

Рентгеновская рефлектометрия монослоев DMPS на ВОДНОЙ ПОДЛОЖКЕ

А. М. Тихонов^{*}, В. Е. Асадчиков[†], Ю. О. Волков[†], Б. С. Рощин[†], Ю. А. Ермаков[‡]

Институт физических проблем им. П. Л. Капицы РАН, 119334 Москва, Россия

[†]Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, 119333, Москва, Россия

*[‡]Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,
119071, Москва, Россия*

10 августа 2017 г.

Абстракт

С помощью рентгеновской рефлектометрии излучения с энергией фотонов ~ 8 кэВ исследована молекулярная структура монослоев димиристоил фосфатидилсерина (DMPS) на водной подложке в разных фазовых состояниях. Согласно экспериментальным данными с повышением поверхностного давления в монослое происходит переход из состояния двумерной расширенной жидкости в твердое гелевое состояние (жидкий кристалл), сопровождающийся упорядочением углеводородных хвостов $-C_{14}H_{27}$ молекулы DMPS. В жидкой фазе толщина монослоя составляет 20 ± 3 Å, а в твердой 28 ± 2 Å при этом в гелевой фазе угол отклонения оси молекулярных хвостов от нормали к поверхности $26^\circ \pm 8^\circ$. При двумерном сжатии монослоя также происходит не менее чем двукратное уменьшение степени гидратации полярных групп липида. Анализ данных рефлектометрии проведен с применением двух подходов: в предположении о наличии в монослое двух слоев с разной электронной плотностью и без предположений о поперечной структуре поверхности. Оба подхода демонстрируют достаточно хорошее согласие между собой при описании результатов эксперимента.

* tikhonov@kapitza.ras.ru

Фосфолипиды на водной поверхности образуют нерастворимый мономолекулярный слой, пленку, которая представляет собой двумерную термодинамическую систему с параметрами (Π, T) . При определенных условиях структура слоя описывается перпендикулярной к границе вода-воздух осью симметрии [1,2]. В частности, именно такой системой является монослой Ленгмюра, образованный молекулами димиристоил производной фосфатидилсерина (DMPS) (рис. 1).

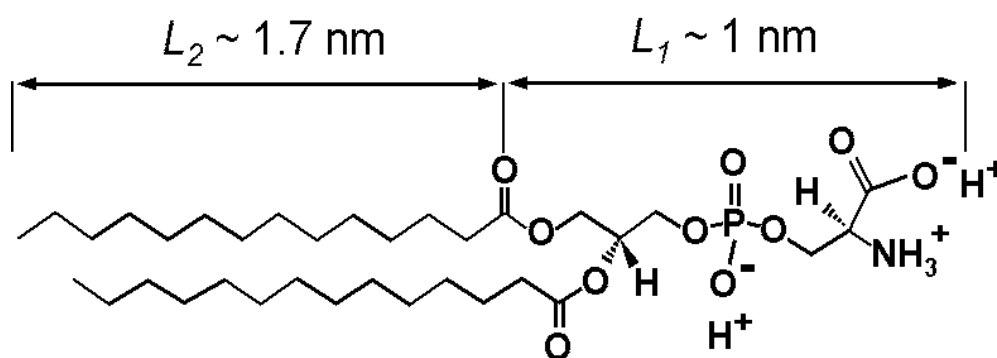


Рис. 1. Молекулярная структура димиристоил фосфатидилсерина (DMPS)

При нормальных условиях с повышением поверхностного давления Π и постоянной температуре T в этой пленке происходит фазовый переход двумерной жидкости в гелевую структуру (жидкий кристалл) [3,4]. Однако моделирование таких систем даже с применением методов молекулярной динамики оставляют открытым вопрос о молекулярной природе электростатических эффектов в монослоях. Существенную помощь в решении этого вопроса можно ожидать при использовании прямых методов регистрации структурных изменений в монослоях. В частности, рассеяние рентгеновского излучения было успешно использовано ранее в работах [2,5] для изучения поведения монослоев из цвителионных липидов. В данной работе мы предлагаем использовать подобную технику для изучения монослойных структур анионного липида DMPS с явно выраженным фазовым переходом. Действительно, при

сжатии монослоя DMPS имеются две существенно различные области изменения Вольта-потенциала (падения потенциала в липидном монослое) – сравнительно небольшое и плавное изменение потенциала в жидком состоянии монослоя сменяется его резким увеличением (порядка 200 мВ) при переходе липида в твердую гелевую фазу. Для объяснения этого факта предлагаются различные гипотезы [4], например, изменение состояния гидратации полярных групп фосфолипида [5-6]. Мы полагаем, что данные рентгеновской рефлектометрии могут быть полезны для проверки этих гипотез. В данной работе по результатам измерений коэффициента отражения рентгеновского излучения с энергией фотонов ~ 8 кэВ восстановлен профиль электронной плотности поперек поверхности монослоя DMPS в его разных фазовых состояниях. Для извлечения структурной информации применены два подхода к анализу экспериментальных данных: с учетом априорной информации («модельный» подход) и без предположений о поперечной структуре поверхности («безмодельный» подход).

Образцы монослоев фосфолипида DMPS приготавливались и изучались в герметичной ячейке с рентгенопрозрачными окнами в соответствии с методикой, описанной в работах [7, 8]. По поверхности жидкой подложки (раствор KCl в деионизованной воде с концентрацией 10 ммоль/л и $\text{pH} \approx 7$), помещённой во фторопластовую тарелку диаметром $D=100$ мм, с помощью шприца распределялся некоторый объем раствора фосфолипида с концентрацией 0.5 мг/мл в смеси хлороформ-метанол 5:1. Необходимый для опытов объем раствора был рассчитан для трех значений конечной площади A на молекулу, выбранных для разного фазового состояния липида в монослое. Зависимость поверхностного давления, $\Pi(A) = \gamma_0 - \gamma(A)$, измеренная на монослоях DMPS в работах [3,4], однозначно задается величиной A (см. рис. 2), где поверхностное натяжение чистой воды при нормальных условиях $\gamma_0 = 72.5$

мН/м, а $\gamma(A)$ - поверхностное натяжение в присутствии липидной пленки. Согласно этой зависимости при $A \approx 100 \text{ \AA}^2$ монослой находится в состоянии I «расширенной жидкости», а при $A \approx 50 \text{ \AA}^2$ монослой представляет собой двумерную неоднородную структуру II и содержит равновесную смесь доменов жидкой и твердой фаз. Наконец, при $A \approx 34 \text{ \AA}^2$ монослой DMPS находится в конденсированном состоянии III, которое обычно определяется как жидкий кристалл [5,9].

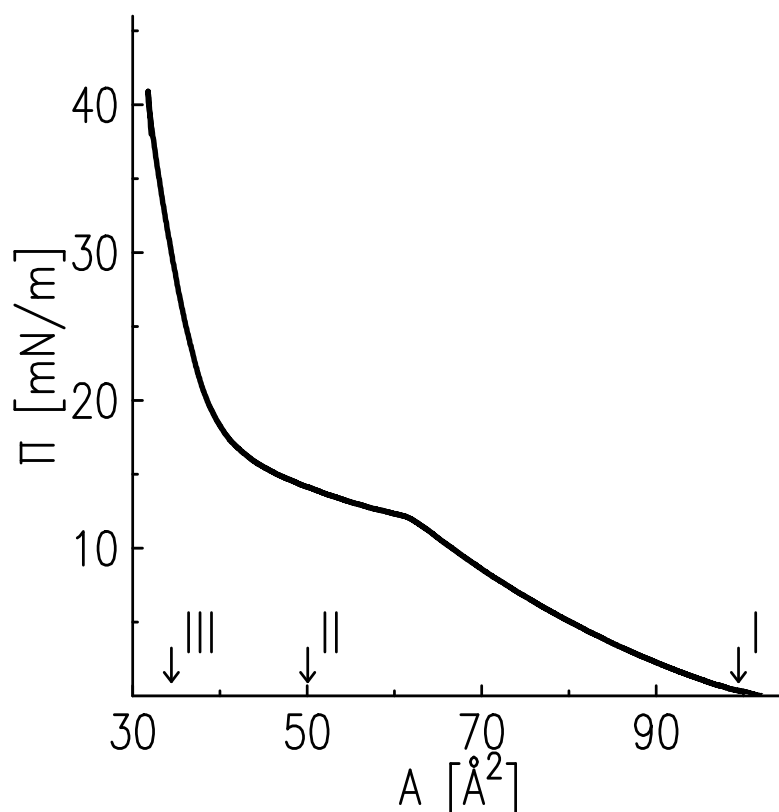


Рис. 2. Зависимость поверхностного давления от площади на молекулу, измеренная в работе [4] для монослоя DMPS на поверхности раствора 10 мМ KCl и $\text{pH} \approx 7$. Стрелками указаны выбранные для рентгеновской рефлектометрии значения площади в областях сжатия монослоя, соответствующих «расширенной двумерной жидкости» (I), равновесной смеси доменов жидкой и твердой фаз (II) и твердой гелевой фазе (III)

Поперечное строение липидного монослоя было исследовано методом рентгеновской рефлектометрии на лабораторном дифрактометре широкого назначения с подвижной системой излучатель-детектор [10]. В качестве излучателя используется рентгеновская трубка с медным анодом. С помощью кристалла-монокроматора

однократного отражения Si (111), из спектра излучения трубки выбирается линия $K_{\alpha 1}$ (энергия фотонов $E = 8048$ эВ, длина волны $\lambda = 1.5405 \pm 0.0001$ Å). Вертикальный размер пучка ~ 0.1 мм, а горизонтальный ~ 8 мм. Трёхщелевая коллимационная система формирует зондирующий рентгеновский пучок, имеющий угловую ширину в плоскости падения $\sim 10^{-4}$ рад. Угловое разрешение точечного детектора $2\Delta\beta \approx 1.7 \times 10^{-3}$ рад определяется входной щелью с зазором 1 мм на расстоянии ~ 570 мм от центра образца. Для уменьшения поглощения и рассеяния излучения на воздухе применены вакуумные пути с рентгенопрозрачными окнами.

Пусть \mathbf{k}_{in} , \mathbf{k}_{sc} – волновые вектора с амплитудой $k_0 = 2\pi/\lambda$ падающего и рассеянного лучей, соответственно. Удобно ввести систему координат, в которой начало O лежит в центре области засветки, плоскость xy совпадает с границей воды, ось Ox перпендикулярна к направлению луча, а ось Oz направлена по нормали к поверхности противоположно силе тяжести (см. вставку на рис. 3). Вектор рассеяния $\mathbf{q} = \mathbf{k}_{in} - \mathbf{k}_{sc}$ при зеркальном отражении имеет только одну ненулевую компоненту $q_z = 2k_0 \sin \alpha$, где α – угол скольжения в плоскости нормальной к поверхности. Значение угла полного внешнего отражения для поверхности воды α_c ($q_c = 2k_0 \sin \alpha_c$) фиксируется объемной электронной концентрацией в ней $\rho_w \approx 0.333$ e⁻/Å³, $\alpha_c = \lambda \sqrt{r_e \rho_w / \pi} \approx 0.15^\circ$, где $r_e = 2.814 \times 10^{-5}$ Å – классический радиус электрона.

Программное обеспечение дифрактометра позволяет задавать переменный угловой шаг, ширину щели детектора и время экспозиции, что делает возможным оптимизировать измерение быстро спадающего с увеличением α коэффициента отражения R . Для пучка, падающего на образец под углом α , линейные размеры области засветки вдоль луча $\sim 1/\sin \alpha$. Вследствие этого, при $\alpha \sim \alpha_c$ сечение пучка в латеральном направлении Oy , параллельно поверхности образца, оказывается заметно

больше диаметра образца D , что приводит к некорректному определению величины R . Предварительно каждому измерению проводится расчёт корректирующего множителя, соответствующего отношению интегральной интенсивности прямого пучка к интенсивности его доли, попадающей в пределах поверхности образца. Его расчёт аналогичен расчету, приведённому в работе [11].

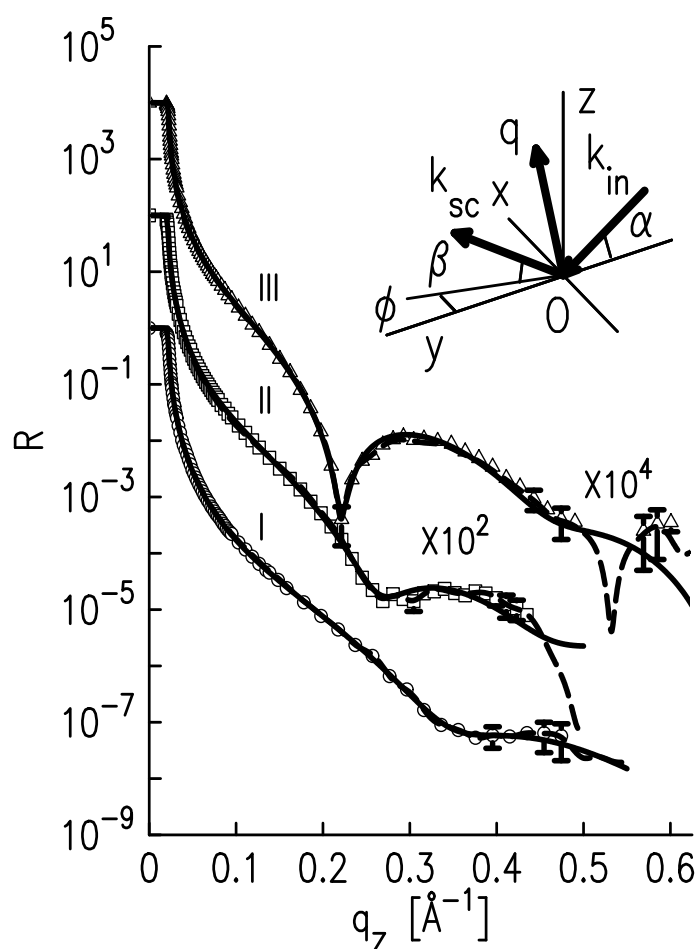


Рис. 3. Зависимость $R(q_z)$ для монослоя DMPS на поверхности воды для различных значений площади на молекулу A : кружки – $\approx 100 \text{ \AA}^2$ (состояние I); квадраты – $\approx 50 \text{ \AA}^2$ (состояние II); треугольники – $\approx 34 \text{ \AA}^2$ (состояние III). Непрерывные линии – двухслойная модель монослоя («модельный» подход), штриховые линии – результат «безмодельного» подхода при восстановлении профилей электронной концентрации. Их различие становится заметным при больших углах скольжения. Вставка: кинематика рассеяния описана в системе координат, в которой плоскость xu совпадает с границей между монослоем и водой, ось Ox перпендикулярна к направлению луча, а ось Oz направлена по нормали к поверхности противоположно силе тяжести

На рис. 3 показана измеренная в трех независимых опытах зависимость $R(q_z)$ для монослоя DMPS на поверхности воды при различных значениях площади на молекулу A в окрестности фазового перехода: кружки для $A \approx 100 \text{ \AA}^2$ (состояние I); квадраты – $\approx 50 \text{ \AA}^2$ (состояние II); треугольники – $\approx 34 \text{ \AA}^2$ (состояние III). При $q_z < q_c \approx 0.022 \text{ \AA}^{-1}$ падающий луч испытывает полное внешнее отражение $R \approx 1$. Таким образом, собранные на дифрактометре данные для коэффициента отражения $R(q_z)$ по пространственному разрешению $2\pi/q_z^{\max} \approx 10 \text{ \AA}$ ($q_z^{\max} \approx 0.6 \text{ \AA}^{-1}$ - максимальное значение q_z в эксперименте) сопоставимы с данными, полученным ранее для разнообразных планарных систем с использованием синхротронного излучения [12-18].

В эксперименте усреднение информации о структуре поверхности происходит по большой площади засветки $A_0 \sim 0.5 \text{ см}^2$, поэтому строение приповерхностного слоя образцов можно рассматривать в приближении идеальной слоисто-неоднородной структуры [19]. Восстановление профиля электронной концентрации поперек поверхности, $\rho(z)$, по данным рефлектометрии проведено с привлечением двух разных подходов.

Первый способ основан на использовании качественных моделей с минимальным количеством подгоночных параметров, но при этом привлекается априорная информация о молекулярной структуре липидной пленки [17, 18]. Для простоты, в дальнейшем этот подход мы называем «модельным». В борновском приближении искаженных волн ("Distorted wave Born approximation" - DWBA) коэффициент отражения от плоской поверхности имеет вид [20]:

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

где $q'_z = \sqrt{q_z^2 - q_c^2}$. Таким образом, задача интерпретации данных рефлектометрии сводится к нахождению некоторой комплексной функции структурного фактора $\Phi(q)$, которая в общем случае имеет следующий вид:

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

где усреднение градиента электронной концентрации происходит по площади A_0 .

В рассматриваемом случае, например, чтобы добиться хорошего согласия модельных кривых с экспериментом, приповерхностную структуру достаточно разбить на 2 слоя. В соответствии со структурой молекулы DMPS, первый слой толщиной L_1 и с электронной плотностью ρ_1 образован полярными группами фосфатидилсерина, а второй слой толщиной L_2 и плотностью ρ_2 - алифатическими хвостами $-C_{14}H_{27}$. Далее, модельный профиль, $\rho(z)$, для монослоя строится на основе функции ошибок, $erf(x)$, в предположении, что все границы между слоями и объемными фазами имеют одинаковую ширину σ_0 [21]

$$\rho(z) = \frac{1}{2} \rho_0 + \frac{1}{2} \sum_{j=0}^2 (\rho_{j+1} - \rho_j) erf\left(\frac{l_j}{\sigma_0 \sqrt{2}}\right),$$

$$l_j(z) = z + \sum_{n=0}^j L_n, \quad (3)$$

$$erf(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-y^2} dy;$$

где $\rho_0 \equiv \rho_w$ - электронная концентрация в объеме воды, $L_0 \equiv 0$ - положение границы вода - слой полярных групп ($z=0$), $\rho_3 \approx 0$ - электронная концентрация в воздухе.

Таким образом, имеем [22]:

$$R(q_z) \approx \frac{\exp(-\sigma_0^2 q_z q'_z)}{\rho_w^2} \left| \frac{q_z - q'_z}{q_z + q'_z} \right|^2 \left| \sum_{j=0}^2 (\rho_{j+1} - \rho_j) \exp\left(-i\sqrt{q_z q'_z} \sum_{n=0}^j L_n\right) \right|^2 \quad (4)$$

При расчетах величина параметра, σ_0 , фиксировалась равной значению «капиллярной ширины» $\sigma_0^2 = (k_B T / 2\pi\gamma(A)) \ln(Q_{\max} / Q_{\min})$ (где k_B - постоянная Больцмана), которая задаётся коротковолновым пределом в спектре капиллярных волн $Q_{\max} = 2\pi/a$ ($a \approx 10 \text{ \AA}$ - по порядку величины межмолекулярное расстояние) и угловым разрешением детектора $Q_{\min} = q_z^{\max} \Delta\beta$. Этот способ учета вклада капиллярных волн в наблюдаемую структуру на поверхности жидкости предложен в [23-26] и оказался полезным при интерпретации многочисленных экспериментов [12, 14, 23-28]. Отметим, что если использовать величину σ_0 в качестве подгоночного параметра, то его значения для исследуемых систем лежат в интервале 2.8 – 3.1 \AA и в пределах погрешности совпадают с расчетными значениями $\sigma_0 = 2.7 - 3.0 \text{ \AA}$ по зависимости $\gamma(A)$, которая также определяет диаграмму сжатия $\Pi(A)$.

Второй подход основан на экстраполяции асимптотического поведения кривой отражения $R(q_z)$ в область больших q_z , и при этом не используется никаких априорных предположений о поперечной структуре поверхности [29, 30]. Этот подход условно можно назвать «безмодельным». В рамках этого подхода предполагается, что распределение поляризуемости по глубине $\delta(z)$ содержит особые точки z_j , в которых значение поляризуемости (либо её n -я производной) меняется скачкообразно $\Delta^n(z_j) = d^n \delta(z_j + 0) / dz^n - d^n \delta(z_j - 0) / dz^n$. Сочетание таких особых точек однозначно определяет асимптотическое поведение амплитудного коэффициента отражения $r(q_z)$ при $q_z \rightarrow \infty$ ($R(q_z) \equiv |r(q_z)|^2$). Расположение точек z_j можно определить из экспериментальной кривой $R(q_z)$, измеренной в ограниченном интервале значений q_z , с помощью процедуры модифицированного Фурье-преобразования, которая подробно изложена в [29]. В общем случае существует всего два физически разумных

распределения $\delta(z)$, удовлетворяющих одновременно экспериментальным значениям коэффициента отражения $R(q_z)$ и заданному сочетанию особых точек $\Delta^n(z_j)$ в профиле поляризуемости, и различающихся только порядком их расположения относительно подложки.

Для каждой из измеренных кривых была найдена пара точек с взаимно противоположными знаками скачков в первой производной: первая - соответствует границе раздела воздух - образец, а вторая – предположительно, максимуму электронной концентрации вблизи глицеринового основания полярной группы. Расстояние между ними составило от 16.4, 23.5 и 25.4 Å для плёнок со значением A 100, 50 и 34 Å², соответственно. Искомый профиль, $\delta(z)$, был представлен в виде ступенчатой функции с фиксированным положением особых точек $\Delta^1(z_j)$ и разбит на большое число M тонких слоёв ($M \sim 100$) $\delta(z) = \sum_{m=1}^M \Delta(z_m) H(z - z_m)$, где $H(z)$ - функция Хэвисайда [31]. Расчет кривой отражения, $R(q_z, \delta(z_1) \dots \delta(z_M))$ от такой структуры проводился согласно рекуррентным соотношениям Парратта [32]. Таким образом, профиль поляризуемости был найден путём численной оптимизации невязки между экспериментальной кривой отражения и расчётной, регуляризованной условием гладкости искомого профиля и положением особых точек, с использованием стандартного алгоритма Левенберга-Марквардта [16, 33].

Наконец, для слабопоглощающих веществ в жёсткой области спектра рентгеновского излучения из восстановленного распределения поляризуемости по глубине $\delta(z)$ можно рассчитать профиль электронной концентрации $\rho(z) \equiv \pi \delta(z) / (r_0 \lambda^2)$ [34].

Анализ полученных данных подтверждает, что молекулы DMPS располагаются на поверхности воды в виде монослоя. На рис. 4 непрерывными линиями показаны

профили $\rho(z)$ для двухслойной модели (3), а штриховыми линиями изображены профили, восстановленные в рамках безмодельного подхода. Соответствующие этим кривым зависимости $R(q_z)$ представлены на рис. 3 непрерывными и штриховыми линиями. На нем различие двух подходов становится заметным при больших углах скольжения, при которых существенно возрастает экспериментальная погрешность. Измеренные и рассчитанные кривые, представленные на рис. 3 и 4, в первом приближении демонстрируют достаточно хорошее согласие между двумя подходами в описании результатов эксперимента.

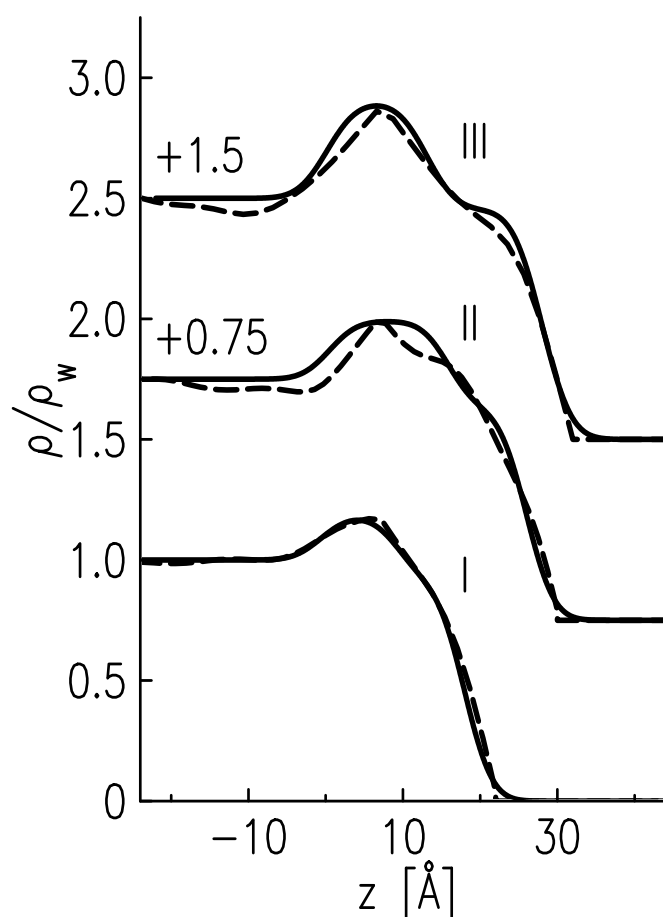


Рис. 4. Профили распределения, $\rho(z)$ нормированные на электронную концентрацию в воде при нормальных условиях, $\rho_w(z) = 0.333 \text{ e}^-/\text{\AA}^3$: непрерывные линии – для «модельного» подхода (см. (3)), штриховые линии – «безмодельного». Цифры у кривых указывают их смещение вдоль ординаты для удобства сравнения. Положение границы полярной области молекул липида с водой выбрано при $z=0$. Кривая I соответствует состоянию «расширенной жидкости» $A \approx 100 \text{ \AA}^2$, II - равновесная смесь доменов жидкой и твердой фаз $A \approx 50 \text{ \AA}^2$ и III - жидкий кристалл с $A \approx 34 \text{ \AA}^2$

Модельный профиль характеризуется четырьмя подгоночными параметрами (см. Таблица 1). При возрастании поверхностного давления электронная концентрация в слое полярных голов фосфатидилсерина, находящегося непосредственно в контакте с водой, увеличивается с $\rho_1 \approx 1.2\rho_w$ в состоянии I до $\rho_1 \approx 1.4\rho_w$ в состоянии III. В тоже время, значение его толщины L_1 практически не меняется и находится для всех состояний в интервале 10–12 Å. Напротив, толщина слоя образованного углеводородными цепями заметно увеличивается с $L_2 \approx 10$ Å (состояние I) до $L_2 \approx 15$ Å (состояние III). Одновременно возрастает и концентрация электронов с $\rho_2 \approx 0.9\rho_w$ в жидкой фазе до $\rho_2 \approx 0.95\rho_w$ в твердой фазе. Полная толщина L монослоя в состоянии I составляет 20 ± 3 Å, а в состоянии III $L = 28 \pm 2$ Å. В промежуточном состоянии II толщина монослоя $L = 25 \pm 2$ Å.

Для безмодельного описания структур достаточно использовать только особые точки 1-го порядка, так как все экспериментальные кривые спадают приблизительно по закону $R(q_z) \sim q_z^{-6}$. Отклонение от строгого степенного закона, по-видимому, обусловлено рассеянием на шероховатостях поверхности образца с эффективной высотой σ . Ее величину в рамках формализма Неве-Кроса можно оценить из требований к асимптотике $R(q_z)q_z^6 \exp(\sigma^2 q_z \sqrt{q_z^2 - 4k_0^2 \delta_+}) \rightarrow const$ при $q_z \rightarrow \infty$, где $\delta_+ \approx 7.5 \times 10^{-6}$ - поляризуемость воды для $\lambda \approx 1.54$ Å [19, 35]. Таким образом, получаем $\sigma \approx 3.2$ Å, что хорошо согласуется с расчетной величиной $\sigma_0 \approx 3$ Å, приведенной выше. Отметим, что оценка интегральных параметров шероховатости по одним лишь кривым рефлектометрии является крайне неоднозначной [36, 37]. Для более корректного анализа статистических свойств шероховатости исследуемого образца необходимо дополнительно привлекать угловые распределения диффузного рассеяния, например, в рамках процедуры, изложенной в [30].

Далее, зная величину, $\rho(z)$ можно оценить удельную поверхностную плотность Φ структурных единиц (ионов, молекул, химических групп) в слое толщиной $d = z' - z''$

$$\Phi = \frac{1}{\Gamma} \int_{z'}^{z''} \rho(z) dz, \quad (5)$$

где Γ - число электронов в структурной единице. Например, для калиевой соли $C_{34}H_{65}NO_{10}PK$ число $\Gamma = 390$, для одной цепи $-C_{14}H_{27}$ $\Gamma_i/2 = 111$, а для фосфатидилсериновой группы $\Gamma_h = 168$.

Для состояния I толщина $L \approx 20 \text{ \AA}$ и расстояние между особыми точками в профиле $\rho(z)$ безмодельного подхода $\approx 16 \text{ \AA}$ заметно меньше длины молекулы липида $\approx 27 \text{ \AA}$. Это свидетельствует о том, что углеводородные цепи молекул в жидкой фазе липида ($A \approx 100 \text{ \AA}^2$) неупорядочены относительно нормали к поверхности.

Для состояния III ($A \approx 34 \text{ \AA}^2$) толщина второго слоя $L_2 \approx 15 \text{ \AA}$ примерно соответствует расчётной длине углеводородных хвостов $-C_{14}H_{27}$ у молекулы DMPS 16.7 \AA ($\approx 12 \times 1.27 \text{ \AA}$ (C-C) + 1.5 \AA (-CH₃)). Концентрация, $\rho_2 \approx 0.95 \rho_w$ и площадь на углеводородную цепь $A/2 \approx 17 \text{ \AA}^2$ соответствуют одной из кристаллических фаз длинноцепочечных предельных углеводородов [38]. То есть, можно оценить угол отклонения оси молекулярных хвостов от нормали к поверхности $\theta = \arccos(15/16.7) \approx 26^\circ$ ($\theta = 26 \pm 8^\circ$).

Отметим, что для всех состояний наблюдается следующий дисбаланс в количестве электронов на структурный элемент. Например, в состоянии III число электронов, приходящихся на полярную часть молекулы DMPS, составляет $\rho_1 A l_1 \approx 206e$, а на алифатические хвосты $\rho_2 A l_2 \approx 161e$. Избыточная электронная концентрация в слое из головных частей составляет $A(\rho_1 l_1 - \rho_2 l_2 \Gamma_h / \Gamma_i) \approx 84e$ на одну

молекулу DMPS, что эквивалентно примерно восьми молекулам H₂O. Такая степень гидратации сообщалась ранее для гелевой фазы фосфолипидов в работе [5]. Если принять плотность электронов в качестве грубой оценки степени гидратации, то при увеличении площади на молекулу до $A \approx 100 \text{ \AA}^2$ она возрастает более чем вдвое и составляет около 20 молекул H₂O на полярную группу.

Таблица 1. Параметры профилей электронной концентрации $\rho(z)$ (см. рис. 4) жидкокристаллической пленки DMPS при $A \approx 34 \text{ \AA}^2$: полная толщина липидного слоя; L_1 - толщина слоя полярных групп с электронной концентрацией ρ_1 , L_2 - толщина слоя углеводородных хвостов с концентрацией ρ_2 ; σ_0 - ширина межслойных границ липидного слоя. Электронная концентрация в воде при нормальных условиях $\rho_w(z) = 0.333 \text{ e/\AA}^3$.

подход	$L (\text{\AA})$	$L_1 (\text{\AA})$	ρ_1/ρ_w	$L_2 (\text{\AA})$	ρ_2/ρ_w	$\sigma_0 (\text{\AA})$
«модельный»	28 ± 2	13 ± 1	1.4 ± 0.1	15 ± 1	0.95 ± 0.2	3.0
«безмодельный»	~30	~13	~1.3	~17	~0.95	~3.2

Согласно данным рентгеновской рефлектометрии (рис.3), с увеличением поверхностного давления в монослое DMPS становится заметным фазовый переход из расширенной двумерной жидкости в твердое состояние. Основной, и достаточно неожиданный результат анализа экспериментальных данных, состоит в том, что выбранная нами двухслойная модель структуры («модельный» подход) в хорошем приближении описывает профиль электронной концентрации, предсказанный в рамках «безмодельного» подхода. Этот факт иллюстрируется параметрами гелевой фазы, установленными в рамках этих подходов и приведенными на рис. 4 и в Таблице 1. Оба метода анализа экспериментальных кривых дают достаточно достоверное представление о поведении липидного монослоя при изменении латерального давления. При этом модельный подход позволяет выделить важные структурные его

компоненты, в то время как безмодельный подход позволяет независимо подтвердить корректность найденного распределения электронной концентрации и тем самым сократить неоднозначность в интерпретации структурной модели.

Таким образом, нами исследована молекулярная структура монослоя димиристоил фосфатидилсерина (DMPS) на водной подложке в разных фазовых состояниях по данным рентгеновской рефлектометрии. Согласно проведенному анализу кривых отражения с повышением поверхностного давления в монослое происходит переход из состояния двумерной расширенной жидкости в твердое гелевое состояние, сопровождающийся упорядочением углеводородных хвостов $-C_{14}H_{27}$ тогда, как толщина полярной области DMPS остается практически неизменной. В жидкой фазе толщина монослоя составляет $20 \pm 3 \text{ \AA}$, а в твердой $28 \pm 2 \text{ \AA}$. При этом в гелевой фазе угол отклонения оси хвостов от нормали к поверхности $26^\circ \pm 8^\circ$. При двумерном сжатии монослоя также происходит не менее чем двукратное уменьшение степени гидратации полярных групп липида. Важно отметить, что уменьшение количества молекул воды, ассоциированной с полярными головками липидов, само по себе не может приводить к наблюдаемому в опытах изменению Вольта потенциала в положительную сторону. Судя по данным молекулярной динамики, за положительные изменения этого потенциала ответственны вода и адсорбированные катионы [39]. Вероятнее всего, не изменение количества молекул воды и степени гидратации, а ориентацию их дипольных моментов и адсорбцию катионов следует принимать во внимание для объяснения электростатических эффектов в монослое. Детальные сведения о молекулярных структурах, которые вовлечены в подобные эффекты, можно установить методами молекулярной динамики в сочетании с комплексными экспериментальными исследованиями, включая измерения кривых отражения в широкой области значений площади на молекулу в монослое. Принципиальная

возможность количественного анализа данных рефлектометрии рентгеновского излучения доказана нами уже на нескольких примерах, приведенных выше.

Работа поддержана частично (Ермаков Ю.А.) грантом РФФИ 16-4-00556а

Список литературы

- [1] Л. Д. Ландау, Е. М. Лифшиц, *Курс теоретической физики т. V, Статистическая физика Ч. 1*, М.: Наука, Физматлит 1995.
- [2] V. M. Kaganer, H. Möhwald, and P. Dutta, *Rev. Mod. Phys.* 71, 779 (1999).
- [3] Ю. А. Ермаков, *Биол. мембраны* 28, 408 (2011).
- [4] Y. A. Ermakov, K. Kamaraju, K. Sengupta, S. Sukharev, *Biophys J.* 98, 1018 (2010).
- [5] H. Mohwald, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 41, 441 (1990).
- [6] H. Binder, *Applied Spectroscopy Reviews* 38, 15 (2003).
- [7] А. М. Тихонов, *Письма в ЖЭТФ* 92, 394 (2010).
- [8] В. Е. Асадчиков, В. В. Волков, Ю. О. Волков, К. А. Дембо, И. В. Кожевников, Б. С. Рошин, Д. А. Фролов, А. М. Тихонов, *Письма в ЖЭТФ* 94, 625 (2011).
- [9] H. M. McConnell, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 42, 171 (1991).
- [10] V. E. Asadchikov, V. G. Babak, A. V. Buzmakov, Yu. P. Dorokhin, I. P. Glagolev, Yu. V. Zanevskii, V. N. Zryuev, Yu. S. Krivonosov, V. F. Mamich, L. A. Moseiko, N. I. Moseiko, B. V. Mchedlishvili, S. V. Savel'ev, R. A. Senin, L. P. Smykov, et al., *Instrum. Exp. Tech.* 48, 364 (2005).
- [11] A. Gibaud, G. Vignaud, S. K. Sinha, *Acta Cryst.* A49, 642 (1993).
- [12] M. L. Schlossman, M. Li, D. M. Mitrinovic, A. M. Tikhonov, *High Performance Polymers* 12, 551 (2000).
- [13] L. Hanley, Y. Choi, E. R. Fuoco, F. A. Akin, M. B. J. Wijesundara, M. Li, A. M. Tikhonov, M. L. Schlossman, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 203, 116 (2003).

- [14] A. M. Tikhonov, J. Phys. Chem. C 111, 930 (2007).
- [15] A. M. Tikhonov, J. Chem. Phys. 130, 024512 (2009).
- [16] А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Письма в ЖЭТФ 102, 536 (2015).
- [17] A. M. Tikhonov, J. Phys. Chem. B 110, 2746 (2006).
- [18] A. M. Tikhonov, M. L. Schlossman, J. Phys.: Condens. Matter 19, 375101 (2007).
- [19] А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Б. С. Роцин, И. С. Монахов, И. С. Смирнов, Письма в ЖЭТФ 104, 880 (2016).
- [20] S. K. Sinha, E. B. Sirota, S. Garoff, and H. B. Stanley, Phys. Rev. B 38, 2297 (1988).
- [21] F. P. Buff, R. A. Lovett, F. H. Stillinger, Phys. Rev. Lett. 15, 621 (1965).
- [22] J. Daillant, L. Bosio, B. Harzallah, and J. J. Benattar, J. Phys. II 1, 149 (1991).
- [23] J. D. Weeks, J. Chem. Phys. 67, 3106 (1977).
- [24] A. Braslau, M. Deutsch, P. S. Pershan, A. H. Weiss, J. Als-Nielsen, J. Bohr, Phys. Rev. Lett. 54, 114 (1985).
- [25] A. Braslau, P. S. Pershan, G. Swislow, B. M. Ocko, and J. Als-Nielsen, Phys. Rev. A 38, 2457 (1988).
- [26] D. K. Schwartz, M. L. Schlossman, E. H. Kawamoto, G. J. Kellogg, P. S. Pershan, B. M. Ocko, Phys. Rev. A, 41, 5687 (1990).
- [27] D. M. Mitrinovic, A. M. Tikhonov, M. Li, Z. Huang, and M. L. Schlossman, Phys. Rev. Lett. 85, 582 (2000).
- [28] A. M. Tikhonov, J. Chem. Phys. 124, 164704 (2006).
- [29] I. V. Kozhevnikov, Nucl. Instrum. Methods Phys. Res A 508, 519 (2003).
- [30] I. V. Kozhevnikov and L. Peverini and E. Ziegler, Phys. Rev. B 85, 125439 (2012).
- [21] R. Kanwal, *Generalized Functions: Theory and Technique*, 2nd ed., Birkhauser, 1998.
- [32] L. G. Parratt, Phys. Rev. 95, 359 (1954).
- [33] J. Nocedal, S. Wright, *Numerical Optimization*, 2nd ed., Springer, 2006.

- [34] B. L. Henke, E. M. Gullikson, J. C. Davis, *Atomic Data and Nuclear Data Tables* 54, 181 (1993).
- [35] L. Nevot, P. Croce, *Rev. Phys. Appl.* 15, 761 (1980).
- [36] O. Gilev, V. Asadchikov, A. Duparré, N. Havronin, I. Kozhevnikov, Yu. Krivonosov, S. Kuznetsov, V. Mikerov, V. Ostashev, V. Tukarev, *Proc. SPIE* 2000, 4099:279-289.
- [37] V.E. Asadchikov, I.V. Kozhevnikov, Yu.S. Krivonosov, R. Mercier, T.H. Metzger, C. Morawe, E. Ziegler, *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. A* 530, 575 (2004).
- [38] D. M. Small, *The Physical Chemistry of Lipids*, Plenum Press, New York, 1986.
- [39] А. М. Нестеренко, Ю. А. Ермаков, *Биол. Мембраны* 29, 374 (2012).