

# РЕНТГЕНОВСКАЯ РЕФЛЕКТОМЕТРИЯ МОНОСЛОЕВ DMPS НА ВОДНОЙ ПОДЛОЖКЕ

А. М. Тихонов<sup>а\*</sup>, В. Е. Асадчиков<sup>б</sup>, Ю. О. Волков<sup>б</sup>, Б. С. Роцин<sup>б</sup>, Ю. А. Ермаков<sup>с</sup>

<sup>а</sup> Институт физических проблем им. П. Л. Капицы Российской академии наук  
119334, Москва, Россия

<sup>б</sup> Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» Российской академии наук  
119333, Москва, Россия

<sup>с</sup> Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина Российской академии наук  
119071, Москва, Россия

Поступила в редакцию 10 августа 2017 г.

С помощью рентгеновской рефлектометрии излучения с энергией фотонов около 8 кэВ исследована молекулярная структура монослоев димиристоил фосфатидилсерина (DMPS) на водной подложке в разных фазовых состояниях. Согласно экспериментальным данным, с повышением поверхностного давления в монослое происходит переход из состояния двумерной расширенной жидкости в твердое гелевое состояние (жидкий кристалл), сопровождающийся упорядочением углеводородных хвостов молекулы DMPS. 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 молекулярных хвостов от нормали к поверхности равен  $26^\circ \pm 8^\circ$ . 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.

DOI: 10.7868/S0044451017120082

Фосфолипиды на водной поверхности образуют нерастворимый мономолекулярный слой, пленку, которая представляет собой двумерную термодинамическую систему с параметрами ( $\Pi, T$ ). 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).

При нормальных условиях с повышением поверхностного давления  $\Pi$  при 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 оставляет открытым вопрос о молекулярной

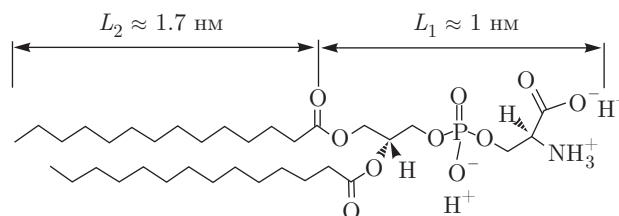


Рис. 1. Молекулярная структура димиристоил фосфатидилсерина (DMPS)

природе электростатических эффектов в монослоях. Существенную помощь в решении этого вопроса можно ожидать от использования прямых методов регистрации структурных изменений в монослое. В частности, рассеяние рентгеновского излучения было успешно использовано ранее в работах [2, 5] для изучения поведения монослоев из цвитерионных липидов. В данной работе мы предлагаем использовать подобную технику для изучения монослойных структур анионного липида DMPS с явно выражен-

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

ным 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 примерно 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 pH ≈ 7), помещенной 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). Здесь 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].

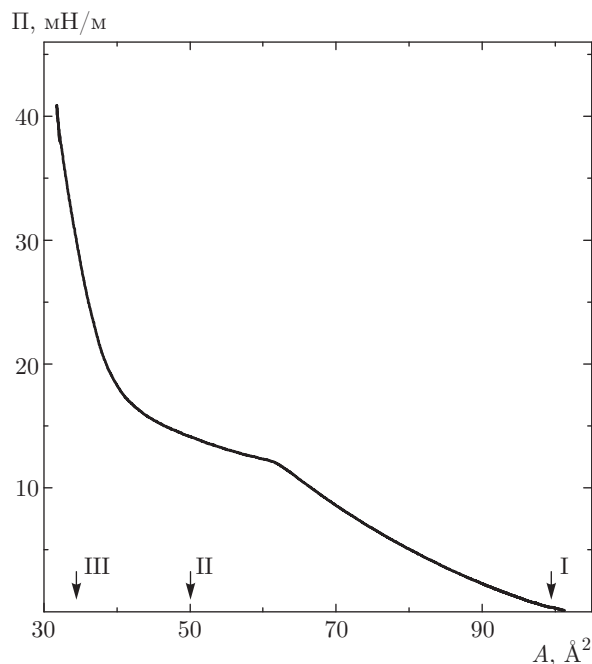
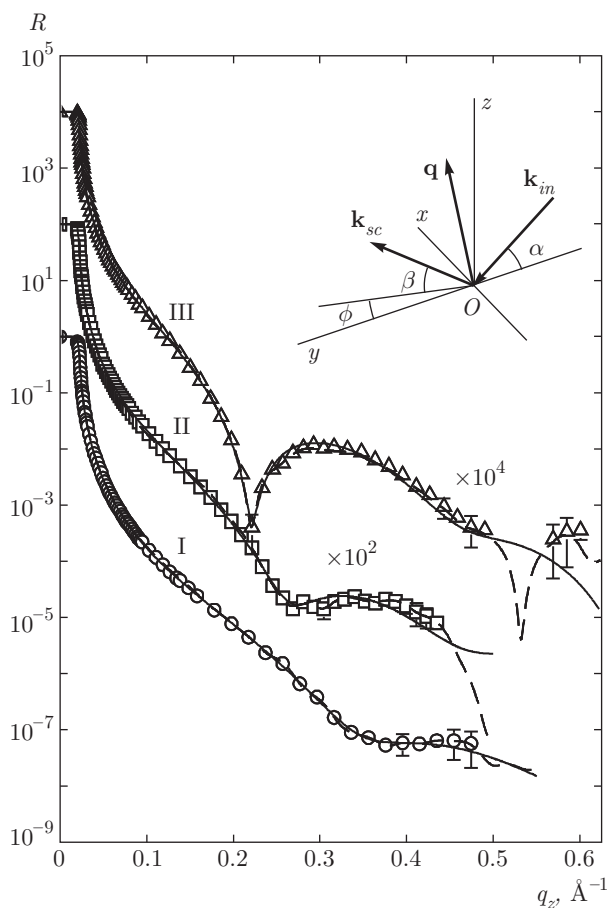


Рис. 2. Зависимость поверхностного давления от площади на молекулу, измеренная в работе [4] для монослоя DMPS на поверхности раствора 10 mM KCl и pH ≈ 7. Стрелками указаны выбранные для рентгеновской рефлектометрии значения площади в областях сжатия монослоя, соответствующих «расширенной двумерной жидкости»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

Поперечное строение липидного монослоя исследовалось 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-монохроматора однократного отражения Si (111) из спектра излучения трубки выбирается линия  $K_{\alpha 1}$  (энергия фотонов  $E = 8048$  эВ, длина волны  $\lambda = 1.5405 \pm 0.0001 \text{ \AA}$ ). Вертикальный размер пучка приблизительно равен 0.1 мм, а горизонтальный — 8 мм. Трехщелевая коллимационная система формирует зондирующий рентгеновский пучок, имеющий угловую ширину в плоскости падения около  $10^{-4}$  рад. Угловое разрешение точечного детектора  $2\Delta\beta \approx 1.7 \cdot 10^{-3}$  рад определяется входной щелью с зазором 1 мм на расстоянии примерно 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 векторы с амплитудой  $k_0 = 2\pi/\lambda$  соответственно падающего и рассе-



**Рис. 3.** Зависимость  $R(q_z)$  для монослоя DMPS на поверхности воды для различных значений площади на молекулу  $A$ : кружки для  $A \approx 100 \text{ \AA}^2$  (состояние I), квадраты для  $A \approx 50 \text{ \AA}^2$  (состояние II), треугольники для  $A \approx 34 \text{ \AA}^2$  (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  $xy$  совпадает с границей между монослоем и водой, ось  $x$  перпендикулярна направлению луча, а ось  $z$  направлена по нормали к поверхности противоположно силе тяжести

янного лучей. Удобно ввести систему координат, в которой начало  $O$  лежит в центре области засветки, плоскость  $xy$  совпадает с границей воды, ось  $x$  перпендикулярна направлению луча, а ось  $z$  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  $\alpha$  — угол скольжения в плоскости, нормальной к поверхности. Значение угла полного внешнего от-

ражения для поверхности воды  $\alpha_c$  ( $q_c = 2k_0 \sin \alpha_c$ ) фиксируется объемной электронной концентрацией в ней  $\rho_w \approx 0.333e^-/\text{\AA}^3$ ,  $\alpha_c = \lambda \sqrt{r_e \rho_w / \pi} \approx 0.15^\circ$ , где  $r_e = 2.814 \cdot 10^{-5} \text{ \AA}$  — классический радиус электрона.

Программное обеспечение дифрактометра позволяет задавать переменный угловой шаг, ширину щели детектора и время экспозиции, что делает возможным оптимизировать измерение быстро убывающего с увеличением  $\alpha$  коэффициента отражения  $R$ . Для пучка, падающего на образец под углом  $\alpha$ , линейные размеры области засветки вдоль луча приблизительно равны  $1/\sin \alpha$ . Вследствие этого, при  $\alpha \approx \alpha_c$  сечение пучка в латеральном направлении  $y$  (параллельно поверхности образца) оказывается заметно больше диаметра образца  $D$ , что приводит к некорректному определению величины  $R$ . Перед каждым измерением проводится расчет корректирующего множителя, соответствующего отношению интегральной интенсивности прямого пучка к интенсивности его доли, попадающей в пределы поверхности образца. Расчет такого множителя аналогичен расчету, приведенному в работе [11].

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: для  $A \approx 100 \text{ \AA}^2$  (состояние I),  $A \approx 50 \text{ \AA}^2$  (состояние II),  $A \approx 34 \text{ \AA}^2$  (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  $A_0 \approx 0.5 \text{ см}^2$ , 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 с привлечением априорной информации о молекулярной структуре липидной пленки [17, 18]. Для простоты в дальнейшем этот подход мы называем «модельным». В борновском

приближении искаженных волн (DWBA, distorted wave Born approximation) коэффициент отражения от плоской поверхности имеет вид [20]

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

где  $q_z^t = \sqrt{q_z^2 - q_c^2}$ . 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 проводится по площади  $A_0$ .

В рассматриваемом случае, например, чтобы добиться хорошего согласия модельных кривых с данными эксперимента, приповерхностную структуру достаточно разбить на два слоя. В соответствии со структурой молекулы DMPS, первый слой толщиной  $L_1$  и электронной плотностью  $\rho_1$  образован полярными группами фосфатидилсерина, а второй слой толщиной  $L_2$  и плотностью  $\rho_2$  — алифатическими хвостами  $-C_{14}H_{27}$ . Далее, модельный профиль  $\rho(z)$  для монослоя строится на основе функции ошибок  $\text{erf}(x)$  в предположении, что все границы между слоями и объемными фазами имеют одинаковую ширину  $\sigma_0$  [21]:

$$\begin{aligned} \rho(z) &= \frac{1}{2}\rho_0 + \frac{1}{2} \sum_{j=0}^2 (\rho_{j+1} - \rho_j) \text{erf} \left( \frac{l_j}{\sigma_0 \sqrt{2}} \right), \\ l_j(z) &= z + \sum_{n=0}^j L_n, \\ \text{erf}(x) &= \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x \exp(-y^2) dy, \end{aligned} \quad (3)$$

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]

$$\begin{aligned} R(q_z) &\approx \frac{\exp(-\sigma_0^2 q_z q_z^t)}{\rho_w^2} \left| \frac{q_z - q_z^t}{q_z + q_z^t} \right|^2 \times \\ &\times \left| \sum_{j=0}^2 (\rho_{j+1} - \rho_j) \exp \left( -i \sqrt{q_z q_z^t} \sum_{n=0}^j L_n \right) \right|^2. \end{aligned} \quad (4)$$

При расчетах величина параметра  $\sigma_0$  фиксировалась равной значению «капиллярной ширины»

$$\sigma_0^2 = \frac{k_B T}{2\pi\gamma(A)} \ln \left( \frac{Q_{max}}{Q_{min}} \right)$$

(где  $k_B$  — постоянная Больцмана), которая задается 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 работах [23–26] и оказался полезным при интерпретации многочисленных экспериментов [12, 14, 23–28]. Отметим, что если использовать величину  $\sigma_0$  в качестве подгоночного параметра, то значения последнего для исследуемых систем лежат в интервале 2.8–3.1  $\text{\AA}$  и в пределах погрешности совпадают с расчетными значениями  $\sigma_0 = 2.7\text{--}3.0 \text{ \AA}$  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  $q_z$ , 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 ее  $n$ -й производной) меняется скачкообразно:

$$\Delta^n(z_j) = \frac{d^n \delta(z_j + 0)}{dz^n} - \frac{d^n \delta(z_j - 0)}{dz^n}.$$

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 работе [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 соот-

ветствует границе раздела воздух–образец, а вторая — предположительно максимуму электронной концентрации вблизи глициринового основания полярной группы. Расстояние между ними составило от 16.4, 23.5 и 25.4 Å для пленок со значением  $A$ , равным 100, 50 и 34 Å<sup>2</sup> 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  $M$  ( $M \approx 100$ ) тонких слоев:  $\delta(z) = \sum_{m=1}^M \Delta(z_m)H(z - z_i)$ , где  $H(z)$  — функция Хевисайда [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 путем численной оптимизации невязки между экспериментальной кривой отражения и расчетной кривой, регуляризованной положением особых точек и условием гладкости искомого профиля, с использованием стандартного алгоритма Левенберга – Марквардта [16, 33].

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

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

Модельный профиль характеризуется четырьмя подгоночными параметрами (см. таблицу). При возрастании поверхностного давления электронная концентрация в слое полярных голов фосфатидилсерина, находящегося непосредственно в контакте с водой, увеличивается от  $\rho_1 \approx 1.2\rho_w$  в состоянии I до  $\rho_1 \approx 1.4\rho_w$  в состоянии III. В то же 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 от  $L_2 \approx 10$  Å (состо-

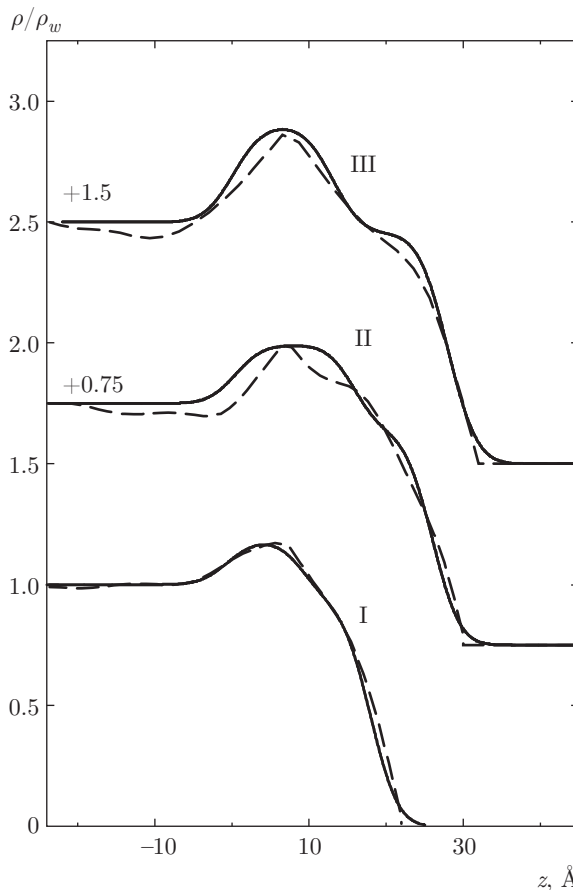


Рис. 4. Профили распределения, нормированные на электронную концентрацию в воде при нормальных условиях (в ед.  $e^-/\text{Å}^3$ ): непрерывные линии — для «модельного» подхода (см. (3)), штриховые линии — для «безмодельного». Числа у кривых указывают их смещение вдоль оси ординат для лучшей наглядности представления результатов

яние I) до  $L_2 \approx 15$  Å (состояние III). Одновременно возрастает и концентрация электронов от  $\rho_2 \approx 0.9\rho_w$  в жидкой фазе до  $\rho_2 \approx 0.95\rho_w$  в твердой фазе. Полная толщина  $L$  монослоя в состоянии I составляет  $L = 20 \pm 3$  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 первого порядка, так как все экспериментальные кривые имеют асимптотику  $R(q_z) \propto q_z^{-6}$ . Отклонение от строгого степенного закона, по-видимому, обусловлено рассеянием на шероховатостях поверхности образца с эффективной высотой  $\sigma$ . Ее величину в рамках формализма Нево – Кроса можно оценить из требований к асимптотике

$$R(q_z)q_z^6 \exp\left(\sigma^2 q_z \sqrt{q_z^2 - 4k_0^2 \delta_+}\right) \rightarrow \text{const}$$

**Таблица.** Параметры профилей электронной концентрации  $\rho(z)$  (см. рис. 4) жидкокристаллической пленки DMPS при  $A \approx 34 \text{ \AA}^2$ : полная толщина  $L$  липидного слоя, толщина  $L_1$  слоя полярных групп с электронной концентрацией  $\rho_1$ , толщина  $L_2$  слоя углеводородных хвостов с концентрацией  $\rho_2$ , ширина  $\sigma_0$  межслойных границ липидного слоя. Электронная концентрация в воде при нормальных условиях  $\rho_w(z) = 0.333e^-/\text{\AA}^3$

Подход	$L, \text{ \AA}$	$L_1, \text{ \AA}$	$\rho_1/\rho_w$	$L_2, \text{ \AA}$	$\rho_2/\rho_w$	$\sigma_0, \text{ \AA}$
«Модельный»	$28 \pm 2$	$13 \pm 1$	$1.4 \pm 0.1$	$15 \pm 1$	$0.95 \pm 0.2$	3.0
«Безмодельный»	$\approx 30$	$\approx 13$	$\approx 1.3$	$\approx 17$	$\approx 0.95$	$\approx 3.2$

при  $q_z \rightarrow \infty$ , где  $\delta_+ \approx 7.5 \cdot 10^{-6}$  — поляризуемость воды для  $\lambda \approx 1.54 \text{ \AA}$  [19, 35]. Таким образом, получаем  $\sigma \approx 3.2 \text{ \AA}$ , что хорошо согласуется с расчетной величиной  $\sigma_0 \approx 3 \text{ \AA}$ , 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 работе [30].

Далее, зная величину  $\rho(z)$ , можно оценить удельную поверхностную плотность  $\Phi$  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  $\Gamma$  — число электронов в структурной единице. Например, для калиевой соли  $C_{34}H_{65}NO_{10}PK$  число  $\Gamma = 390$ , для одной цепи  $-C_{14}H_{27}$   $\Gamma_t/2 = 111$ , а для фосфатидилсеринового группы  $\Gamma_h = 168$ .

Для состояния I толщина  $L \approx 20 \text{ \AA}$  и расстояние между особыми точками в профиле  $\rho(z)$  безмодельного подхода, приблизительно равное  $16 \text{ \AA}$ , заметно меньше длины молекулы липида, приблизительно равной  $27 \text{ \AA}$ . 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 расчетной длине углеводородных хвостов  $-C_{14}H_{27}$  у молекулы DMPS  $16.7 \text{ \AA}$  ( $\approx 12 \cdot 1.27 \text{ \AA}$  (C-C) +  $1.5 \text{ \AA}$  (-CH<sub>3</sub>)). 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]. Таким образом, 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  $A(\rho_1 l_1 - \rho_2 l_2 \Gamma_h / \Gamma_t) \approx 84e$  на одну молекулу DMPS, что эквивалентно примерно восьми молекулам H<sub>2</sub>O. 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 H<sub>2</sub>O на полярную группу.

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. Оба метода анализа экспериментальных кривых дают достаточно достоверное представление о поведении липидного монослоя при изменении латерального давления. При этом модельный подход позволяет выделить его важные структурные 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, 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 равен  $26^\circ \pm 8^\circ$ . 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.) РФФИ (грант № 16-4-00556а).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Л. Д. Ландау, Е. М. Лифшиц, *Курс теоретической физики*, т. V, *Статистическая физика*, ч. 1, Наука, Москва (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, and S. Sukharev, *Biophys. J.* **98**, 1018 (2010).
5. H. Mohwald, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **41**, 441 (1990).
6. H. Binder, *Appl. Spectrosc. Rev.* **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. Роцин, Д. А. Фролов, А. М. Тихонов, *Письма в ЖЭТФ* **94**, 625 (2011).
9. H. M. McConnell, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **42**, 171 (1991).
10. В. Е. Асадчиков, В. Г. Бабак, А. В. Бузмаков и др., *ПТЭ* № 3, 99 (2005) [V. E. Asadchikov, V. G. Babak, A. V. Buzmakov et al., *Instr. Exp. Tech.* **48**, 364 (2005)].
11. A. Gibaud, G. Vignaud, and S. K. Sinha, *Acta Cryst. A* **49**, 642 (1993).
12. M. L. Schlossman, M. Li, D. M. Mitrinovic, and 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, and M. L. Schlossman, *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B* **203**, 116 (2003).
14. А. М. Тихонов, *J. Phys. Chem. C* **111**, 930 (2007).
15. А. М. Тихонов, *J. Chem. Phys.* **130**, 024512 (2009).
16. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, *Письма в ЖЭТФ* **102**, 536 (2015).
17. А. М. Тихонов, *J. Phys. Chem. B* **110**, 2746 (2006).
18. А. М. Тихонов and 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, and 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, and 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, and 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. Instr. Meth. Phys. Res. A* **508**, 519 (2003).
30. I. V. Kozhevnikov, L. Peverini, and E. Ziegler, *Phys. Rev. B* **85**, 125439 (2012).
31. R. Kanwal, *Generalized Functions: Theory and Technique*, Birkhauser (1998).
32. L. G. Parratt, *Phys. Rev.* **95**, 359 (1954).
33. J. Nocedal and S. Wright, *Numerical Optimization*, Springer (2006).
34. B. L. Henke, E. M. Gullikson, and J. C. Davis, *Atom. Data Nucl. Data Tabl.* **54**, 181 (1993).
35. L. Nevot and 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, and V. Tukarev, *Proc. SPIE* **4099**, 279 (2000).
37. V. E. Asadchikov, I. V. Kozhevnikov, Yu. S. Krivonosov, R. Mercier, T. H. Metzger, C. Morawe, and E. Ziegler, *Nucl. Instr. 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).