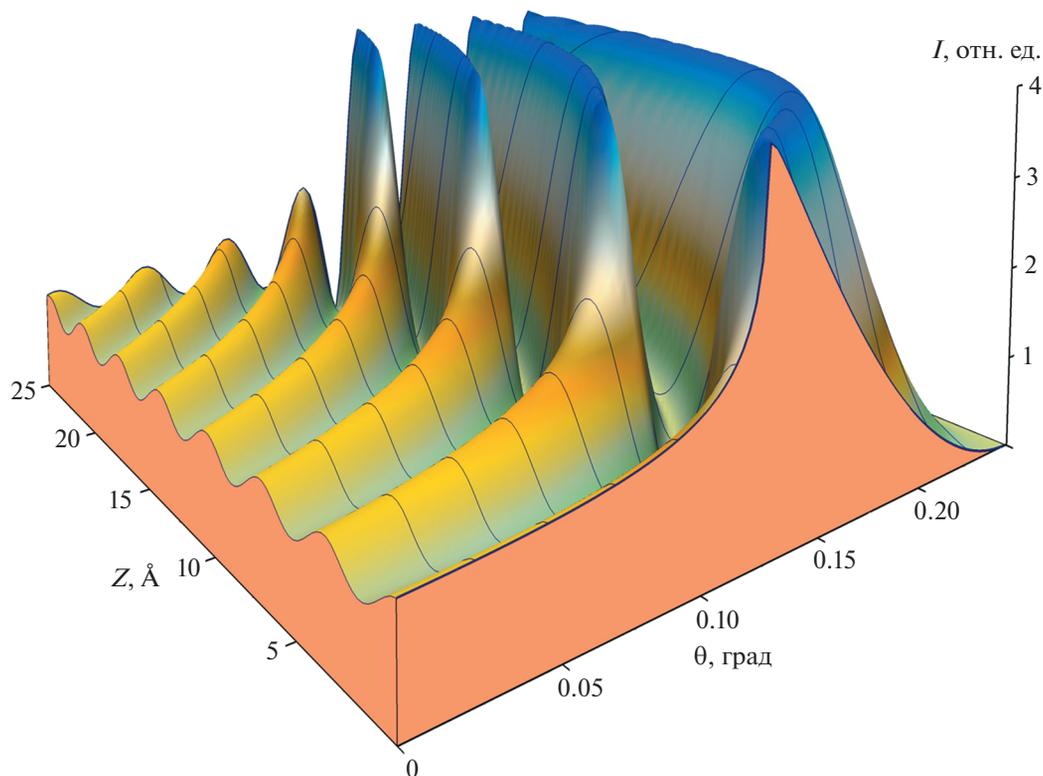


Рис. 2. Распределение интенсивности волнового поля над поверхностью рентгеновского зеркала в области ПВО.

цы проникают через альвеолокапиллярную мембрану и попадают в системный кровоток. При учете большой площади поверхности альвеол человека (около 80 м^2 при вдохе) не может не вызывать серьезной озабоченности растущее число агрессивных по отношению к легким природных и техногенных наноаэрозолей, возникающих как побочный продукт человеческой деятельности и как целевой продукт в нанотехнологическом производстве. На сегодняшний день потенциальная опасность для здоровья человека при вдыхании наноаэрозольных частиц, а также особенности их осаждения в дыхательных путях остаются далеки от понимания. В связи с этим развитие новых подходов, позволяющих выявлять механизмы токсического действия наноаэрозольных частиц на молекулярном уровне, приобретает особое значение как для формирования нового биологического знания, так и для решения целого ряда биомедицинских задач.

Однако использование наноаэрозолей в качестве средств направленной доставки лекарственных веществ позволяет во много раз снизить терапевтическую дозу препаратов по сравнению с пероральным и парентеральными способами введения. В то же время при ингаляционном введении препараты попадают непосредственно в артериальный кровоток, минуя желудочно-кишечный тракт и печень, где метаболизируется и разрушается их большая часть. Еще одним хоро-

шо известным преимуществом наноаэрозольных форм при ингаляционном способе введения является высокая скорость терапевтического воздействия, сравнимая с инъекционным способом. Несмотря на несомненные преимущества наноаэрозольных препаратов, их практическое применение в медицине ограничено вследствие заметных побочных эффектов.

Важным фактором, влияющим на проникновение наночастиц через альвеолярно-капиллярную мембрану в легких, является первичный контакт с легочным сурфактантом, покрывающим внутренние стенки альвеол и бронхов. Легочный сурфактант представляет собой сложную многокомпонентную смесь фосфолипидов (80–90%), нейтральных липидов (5–10%), в том числе холестерина и его эфиров, и специфических сурфактант-ассоциированных белков (около 10%). Среди фосфолипидных компонентов легочного сурфактанта преобладает фосфатидилхолин (80% от общего содержания фосфолипидов); около 55–75% фосфатидилхолина составляет дипальмитилфосфатидилхолин (ДПФХ) [20]. Легочный сурфактант участвует во многих жизненно важных процессах, и прежде всего обеспечивает механику дыхания (вдох и выдох) за счет циклического уменьшения поверхностного натяжения. Во время выдоха легочный сурфактант обогащается ДПФХ, который при температуре млекопитающих находится в твердом кристаллическом состо-

янии, создавая при этом “жесткий” молекулярный каркас, что предотвращает слипание альвеол в конце выдоха (ателектаз) [21]. Легочный сурфактант осуществляет также барьерную и защитные функции как по отношению к легочной ткани, так и всему организму млекопитающих. Он активизирует альвеолярные макрофаги, стимулирует механизм очистки поверхности бронхов и альвеолярного эпителия (мукоциллиарный клиренс), адсорбирует на своей поверхности и агрегирует некоторые бактерии и вирусы [22].

Молекулы фосфолипидов в легочном сурфактанте располагаются в виде упорядоченного мономолекулярного слоя на жидкости, покрывающей гликокалекс на поверхности альвеол. Гидрофобные хвосты фосфолипидных молекул сурфактанта ориентированы на воздушный просвет альвеолярных пузырьков. Очевидно, что монослой фосфолипидов, образующийся на границе воздух–жидкость в ленгмюровской ванне, представляет собой идеальную модель для исследований *in vitro* проникновения наноаэрозольных частиц через альвеолярный барьер.

Представленные исследования посвящены изучению действия малых доз наночастиц Au с диаметром ядра менее 5 нм. Наночастицы Au распыляли на монослой природного легочного сурфактанта, предварительно сформированный на водной субфазе в ленгмюровской ванне, методом электрогидродинамического распыления. Была использована установка, разработанная в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН (г. Пушкино) [23]. Такой способ осаждения подразумевает, что первичный контакт между наночастицами и молекулами липидов происходит на границе воздух–жидкость, что обеспечивает более адекватный подход к моделированию процесса проникновения вдыхаемых наночастиц через альвеолярный барьер.

Синтез наночастиц золота был выполнен в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН (г. Пушкино).

Гидрофильные наночастицы золота. Использовали частицы золота с калиброванным размером ядра 5 нм, стабилизированные цитратным буфером. Для электрораспыления цитрат заменяли неионогенным гидрофильным покрытием: к исходной суспензии наночастиц Au добавили метокси(полиэтиленгликоль)тиол (PEG800-SH).

Гидрофобные наночастицы золота. Частицы золота с гидрофобным покрытием были приготовлены путем двухфазного восстановления соли тетрахлоороаурат(III) калия боргидридом натрия в присутствии гексадекантиола по методике, описанной в [24].

Рентгеновские измерения. Было использовано излучение с длиной волны 0.95 Å. Спектры характеристической флуоресценции регистрировали в каждой точке кривой отражения рентгеновских

лучей при сканировании угла падения в области ПВО для воды.

Формирование монослоя легочного сурфактанта. Для проведенных исследований был выбран Сурфактант БЛ – немодифицированный природный препарат, содержащий весь набор липидов нативного легочного сурфактанта (включая минорные липидные составляющие), а также связанные с сурфактантом гидрофобные белки [25]. Препарат разработан в Российском научном центре радиологических и хирургических технологий им. А.М. Гранова (Санкт-Петербург, Россия). Сурфактант-БЛ представляет собой высокоочищенный природный сурфактант, полученный из измельченных легких крупного рогатого скота. Сурфактант-БЛ разрешен Минздравом РФ для клинического применения с 2000 г. Основным преимуществом этого препарата является близкое сходство липидно-белкового состава с легочным сурфактантом человека, что обеспечивает высокую эффективность Сурфактанта-БЛ при лечении патологий легких не только у новорожденных, но и у взрослых пациентов [26].

Для формирования монослоя препарат Сурфактант-БЛ разводили в хлороформе в концентрации 0.47 мг/мл; раствор наносили на поверхность водной субфазы в ленгмюровской ванне, была использована вода высокой степени очистки (сопротивление более 18 МОм см, Millipore Corp). После испарения растворителя (в течение 15 мин) слой поджигали до давления 25 мН/м. Все измерения проводили при температуре 21°C.

Определение положения наночастиц Au в монослое легочного сурфактанта. Гидрофильные наночастицы. Раствор гидрофильных наночастиц Au (50 мкл концентрацией 0.01%) распыляли на монослой Сурфактанта-БЛ. Рентгеновские измерения начинали через 1 ч после завершения электрораспыления. Угловые зависимости выхода флуоресценции регистрировали непрерывно в течение 12 ч, всего было записано 17 сканов.

В первых двух сканах из-за изменения количества наночастиц Au у поверхности кривые выхода флуоресценции от атомов золота имели искаженную форму. Только спустя 3 ч после завершения электрораспыления угловая зависимость Au-флуоресценции приняла характер, обусловленный изменением интенсивности волнового поля, причем в течение последующих 9 ч измерений форма кривых выхода Au-флуоресценции оставалась неизменной. Подчеркнем, что в общей сложности в этих измерениях поверхностное давление монослоя поддерживали постоянным в течение 18 ч, за это время площадь монослоя уменьшилась всего на 2%, что свидетельствует о высокой стабильности сформированного смешанного монослоя наночастиц Au и Сурфактанта-БЛ.

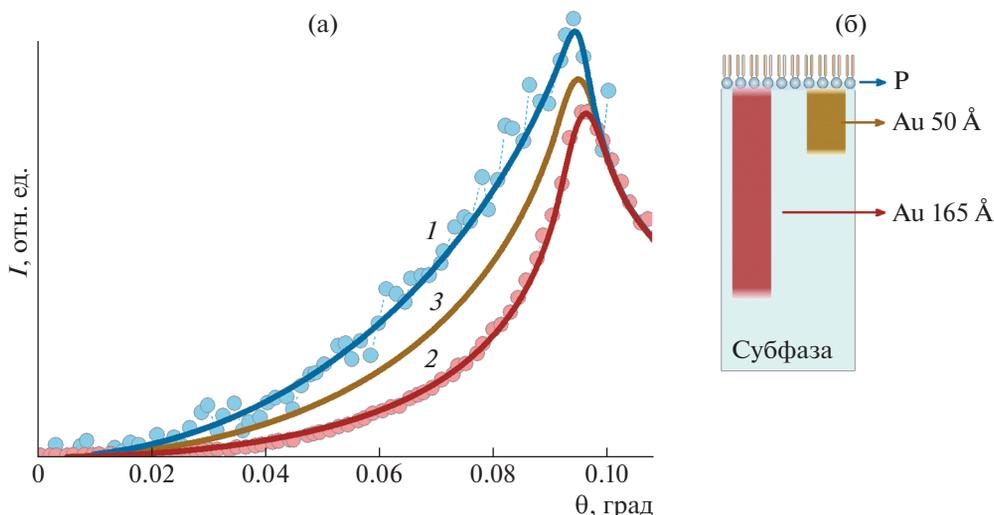


Рис. 3. Угловые зависимости (а) выхода флуоресценции фосфора (1) и золота (2), зарегистрированные через 3 ч после завершения электронапыления гидрофильных наночастиц золота на монослой Сурфактанта-БЛ (точки — экспериментальные данные, сплошная линия — расчет, наилучшее совпадение, атомы золота распределены в слое толщиной 165 Å, расположенном под липидным монослоем), и расчет (3) в случае, когда ионы золота распределены в слое толщиной 50 Å. На схеме (б) показаны параметры модели, полученные исходя из наилучшего совпадения угловой зависимости выхода Au-флуоресценции. Энергия падающего пучка 13 кэВ.

На рис. 3 представлена угловая зависимость выхода Au-флуоресценции, а также угловая зависимость выхода флуоресценции от атомов фосфора, присутствующих в полярных группах молекул фосфолипидов в монослое Сурфактанта-БЛ. Численное моделирование угловых зависимостей выхода флуоресценции было выполнено с использованием рекуррентного формализма, разработанного в [27]. Параметры, соответствующие наилучшему совпадению экспериментальных данных и теории, схематически показаны на вставке рис. 3. Согласно полученным данным покрытые полиэтиленгликолем наночастицы Au адсорбируются под монослоем ДПФХ, по-видимому, благодаря координации эфирных групп полиоксиэтилена (гидрофильных блоков молекул полиэтиленгликоля) с фосфатными группами молекул фосфолипида. Примечательно, что толщина слоя, в котором распределены наночастицы Au (165 Å), оказалась больше номинального диаметра их ядра (50 Å), что можно объяснить агрегацией наночастиц как в процессе электрораспыления, так и в водной субфазе.

В качестве контроля были проведены две дополнительные серии измерений с разным количеством распыляемого раствора гидрофильных наночастиц (20 и 40 мкл) и разным временем измерений (14 и 8 ч). В этих сериях измерения начинали через 4 ч после электрораспыления, когда вся система достигала равновесного состояния. Угловые зависимости Au-флуоресценции, зарегистрированные в обеих дополнительных сериях, оказались идентичными кривым выхода Au-флуоресценции в первой серии. Представленные ре-

зультаты однозначно указывают, что после электрораспыления гидрофильные наночастицы Au проникают через монослой и адсорбируются у его нижней границы. Важно отметить, что проведенные измерения позволили выявить характерные временные масштабы, определяющие проникновение гидрофильных наночастиц Au в монослой легочного сурфактанта. Процесс протекает относительно медленно — потребовалось ~3 ч, чтобы система достигла равновесия.

Гидрофобные наночастицы золота. Раствор гидрофобных наночастиц Au (40 мкл концентрацией 0.001%) распыляли на монослой Сурфактанта-БЛ. Рентгеновские измерения были начаты через 50 мин после завершения электрораспыления. Угловые зависимости выхода флуоресценции регистрировали непрерывно в течение 10 ч, всего было записано 15 сканов.

В этих измерениях наблюдалось более сложное поведение гидрофобных наночастиц — оказалось, что они проникают в монослой легочного сурфактанта через ряд промежуточных стадий. Было зафиксировано три различных типа кривых выхода Au-флуоресценции, соответствующих трем различным положениям наночастиц по отношению к монослою: кривая первого типа наблюдалась в сканах 2 и 3 (рис. 4, кривая 1); второй тип — 10 идентичных кривых выхода Au-флуоресценции, полученных в сканах 5–14 (кривая 2); третий тип — кривая, зарегистрированная в последнем скане 15 (кривая 3). Угловые зависимости интенсивности Au-флуоресценции, полученные в сканах 1 и 4, имели искаженную форму.

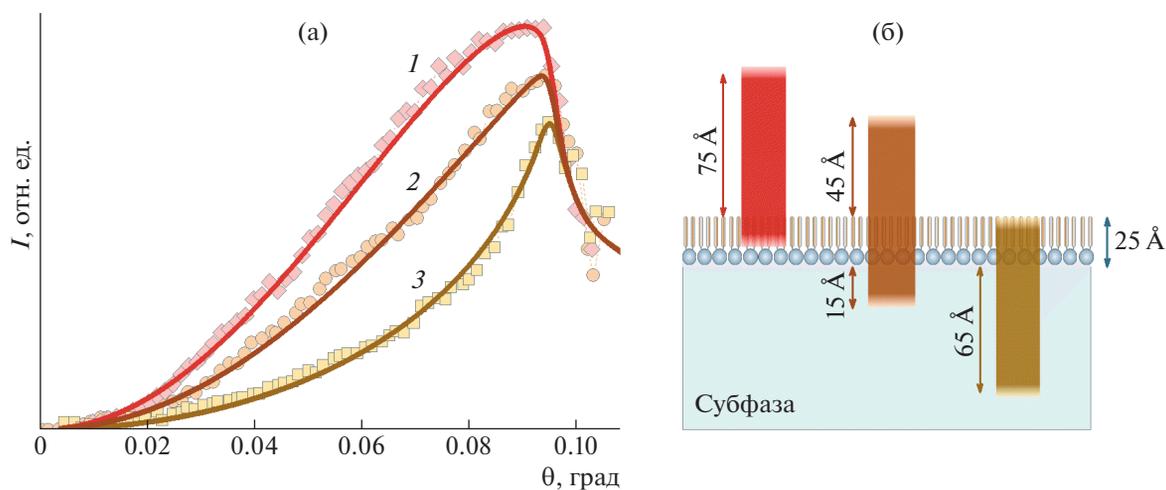


Рис. 4. Угловые зависимости (а) выхода Au-флуоресценции, зарегистрированные через 1 ч 40 мин (1), 3 ч 40 мин (2) и 10 ч 20 мин (3) после завершения электронапыления гидрофобных наночастиц золота на монослой Сурфактанта-БЛ (точки – экспериментальные данные, сплошные линии – расчет, наилучшее совпадение). На схеме (б) показаны параметры модели, полученные исходя из наилучшего совпадения угловых зависимостей выхода Au-флуоресценции. Энергия падающего пучка 13 кэВ.

В модельных расчетах гидрофобные наночастицы Au рассматривали как одиночные объекты, распределенные по монослою. В рамках такой модели предполагается, что электрическое поле не изменяется в присутствии наночастиц Au и его интенсивность зависит только от параметров липидного монослоя (электронной плотности и толщины). Наилучшее совпадение расчетных кривых с экспериментальными было получено для трех различных положений наночастиц Au, схематически показанных на рис. 4. Нетрудно заметить общую тенденцию в изменении положения наночастиц – их часть, возвышающаяся над гидрофобной областью монослоя, со временем уменьшалась, а нижняя часть наночастиц опускалась в водную субфазу, т.е. наночастицы все глубже погружались в монослой.

Отметим, что в этих измерениях поверхностное давление поддерживали постоянным в общей сложности более суток, за это время площадь монослоя постепенно уменьшалась до минимального значения, после чего поверхностное давление упало до 19 мН/м. Наблюдаемые изменения можно объяснить дестабилизацией монослоя, вызванной напряжениями из-за встраивания в него наночастиц Au.

В экспериментах с гидрофобными наночастицами Au, так же как и с гидрофильными, были проведены две дополнительные серии измерений разной продолжительности (8 и 12 ч) с разным количеством распыляемого раствора (50 и 30 мкл). Измерения начинали через 50 мин после завершения распыления. Равновесие достигалось через 5 ч после окончания распыления. Оказалось, что после достижения системой равновесия форма кривых выхода Au-флуоресценции, зарегистрированных в двух дополнительных сериях,

совпадает с кривой 3 из первой серии измерений выхода Au-флуоресценции. На основании этих экспериментальных данных можно сделать заключение, что равновесное положение гидрофобных частиц соответствует позиции 3 на рис. 4. Различное поведение гидрофобных наночастиц, наблюдаемое в первой серии и в двух дополнительных сериях измерений, можно объяснить различиями в режиме электрораспыления. По-видимому, в первой серии при электрораспылении образовывались капли с низкой кинетической энергией, что замедляло процесс проникновения наночастиц в монослой Сурфактанта-БЛ.

Обобщая данные СРВ-измерений, можно сделать заключение, что во всех проведенных экспериментах наблюдалось накопление наночастиц Au в монослое легочного сурфактанта. Гидрофильные наночастицы проникали сквозь монослой и адсорбировались у его нижней границы. Гидрофобные наночастицы встраивались в гидрофобную область монослоя. Полученные результаты помогают глубже понять молекулярные механизмы токсического действия природных и антропогенных наноаэрозолей на дыхательную систему. Действительно, накапливаясь в монослое легочного сурфактанта, наночастицы могут оказывать заметное влияние на его физико-химические свойства.

2.2. Метод рентгеновской спектроскопии поглощения в геометрии ПВО для исследований на поверхности жидкости

Метод рентгеновской спектроскопии поглощения для исследования локального атомного строения вещества основан на изучении тонкой

структуры спектров поглощения рентгеновских лучей, которая включает в себя протяженную тонкую структуру (EXAFS – Extended X-ray Absorption Fine Structure) и околокраевую тонкую структуру (XANES – X-ray Absorption Near Edge Structure). Этот метод позволяет получать структурную информацию в непосредственной близости от поглощающего атома, т.е. внутри сферы радиусом 5–6 Å. По данным рентгеновской спектроскопии поглощения удается определить координату атома металла: количество и тип окружающих атомов, симметрию координационного полиэдра, а также межатомные расстояния с точностью, сопоставимой с точностью метода рентгеноструктурного анализа для небольших молекул. Метод также дает информацию об электронной структуре поглощающего металла – степени окисления и спиновом состоянии. Кроме того, он позволяет исследовать атомы металла с заполненной или пустой электронной *d*-оболочкой (Zn, Ca) или атомы неметаллов (Se). Еще одно преимущество рентгеновской спектроскопии поглощения связано с возможностью измерения спектров не только кристаллических, но и аморфных образцов, а также растворов. Особый интерес для изучения объектов с крайне низкой концентрацией поглощающих атомов представляют измерения XANES-спектров в условиях ПВО с регистрацией интенсивности характеристической рентгеновской флуоресценции. Благодаря резкому снижению интенсивности фонового рассеяния в условиях ПВО в такой геометрии удается заметно увеличить отношение сигнал/шум, что позволяет регистрировать предельно слабый спектроскопический сигнал от ультратонких биоорганических пленок.

Захватывающие перспективы для фундаментальных и прикладных исследований в области биомедицинских наук открывают применение метода рентгеновской спектроскопии поглощения для изучения механизмов образования двумерных супрамолекулярных белковых ансамблей на межфазных границах. Проблема самоорганизации белков на поверхностях различных микро- и наноструктур в клетке является ключом к пониманию многих жизненно важных метаболических реакций и сигнальных процессов, происходящих в цитоплазме в норме и патологии. Кроме того, большое значение имеет возможность получать информацию о некристаллических белковых наносистемах в условиях, приближенных к физиологическим условиям функционирования белковых макромолекул.

Первые исследования с помощью рентгеновской спектроскопии поглощения на жидкой поверхности представлены в работе [28], посвященной изучению взаимодействия монослоя жирной кислоты с ионами металла (марганец), присутствующими в водной субфазе. XANES-спектры

для белковых макромолекул, организованных в виде монослоя на поверхности жидкой субфазы, были впервые получены в [6, 7]. Было экспериментально обнаружено явление формирования однотипных центров связывания цинка в неродственных белках (гемоглобине, щелочной фосфатазе и ЕЗ-лигазе паркин). В настоящем разделе представлены результаты исследований, посвященных изучению локальной геометрии ионов церия, адсорбированных под монослоем жирной кислоты.

Исследования процессов изменения валентного состояния церия на межфазной границе воздух–жидкость. Лантаноиды обладают уникальными магнитными и фотофизическими свойствами, что делает их особенно перспективными для применения в молекулярной электронике. Для получения планарных наноструктур на основе лантаноидов весьма эффективным оказался метод Ленгмюра–Блоджетт, когда упорядоченные монослои амфифильных молекул, сформированные на поверхности раствора солей лантаноидов, переносят на твердую подложку [29]. В этом случае на относительно больших площадях удается получить многослойные высокоупорядоченные металлоорганические пленки, в которых ионы металлов образуют монокатодные слои, отделенные друг от друга углеводородными радикалами амфифильных молекул длиной несколько нанометров. Это позволяет создавать двумерные магнитные материалы, в которых расстояния между ионами металлов вдоль слоя и перпендикулярно слою различаются почти на порядок. Развитие методов нанодиагностики таких структур представляет значительный интерес как для фундаментальных исследований, так и для широкого спектра технологических применений [30].

Метод рентгеновской спектроскопии поглощения широко используют для определения типа координации лантаноидов в растворах [31, 32]. Чаще всего получение структурной информации из анализа EXAFS-спектров затруднено из-за доминирующего вклада ближайших атомов кислорода и низкой симметрии в дальних координационных сферах [33]. В случае окружения атома лантаноида органическими молекулами метод рентгеновской спектроскопии поглощения позволяет получать информацию о типе координации путем определения координационных чисел для сфер с радиусами, характерными для каждого типа взаимодействия атома металла с органическими молекулами [34].

Формирование монослоя жирной кислоты на поверхности раствора нитрата церия. На поверхности водного раствора соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (концентрация 3 мМ) наносили раствор арахиновой кислоты в хлороформе (концентрация 0.6 мг/мл). После испарения хлороформа слой поджимали до давления $\pi = 20$ мН/м, рентге-

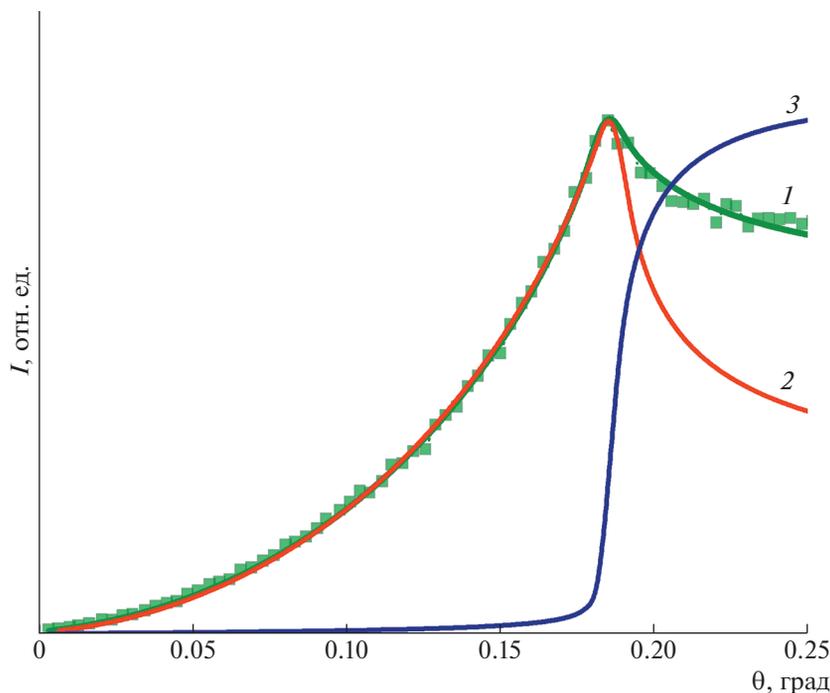


Рис. 5. Расчетные угловые зависимости выхода Се-флуоресценции от монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на поверхности раствора соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1 – наилучшее совпадение; 2 – расчет для ионов, присутствующих в слое толщиной 5 Å, расположенном на расстоянии 27 Å от границы воздух–монослой; 3 – расчет для ионов, равномерно распределенных в объеме водной субфазы. Энергия падающего пучка 6 кэВ.

новские измерения проводили в режиме поддержания постоянного поверхностного давления. Для приготовления всех растворов была использована вода высокой степени очистки (сопротивление более 18 МОм см), полученная на установке Millipore Corp.

Рентгеновские измерения на станции “Структурное материаловедение”. Рентгеновские спектры для соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ вблизи L -края поглощения были получены на станции “Структурное материаловедение” КИСИ [35]. Спектры поглощения регистрировали в режиме “пропускания”, т.е. измеряли интенсивность рентгеновского излучения до и после образца. Для измерения интенсивности рентгеновского пучка использовали газонаполненные ионизационные камеры.

Рентгеновские измерения на станции “Ленгмюр”. Рентгеновские спектры поглощения для водного раствора соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, а также для монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на растворе соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, были получены на станции “Ленгмюр” КИСИ. Измерения проводили в геометрии ПВО. Угол падения на поверхность водой субфазы составлял 0.8 от критического угла ПВО для воды. Спектры поглощения регистрировали во флуоресцентной моде с использованием многопроходной методики. В таких измерениях коэффициент поглощения восстанавливают из модуляции интенсивности выхода флуоресценции от поглощающего

атома. Каждый спектр представляет собой сумму семи единичных спектров, записанных в многопроходном режиме в одинаковом диапазоне. Регистрацию флуоресцентного сигнала осуществляли с помощью кремниевого дрейфового энергодисперсионного детектора Vortex EX-90.

Предварительные измерения методом СРВ позволили получить информацию о распределении ионов церия под монослоем арахидиновой кислоты. Анализ полученных экспериментальных данных показал, что выход флуоресценции от церия представляет собой сумму двух вкладов: от ионов, присутствующих в тонком слое у поверхности (рис. 5, кривая 2), и ионов, равномерно распределенных в объеме водной субфазы (рис. 5, кривая 3). Из сравнения представленных на рис. 5 расчетных кривых хорошо видно, что в области малых углов $\theta < \theta_c$ вклад от ионов, присутствующих в субфазе, пренебрежимо мал, поэтому для измерений рентгеновских спектров поглощения был выбран угол $0.8\theta_c$. Это позволило разделить вклад от ионов, присутствующих в объеме водной субфазы, и ионов, адсорбированных в тонком слое у нижней границы монослоя арахидиновой кислоты. Толщина и положение этого слоя были определены исходя из наилучшего совпадения расчетных кривых с экспериментальными данными. Согласно этим данным ионы церия присутствуют в слое толщиной 5 Å, который расположен на расстоянии 27 Å от границы воздух–монослой.

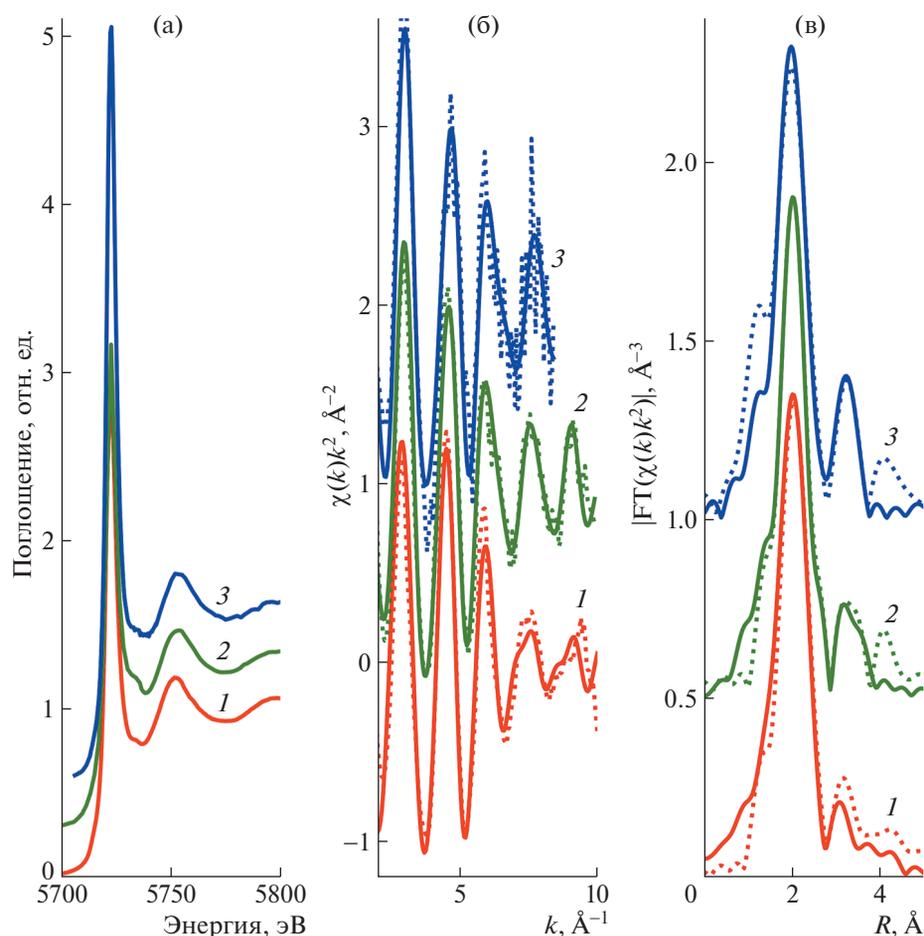


Рис. 6. Данные рентгеноспектрального эксперимента для соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: а – XANES-спектры; б – осциллирующие части спектров EXAFS и их подгонка; в – фурье-трансформанты спектров EXAFS и их подгонка: 1 – монослой арахидиновой кислоты, сформированный на поверхности раствора соли, 2 – кристалл, 3 – водный раствор соли. Сплошные линии – расчетные EXAFS-спектры, пунктирные линии – экспериментальные данные.

XANES-измерения для тонкого слоя церия, сформированного под монослоем арахидиновой кислоты на поверхности водной субфазы, проводили непрерывно в течение 5 ч. На протяжении всего времени измерений форма XANES-спектров не менялась, что указывает на сохранение степени окисления ионов церия, адсорбированных под монослоем арахидиновой кислоты, несмотря на продолжительное пребывание вблизи границы раздела воздух–вода.

Анализ данных рентгеновской спектроскопии поглощения. Рентгеновские спектры поглощения обрабатывали путем стандартных процедур выделения фона, нормирования на величину скачка поглощения и выделения атомного поглощения μ_0 , после чего проводили фурье-преобразование выделенного EXAFS-спектра в интервале волновых векторов фотоэлектронов k от 2.5 до 9.5 \AA^{-1} с весовой функцией k^2 . Параметры ближайшего окружения иона металла в исследованных соединениях определяли нелинейной подгонкой параметров соответствующих координационных сфер

при сопоставлении расчетных данных с экспериментальными EXAFS-спектрами, выделенными из полного спектра поглощения методом фурье-фильтрации. Указанную процедуру проводили с использованием пакета программ Larch [36]. Необходимые для построения модельного спектра фазы и амплитуды рассеяния фотоэлектронной волны рассчитывали по программе FEFF8 [37].

На рис. 6 представлены рентгеновские спектры поглощения для соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, водного раствора соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, а также монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на растворе соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Спектры нормированы на единичный скачок поглощения и построены в зависимости от энергии падающих фотонов. Все три спектра имеют форму, типичную для зарядового состояния Ce^{3+} , что указывает на сохранение степени окисления церия в водном растворе и при взаимодействии с функциональными группами молекул арахидиновой кислоты. При сравнении экспериментальных данных XANES (рис. 6) хорошо видно, что спек-

тральные особенности всех трех серий измерений не претерпевают существенных изменений. Важное отличие спектра для монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на растворе соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, состоит в заметном увеличении интенсивности белой линии, что позволяет сделать заключение о более высокой степени упорядочения в локальном окружении атомов церия, адсорбированных из раствора на монослое арахидиновой кислоты.

Для определения изменений в локальном атомном окружении металла был проведен анализ протяженной части рентгеновского спектра поглощения. На рис. 6 показаны осциллирующие части EXAFS-спектров и их фурье-трансформанты. Подгонка спектра EXAFS для соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ выполнена с использованием литературных данных для кристаллической структуры $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: на фурье-трансформанте наблюдаются два основных пика при $R = 2.0$ и 3.3 \AA [38]. Первый пик соответствует 10 атомам кислорода: шесть атомов кислорода относятся к трем нитрогруппам, четыре атома входят в состав молекул воды. Вклад трех атомов азота нитрогрупп, которые расположены на расстоянии $\sim 3.2 \text{ \AA}$, перекрывается высокоинтенсивным первым пиком. Второй пик, расположенный при $R = 3.3 \text{ \AA}$, представляет собой сумму вкладов трех атомов кислорода нитрогрупп и многократных путей рассеяния [39]. При моделировании использовали параметры кристаллической структуры $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [40]. Многократные пути рассеяния, учтенные в расчетах, соответствовали координационным числам, пропорциональным количеству атомов азота во второй координационной сфере. Уточнение параметров Дебая–Валлера и радиусов координационных сфер проводили с использованием одних и тех же переменных для всех многократных путей. Как видно из рис. 6в, расчеты хорошо согласуются с экспериментальными данными. Незначительные различия объясняются большим количеством многократных путей рассеяния, что требует варьирования большого количества параметров и значительно усложняет подгонку EXAFS-спектров.

При анализе EXAFS-спектров для водного раствора соли церия и монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на растворе соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, варьировали все параметры модели. Значения параметров, которые были определены исходя из наилучшего совпадения расчетных и экспериментальных данных, представлены в табл. 2. Согласно полученным результатам в водном растворе в первой координационной сфере наблюдается уменьшение радиуса и координационного числа. Во второй координационной сфере координационное число осталось без изменений: удовлетворительного совпадения расчет-

Таблица 2. Параметры локального атомного окружения, определенные из анализа EXAFS-спектров: координационные числа (N), межатомные расстояния (R) и параметры Дебая–Уоллера (σ^2)

Путь рассеяния	N	$R, \text{ \AA}$	$\sigma^2, \text{ \AA}^2$
$\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, кристалл			
Ce–O	10.0	2.58	0.010
Ce–N	3.0	3.23	0.003
Ce–O	3.0	4.54	0.003
Ce–O–N	12.0	4.12	0.06
Ce–N–O–N	6.0	4.12	0.06
Ce–N–O–O	12.0	4.36	0.06
Ce(III), раствор			
Ce–O	8.6	2.55	0.008
Ce–N	3.1	3.23	0.003
Ce–O	3.1	4.23	0.003
Ce–O–N	12.4	4.05	0.08
Ce–N–O–N	6.2	4.05	0.08
Ce–N–O–O	12.4	4.33	0.08
Ce, монослой арахидиновой кислоты			
Ce–O	8.7	2.53	0.008
Ce–N/C	4.1	3.22	0.003
Ce–O/C	4.1	4.15	0.003
Ce–O–N	16.4	4.03	0.024
Ce–N–O–N	8.2	4.03	0.024
Ce–N–O–O	16.4	4.11	0.024

ных и экспериментальных данных удалось добиться только с учетом трех атомов азота на расстоянии 3.23 \AA от атома церия, что свидетельствует о сохранении координации трех нитратных групп вокруг атомов церия при растворении $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в воде. Более далекие координационные сферы претерпевают существенную перестройку – изменяются расстояния до церия и увеличивается параметр Дебая–Валлера. На основании этих данных можно сделать предположение об изменении ориентации нитрогрупп относительно церия из-за взаимодействия с молекулами растворителя, в данном случае это молекулы воды.

Анализ EXAFS-спектров, полученных для монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на растворе нитрата церия, был выполнен с использованием той же модели, что и для водного раствора нитрата церия. При сравнении результатов этих измерений хорошо видны отличия, воз-

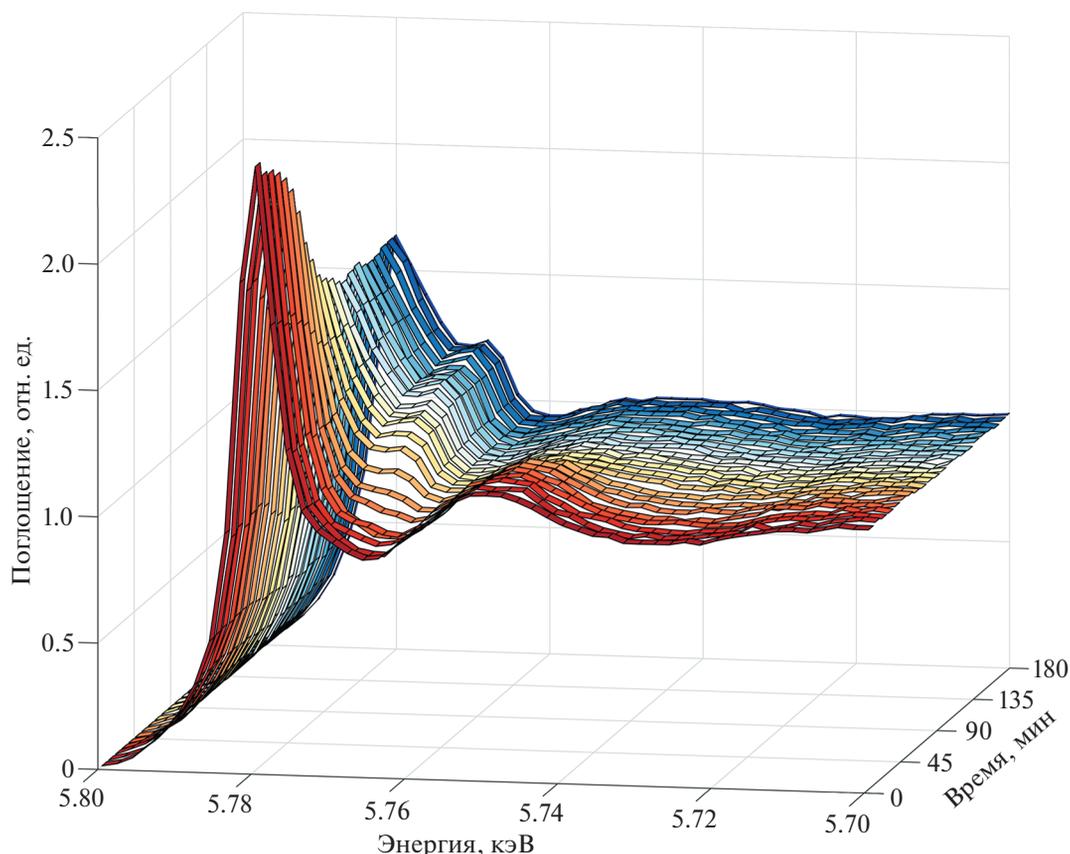


Рис. 7. Экспериментальные XANES-спектры вблизи L -края поглощения церия для монослоя арахидиновой кислоты, сформированного на поверхности водного раствора соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

никающие на фурье-трансформанте EXAFS-спектров монослоя арахидиновой кислоты, — заметный рост пика при $R = 3.3 \text{ \AA}$. Оказалось, что ближайшее локальное атомное окружение церия состоит из восьми–деяти атомов кислорода в первой координационной сфере, причем ее радиус на 0.02 \AA короче по сравнению с водным раствором соли. Во второй координационной сфере находятся четыре атома азота или углерода, расстояние до церия совпадает с расстоянием в водном растворе. Радиусы более далеких координационных сфер меньше, что указывает на более тесное взаимодействие церия с локальным окружением. Существенное уменьшение параметра Дебая–Валлера в случае многократных путей рассеяния для монослоя арахидиновой кислоты по сравнению с водным раствором нитрата церия может свидетельствовать о более сильной связи церия с нитрогруппами или карбоксильными группами арахидиновой кислоты. Такие изменения могут быть связаны с упорядочением локального атомного окружения церия. Это предположение косвенно подтверждается резким ростом интенсивности “белой линии” в спектре для монослоя

арахидиновой кислоты, сформированном на растворе нитрата церия (рис. 6). Взаимодействие молекулы арахидиновой кислоты и церия может осуществляться через карбоксильную группу. Однако координация атома церия нитро- и карбоксильными группами практически одна и та же, поэтому методом рентгеновской спектроскопии поглощения практически невозможно разделить вклад нитрогрупп от вклада карбоксильных групп арахидиновой кислоты. Достоверно удается установить, что суммарное количество нитрогрупп и/или карбоксильных групп равно четырем, т.е. как минимум одна карбоксильная группа арахидиновой кислоты участвует в координации церия. Отметим, что экспериментальные EXAFS-спектры удалось описать без использования путей рассеяния типа $\text{Ce}-\text{Ce}$ короче 4 \AA , что указывает на отсутствие тесного взаимодействия атомов металла, как, например, в [40].

Возможности рентгеновской спектроскопии поглощения для исследований *in situ* физико-химических процессов, протекающих на межфазной границе воздух–жидкость, были продемонстрированы в серии измерений, в которых на-

блюдалось изменение валентного состояния церия, адсорбированного под монослоем арахиновой кислоты. Известно, водные растворы соли $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ устойчивы на воздухе. Однако гидроксид церия(III) имеет тенденцию к окислению и переходу в гидроксид церия(IV). Для повышения pH в водную субфазу вне области формирования монослоя (за барьером) добавили 2 мл водного раствора гидроксида аммония (концентрация 10%), после чего XANES-спектры измеряли в течение 7 ч. На рис. 7 приведены спектры, полученные в течение последних 3 ч измерений. За счет диффузии повышалось значение pH в субфазе, что в свою очередь инициировало процесс окисления церия. На рисунке хорошо видны постепенное изменение валентности церия и увеличение фракции атомов церия, перешедших в состояние $4+$. Таким образом, использование метода рентгеновской спектроскопии поглощения позволило в режиме реального времени наблюдать процесс изменения степени окисления атомов церия, адсорбированных под монослоем арахиновой кислоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря созданию сверхъярких источников синхротронного излучения значительно расширился класс объектов, доступных для рентгеновских исследований: появилась возможность использовать весь арсенал современных прецизионных рентгеновских методов для структурной диагностики таких сложнейших объектов, как слабоупорядоченные биоорганические наносистемы. Развитие инструментальной техники позволило исследователям проводить измерения биоорганических наносистем, сформированных непосредственно на поверхности жидкой субфазы. В таких экспериментах удается в режиме реального времени наблюдать процессы, протекающие в динамических наносистемах на межфазных границах, что открывает новые перспективы для изучения механизмов молекулярной самосборки, лежащих в основе формирования высокоорганизованных биологических объектов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № 0706-2020-0026), а также Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-29-12052).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Pershan P.S., Schlossman M.* Liquid Surfaces and Interfaces: Synchrotron X-ray Methods. Cambridge: Cambridge University Press, 2012. 315 p.
2. *Zheludeva S.I., Novikova N.N., Kononov O.V. et al.* X-Ray Standing Wave Technique: Principles and Ap-

- lications. New York: World Scientific Publishing, 2013. V. 1. P. 355.
3. *Narayanan T., Kononov O.* // Materials. 2020. V. 13. № 3. P. 752.
4. *Zheludeva S.I., Kovalchuk M.V., Novikova N.N.* // Spectrochim. Acta. B. 2001. V. 56. P. 2019.
5. *Wang W., Kuzmenko I., Vaknin D.* // Phys. Chem. Chem. Phys. 2014. V. 16. P. 13517.
6. *Kononov O., Novikova N.N., Kovalchuk M.V. et al.* // Materials. 2020. V. 13. № 20. P. 4635.
7. *Новикова Н.Н., Якунин С.Н., Ковальчук М.В. и др.* // Кристаллография. 2019. Т. 64. № 6. С. 945.
8. *Rapaport H., Kuzmenko I., Kjaer K. et al.* // Synchr. Radiat. News. 1999. V. 12. № 2. P. 25.
9. *Лидер В.В., Терещенко Е.Ю., Желудева С.И. и др.* // Поверхность. Рентген., синхротр. и нейтр. исследования. 2004. № 7. С. 5.
10. *Rogachev A.V., Novikova N.N., Kovalchuk M.V.* // Langmuir. 2022. V. 38. № 12. P. 3630.
11. *Daillant J., Gibaud A.* X-ray and Neutron Reflectivity: Principles and Applications. Berlin: Springer, 2009. 348 p.
12. *Kaganer V.M., Möhwald H., Dutta P.* // Rev. Modern Phys. 1999. V. 71. № 3. P. 779.
13. *Новикова Н.Н., Ковальчук М.В., Якунин С.Н. и др.* // Кристаллография. 2016. Т. 61. № 5. С. 824.
14. *Ковальчук М.В., Кон В.Г.* // Успехи физ. наук. 1986. Т. 149. № 5. С. 69.
15. *Vartanyants I.A., Kovalchuk M.V.* // Rep. Prog. Phys. 2001. V. 64. № 9. P. 1009.
16. *Bloch J., Sansone M., Rondelez F. et al.* // Phys. Rev. Lett. 1985. V. 54. P. 1039.
17. *Zheludeva S., Novikova N., Stepina N. et al.* // Spectrochim. Acta. B. 2008. V. 63. P. 1339.
18. *Abuillan W., Schneck E., Korner A. et al.* // Phys. Rev. E. 2013. V. 88. P. 012705.
19. *Schneck E., Rodriguez-Loureiro I., Bertinetti L. et al.* // J. Phys. D: Appl. Phys. 2017. V. 50. № 10. P. 104001.
20. *Willson D.F., Chess P.R., Wang Z. et al.* The Respiratory Tract in Pediatric Critical Illness and Injury. Springer, 2009. P. 1.
21. *Bangham A.D.* // Medical Applications of Liposomes. Elsevier Science, 1998. P. 452.
22. *Розенберг О.А.* // Общая реаниматология. 2014. Т. 10. № 4. С. 51.
23. *Morozov V.N., Kanev I.L., Mikheev A.Y. et al.* // J. Aerosol Sci. 2014. V. 69. P. 48.
24. *Brust M., Walker M., Bethell D. et al.* // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1994. P. 801.
25. *Rosenberg O., Seiliev A., Zhuikov A.* // Liposome Technology. CRC Press, 2006. P. 343.
26. *Rosenberg O.A., Bautin A.E., Seiliev A.A.* // Int. J. Biomedicine. 2018. V. 8. P. 253.
27. *Parratt L.G.* // Phys. Rev. 1954. V. 95. P. 359.
28. *Bloch J.M., Yun W.B., Yang X.* // Phys. Rev. Lett. 1988. V. 61. № 26. P. 2941.
29. *Wales D.J., Kitchen J.A.* // Chem. Central J. 2016. V. 10. P. 72.

30. *Singh A., Mukhopadhyay M.K., Sanyal M.K. et al.* // J. Phys.: Condens. Matter. 2019. V. 31. № 49. P. 495803.
31. *Bu W., Yu H., Luo G.* // J. Phys. Chem. B. 2014. V. 118. № 36. P. 10662.
32. *Onghena B., Papagni E., Souza E.R. et al.* // RSC Adv. 2018. V. 8. P. 32044.
33. *Gismondi P., Kuzmin A., Unsworth C. et al.* // Langmuir. 2022. V. 38. № 1. P. 203.
34. *Ellis R.J., Meridiano Y., Chiarizia R. et al.* // Chem. Eur. J. 2013. V. 19. № 8. P. 2663.
35. *Chernyshov A.A., Veligzhanin A.A., Zubavichus Ya.V.* // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A. 2009. V. 603. P. 95.
36. *Newville M.* // J. Phys.: Conf. Ser. 2013. V. 430. P. 012007.
37. *Ankudinov A.L., Ravel B., Rehr J.J. et al.* // Phys. Rev. B. 1998. V. 58. P. 7565.
38. *Beineke T.A., Delgaudio J.* // Inorg. Chem. 1968. V. 7. № 4. P. 715.
39. *Ferrier M.G., Stein B.W., Bone S.E. et al.* // Chem. Sci. 2018. V. 9. P. 7078.
40. *Louvel M., Etschmann B., Guan Q. et al.* // Nat. Commun. 2022. V. 13. P. 1456.