

СИНХРОТРОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА КОРРЕЛЯЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ВЫСОТ ФОСФОЛИПИДНОГО МУЛЬТИСЛОЯ

А. М. Тихонов^{a,b}, Ю. О. Волков^{b,c**}, В. Е. Асадчиков^c, Б. С. Роцин^c*

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

^b *Институт физики твердого тела им. Ю. А. Осипьяна Российской академии наук
142432, Черноголовка, Московская обл., Россия*

^c *Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
123182, Москва, Россия*

Поступила в редакцию 4 апреля 2025 г.,
после переработки 20 мая 2025 г.
Принята к публикации 20 мая 2025 г.

На основании совместного анализа данных рентгеновской рефлектометрии и скользящего диффузного рассеяния синхротронного излучения с энергией фотонов примерно 71 кэВ получена информация о строении и статистике границ раздела ламеллярного мультислоя фосфолипида 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина, нанесенного на поверхности раствора гидрозоль аморфных наночастиц кремнезема. Полученный в рамках непараметрического подхода спектр пространственных корреляций наночастиц, захваченных мультислойом DPPC, описывает экспериментальную интенсивность рассеяния, но существенно отличается от модельного капиллярно-волнового спектра во всем экспериментально доступном интервале пространственных частот. Систематизирована информация о спектрах корреляционных функций для систем с однородным мультислойом и мультислойом с внедренными наночастицами кремнезема.

DOI: 10.31857/S0044451025080164

1. ВВЕДЕНИЕ

Монослойные и бислоиные системы, состоящие из различных типов липидов, представляют интерес для биомедицинских исследований, поскольку они имитируют поверхность естественной мембраны [1–3]. Ранее в работах [4, 5] предложена технология приготовления ламеллярных фосфолипидных пленок на поверхности раствора коллоидного кремнезема [6], которая является альтернативой методу, разработанному Ленгмюром и Блуджетт [7–9]. Исследование спектральных свойств корреляционной функции высот границ бислоев в мультислоях DSPC (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина) неожиданно выявило широкую некапиллярно-волновую природу межслойных шероховатостей [10], которую

можно объяснить наличием относительно большого количества дефектов ламеллярной структуры. В этом случае в интенсивность поверхностного рассеяния I_n существенный вклад вносит компонента скользящего малоуглового рассеяния на неоднородностях приповерхностного слоя образующихся, по видимому, в результате электропорации липидного бислоя в поверхностном электрическом поле гидрозольной субфазы [11–13].

В настоящей работе по данным рефлектометрии и незеркального рентгеновского рассеяния с использованием синхротронного излучения мы провели систематическое исследование спектра корреляционной функции высот границ ламеллярной структуры, изготовленной из более легкоплавкого цвитерного фосфолипида DPPC (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина). Анализ данных в рамках непараметрического подхода [14] показывает, что спектральная плотность мощности корреляционной функции высот во всем доступном в эксперименте интервале пространственных частот качествен-

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

** E-mail: volkov.y@crys.ras.ru

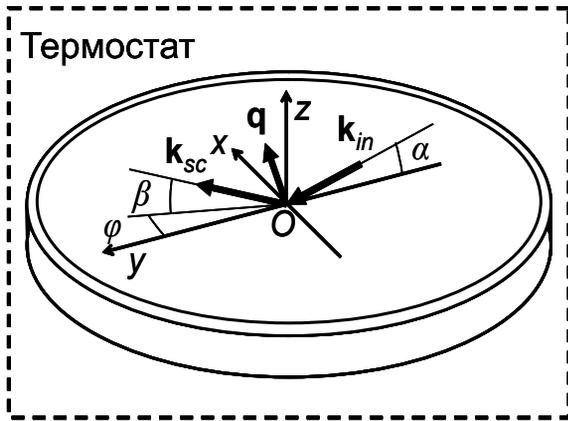


Рис. 1. Экспериментальная ячейка-тарелка. В эксперименте рефлектометрии $\alpha = \beta$, при измерении рассеяния $\alpha = \text{const}$

но отличается от предсказания теории капиллярных волн [15,16]. В рассмотренном случае некапиллярно-волновая структура обусловлена, по-нашему мнению, не только дефектами ламеллярной структуры, но и присутствием наночастиц кремнезема в структуре фосфолипидной пленки.

2. ЭКСПЕРИМЕНТ

Технология приготовления ламеллярных пленок 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина (DPPC, $C_{40}H_{80}NO_8P$) на поверхности раствора коллоидного кремнезема достаточно подробно описана в работе [5]. Для нанесения мультислоя на жидкую кремнезольную подложку использовался раствор фосфолипида в хлороформе с концентрацией примерно 0.3 М/л. В виде порошка DPPC приобретался у Avanti Polar Lipids.

Образцы мультислоев изучались во фторопластовой тарелке (см. рис. 1) диаметром ~ 100 мм [17], помещенной в герметичную камеру с рентгенопрозрачными окнами. В качестве субфазы использовались растворы аморфных наночастиц кремнезема диаметрами ≈ 22 нм (Grace Davison, Ludox TM-40, pH ≈ 9 , разбавлялся деионизованной водой в соотношении 1:1) и ≈ 5 нм (Grace Davison, Ludox FM, pH ≈ 10) с массовыми долями SiO_2 примерно 20% и 16% соответственно. Объемная концентрация катионов Na^+ в золях примерно 0.2 моль/л [18,19]. Полный объем субфазы в тарелке составлял ~ 40 мл.

Раствор фосфолипида DPPC в хлороформе наносился на поверхность подложки с помощью калиброванного шприца (Hamilton) в количестве, достаточном для формирования не менее 10 монослоев. После приготовления образцы выдерживались в течение 1–4 часов при температуре 23°C.

Отметим, что цвитерионный фосфолипид DPPC более легкоплавкий, чем изученный нами ранее DSPC. Согласно литературным данным для объемных систем, температура плавления углеводородных цепей DPPC и DSPC составляет соответственно $T_c \approx 41^\circ C$ и $55^\circ C$ [20]. Согласно многочисленным экспериментальным данным ряда авторов, температура главного перехода T_c для этих фосфолипидов в зависимости от состава фонового электролита может отклоняться от номинального значения в интервале 2–3°C [21].

Диапазон углов, доступных для измерения данных рентгеновского рассеяния, как правило, у лабораторной установки существенно меньше, чем у аналогичной специализированной синхротронной станции по причине значительно меньшей яркости анодных трубок в сравнении с синхротронным источником. При этом, поскольку поверхность жидкости ориентируется гравитацией, возникают специфические требования к измерительному оборудованию. В связи с чем имеется очень ограниченный выбор синхротронных станций, пригодных для изучения жидких образцов. Более того, фотохимические процессы, вызванные воздействием интенсивного синхротронного излучения в жесткой части спектра, приводят, как правило, к радиационному повреждению биологических объектов. С одной стороны, величина этого воздействия убывает с уменьшением длины волны пропорционально λ . С другой стороны, проведение исследования тонких пленок при малых λ затруднено техническими ограничениями в работе сервоприводов гониометров экспериментальной установки, определяющих точность углового позиционирования пучка. Для измерения коэффициента отражения R и интенсивности поверхностного диффузного (незеркального) рентгеновского рассеяния I_d на границе гидрозоль–воздух была выбрана станция ID31 синхротрона ESRF [22] с относительно высокой энергией зондирующего луча, более 70 кэВ. В экспериментах интенсивность I_0 сфокусированного монохроматического луча фотонов с длиной волны $\lambda = 0.1747 \pm 0.0003 \text{ \AA}$ (энергия кванта ≈ 71.133 кэВ) составляла $\sim 10^{10}$ ф/с при поперечных размерах менее 10 мкм по высоте и ~ 250 мкм в горизонтальной плоскости. Регистрация данных рассеяния осуществлялась с помощью двумерного CCD-детектора MaxiPix (256×256 пикселей) с линейным размером пиксела ~ 55 мкм [23]. При расстоянии от центра образца до детектора ~ 0.9 м область засветки в эксперименте составляет $\sim 54 \times 54$ пиксела. Оценочное угловое разрешение одиночного пиксела составляло порядка $6 \cdot 10^{-5}$ рад.

Кинематику поверхностного рассеяния на макроскопически плоской межфазной границе (см. рис. 1), ориентированной силой гравитации, удобно описывать в системе координат, в которой начало O лежит в центре области засветки. Плоскость xy совпадает с границей, ось x перпендикулярна к направлению луча, а ось z направлена по нормали к поверхности противоположно силе тяжести. В эксперименте в плоскости yz угол скольжения $\alpha \ll 1$ и угол рассеяния $\beta \ll 1$, а угол в плоскости xy между направлением падающего луча и направлением рассеяния $\phi \approx 0$. Пусть \mathbf{k}_{in} , \mathbf{k}_{sc} — волновые векторы с амплитудой $k_0 = 2\pi/\lambda$ падающего и рассеянного лучей в направлении точки наблюдения соответственно. При зеркальном отражении ($\alpha = \beta$, $\phi = 0$) вектор рассеяния $\mathbf{q} = \mathbf{k}_{in} - \mathbf{k}_{sc}$ направлен строго вдоль оси z ,

$$q_z \approx 2k_0\alpha.$$

При $\alpha \neq \beta$ компоненты \mathbf{q} в плоскости межфазной границы равны

$$q_x \approx k_0\phi, \quad q_y \approx k_0(\alpha^2 - \beta^2)/2,$$

при этом третья составляющая равна

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

Измерение коэффициента отражения $R(q_z)$ проводится при условии $\alpha = \beta$ и $\phi = 0$. В этом случае при $q_z < 2k_0\alpha_c \approx 0.01 \text{ \AA}^{-1}$ ($q_c = 2k_0\alpha_c$) падающий луч испытывает полное внешнее отражение $R \approx 1$. Значение угла полного внешнего отражения для всех границ золь-воздух составляет

$$\alpha_c = \lambda\sqrt{r_e\rho_b/\pi} \approx 3 \cdot 10^{-4} \text{ рад}$$

или $\approx 0.017^\circ$ (где $r_e = 2.814 \cdot 10^{-5} \text{ \AA}$ — классический радиус электрона), которое задается объемной электронной концентрацией $\rho_b \approx 1.1\rho_w$ в растворах, где $\rho_w = 0.333 e^- \text{ \AA}^{-3}$ — электронная концентрация в воде при нормальных условиях.

На рис. 2 *a, b* показаны зависимости коэффициента зеркального отражения $R(q_z)$, нормированные на функцию Френеля R_F , для мультислоев на поверхности разных субфаз. Для образца DRPC на поверхности золя 22-нанометровых частиц (см. рис. 2 *a*) были измерены кривые зеркального отражения $R(\alpha)$ непосредственно после приготовления образца, а также спустя 1 час и 4 часа после приготовления. Также была измерена кривая зеркального отражения после нагревания образца до $T = 45^\circ\text{C}$, которая выше температуры главного перехода T_c .

Для образца с подложкой из 5-нанометровых частиц (см. рис. 2 *b*) были измерены кривые зеркального отражения непосредственно после приготовления образца и спустя 1 час после приготовления.

Распределения диффузного рассеяния $I(\beta)$ образцом на подложке с 22-нанометровыми частицами, которые были измерены спустя 1–2 часа после приготовления при углах скольжения зондирующего пучка $\alpha = 0.01^\circ, 0.015^\circ, 0.02^\circ$ и 0.025° ($\phi = 0$), приведены на рис. 3. Вставка на этом рисунке демонстрирует зависимость положения пика зеркального отражения ($\beta = \alpha$) от α в области малых β .

3. ТЕОРИЯ

Метод рентгеновской рефлектометрии основан на анализе угловой зависимости кривой отражения и расчете распределения оптической плотности по нормали к поверхности образца. Так, коэффициент отражения $R(q_z)$ от межфазной границы в общем случае имеет вид

$$R(q_z) \approx R_F(q_z) |\Phi(q_z)|^2, \quad \Phi(q_z) = \frac{1}{\rho_b} \int_{-\infty}^{+\infty} \left\langle \frac{d\rho(z)}{dz} \right\rangle \exp(iq_z z) dz, \quad (1)$$

где ρ_b — объемная электронная концентрация в подложке, $\Phi(q_z)$ — структурный фактор межфазной границы (фурье-образ производной распределения электронной концентрации ρ по глубине z , усредненной по площади засветки S). Коэффициент отражения Френеля от идеальной подложки

$$R_F(q_z) = \frac{q_z - \sqrt{q_z^2 - q_c^2}}{q_z + \sqrt{q_z^2 - q_c^2}}$$

задается однозначно объемной электронной плотностью подложки, которая определяет величину q_c . Таким образом, на рис. 2 *a, b* точками показаны зависимости квадрата модуля структурного фактора $\Phi(q_z)$ (комплексная величина), полученные из экспериментальных кривых $R(q_z)$.

Расчет распределения $\rho(z)$ был проведен в рамках непараметрического модельно-независимого подхода [24]. Этот подход предполагает, что асимптотическое поведение кривой отражения

$$R(q_z \rightarrow \infty) \propto (1/q_z)^4$$

определяется совокупностью особых точек структуры, в которых первая производная функции $\rho(z)$ меняется скачкообразно:

$$\Delta(z_j) = \frac{d\rho(z_j + 0)}{dz} - \frac{d\rho(z_j - 0)}{dz}. \quad (2)$$

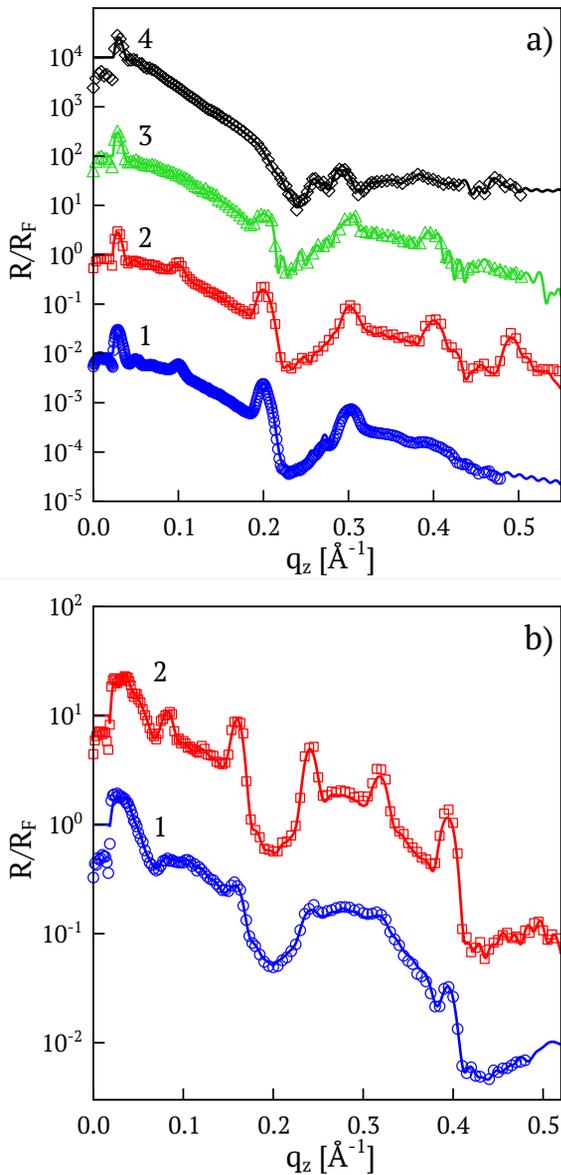


Рис. 2. Зависимости коэффициента зеркального отражения $R(q_z)$, нормированные на функцию Френеля R_F , измеренные от пленок липида DPPC на поверхности золя: *a* — частицы диаметром 22 нм. Кривая 1 соответствуют образцу при $T_1 = 23^\circ\text{C}$ сразу после приготовления, 2 — спустя 1 час, 3 — 4 часа, кривая 4 получена при $T_2 = 45^\circ\text{C}$; *b* — частицы диаметром 5 нм. Кривая 1 измерена сразу после приготовления при $T = 23^\circ\text{C}$, а 2 — спустя 1 час. Для ясности кривые смещены по вертикали

В свою очередь, положение особых точек $\Delta(z_j)$ может быть найдено на основе положения стабильных экстремумов опорной функции автокорреляций поляризуемости по глубине:

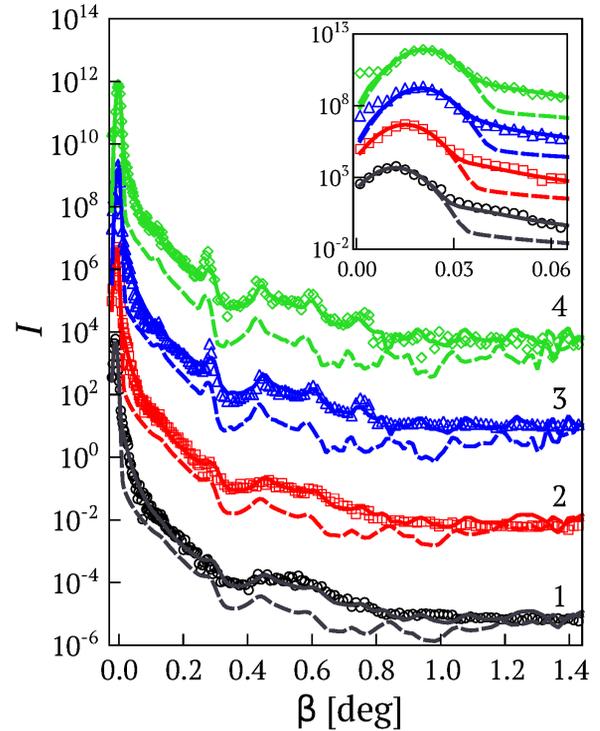


Рис. 3. Угловые распределения диффузного рассеяния $I(\beta)$, измеренные от пленки липида DPPC на поверхности 22 нм частиц спустя 1 час после приготовления, при углах скольжения $\alpha = 0.01^\circ$ (кривая 1), 0.015° (2), 0.02° (3) и 0.025° (4). Точки соответствуют экспериментальным данным, пунктир — расчет для капиллярно волновой модели (7), а сплошные линии — расчет для некапиллярно волновой модели (8). Вставка демонстрирует зависимость положения пика зеркального отражения ($\beta = \alpha$) от α в области малых β

$$F(x) = \frac{\lambda^4}{\pi^4(q_{max} - q_{min})} \times \int_{q_{min}}^{q_{max}} [q^4 R(q) - C] \cos(2qx) dq, \quad (3)$$

$$C = \frac{1}{q_{max} - q_{min}} \int_{q_{min}}^{q_{max}} q^4 R(q) dq.$$

Примеры семейства опорных функций $F(x)$ при различных значениях q_{min}, q_{max} для кривых отражения от мультислоев DPPC на поверхности зольей 22- и 5-нанометровых частиц, спустя 1 час после нанесения каждого из образцов, приведены на рис. 4. Положения стабильных пиков, соответствующие парам особых точек, указаны стрелками. Согласно им, мультислой в обоих образцах состоит из 4-5 подсло-

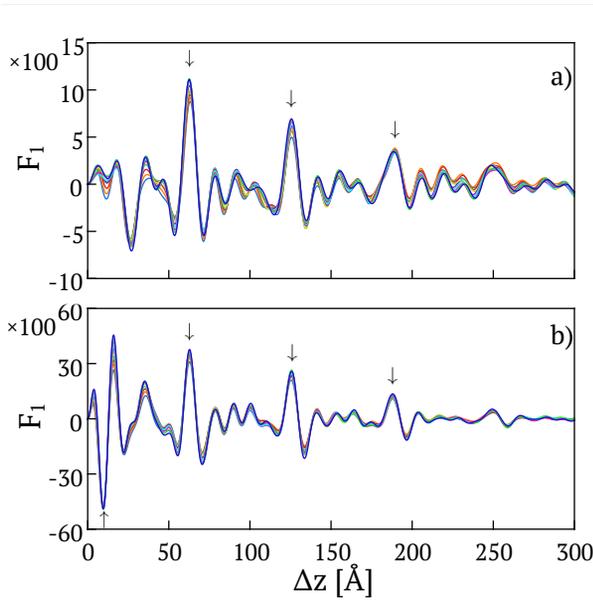


Рис. 4. Семейства опорных функций $F(x)$, рассчитанные для кривых отражения от пленок липида DPPC на поверхности золя 22-нанометровых (а) и 5-нанометровых частиц (б) соответственно

ев с характерным периодом 62.8 \AA , что соответствует табличной толщине бислоя липида DPPC в ламеллярных и везикулярных структурах [25]. Расчетные распределения электронной плотности $\rho(z)$ для мультислоев липида приведены на рис. 5, 6.

Метод незеркального (диффузного) рентгеновского рассеяния основан на измерении углового распределения рассеянного излучения $I(\beta)$ при фиксированном малом угле скольжения α . В рамках формализма Борновского приближения с искаженными волнами (DWBA) распределение рассеяния от неоднородной межфазной границы имеет вид [26]

$$\Pi(q) = \frac{I(\alpha, \beta)}{\int I(\alpha, \beta) d\beta} \propto |t(\alpha)t(\beta)\Phi(q_z)|^2 PSD(\nu), \quad (4)$$

где $t(\alpha)$ и $t(\beta)$ — коэффициенты пропускания Френеля для амплитуды волны на межфазной границе, $PSD(\nu)$ — одномерная функция спектральной плотности мощности высот шероховатостей на межфазной границе:

$$PSD(\nu) = \int_S \langle \zeta(0)\zeta(p) \rangle \exp(2i\pi\nu p) dp, \quad (5)$$

$$\sigma^2 = \frac{1}{2\pi} \int PSD(\nu) d\nu, \quad (6)$$

$p(x, y)$ — модуль радиус-вектора в плоскости S , $\nu = |q_{xy}|/2\pi$ — пространственная частота, σ — эффективная высота шероховатости.

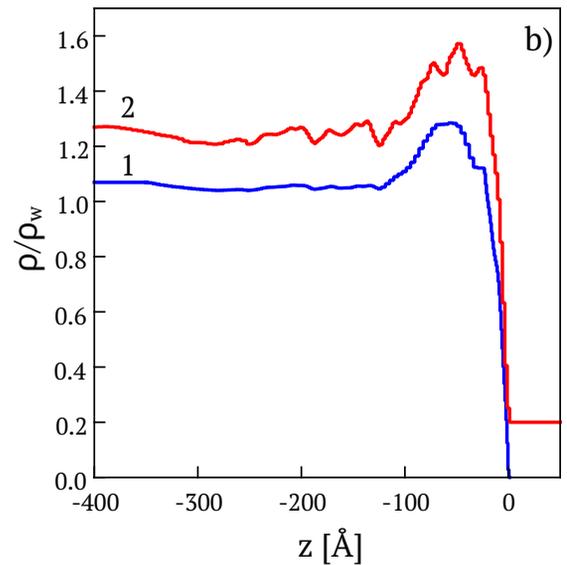
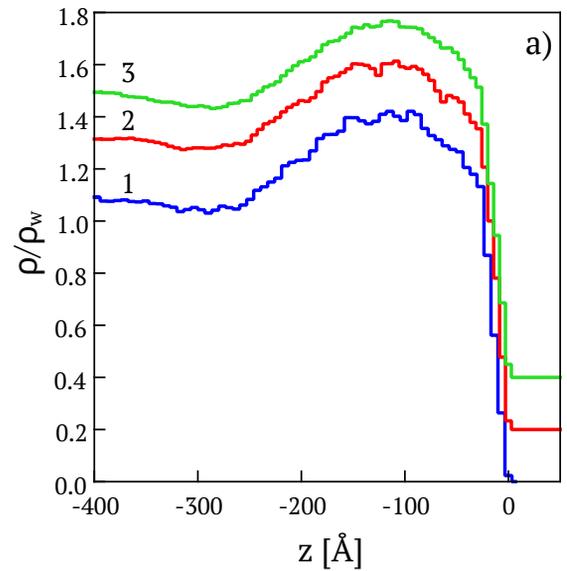


Рис. 5. Рассчитанные непараметрические распределения нормированной электронной плотности ρ/ρ_w ($\rho_w = 0.333e/\text{\AA}^3$ — объемная электронная плотность воды) для пленок липида DPPC на подложке золя 22-нанометровых (а) и 5-нанометровых частиц (б) соответственно. Кривые соответствуют образцам сразу после приготовления (1), спустя 1 час (2) и спустя 4 часа (3). Для ясности кривые смещены по вертикали

Для жидкофазных границ раздела спектр высот шероховатостей PSD при температуре T традиционно интерпретируется в рамках формализма теории капиллярных волн [15]:

$$PSD_{cap}(\nu) = \frac{k_B T}{4\pi\gamma} \frac{1}{\nu^2 + \rho_V g/\gamma}, \quad (7)$$

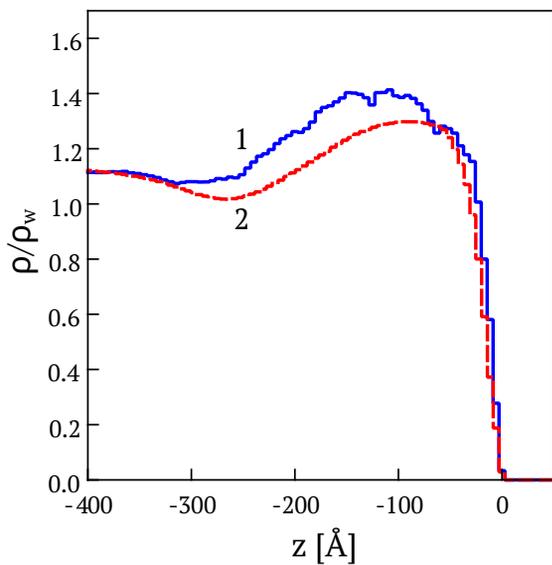


Рис. 6. Рассчитанные непараметрические распределения нормированной электронной плотности ρ/ρ_w ($\rho_w = 0.333 \text{ e}/\text{\AA}^3$ — объемная электронная плотность воды) для пленки липида DPPC на подложке золя 22-нанометровых частиц при температурах 23°C (1) и 45°C (2)

где ρ_V — объемная плотность фазы, γ — сила поверхностного натяжения, k_B — постоянная Больцмана, g — ускорение силы тяжести. Для липида DPPC на поверхности водного буфера экспериментальное значение $\gamma \approx 40 \text{ мН/м}$ [27].

Однако использование капиллярной модели не позволяет полностью описать экспериментальные распределения рассеяния $I(\beta)$ (штриховые линии на рис. 3). Поскольку в мультислое липида по рассчитанным распределениям электронной плотности присутствуют наночастицы SiO_2 , то дополнительная компонента предположительно обусловлена рассеянием на внедренных наночастицах. Для ее учета, следуя [28], было рассчитано распределение поля волны по глубине структуры, а вклад рассеяния на границах раздела и в объеме был представлен как сумма соответствующих компонент:

$$\begin{aligned}
 \text{П}_\Sigma(q) &= \left| \int \psi(\alpha, z)\psi(\beta, z)dz \right|^2 \times \\
 &\times \left[|\Phi_{lipid}(q_z)|^2 PSD_{cap}(\nu) + |\Phi_{nc}(q_z)|^2 PSD_{nc}(\nu) \right] \quad (8)
 \end{aligned}$$

где $\psi(\theta, z)$ — распределение амплитуды поля волны в глубине образца по нормали к поверхности, Φ_{lipid} и Φ_{nc} — структурные факторы липидного слоя и захваченных наночастиц SiO_2 соответственно, PSD_{cap} — капиллярный спектр (7), и PSD_{nc} — спектр кор-

реляций распределения наночастиц SiO_2 в плоскости липидной пленки.

Распределение электронной плотности $\rho(z)$ (см. рис. 7), полученное по данным рефлектометрии, можно представить в виде

$$\rho(z) \approx \rho_{nc}(z) + \rho_{lipid}(z),$$

где компоненты плотности $\rho_{nc}(z)$ (кривая 1) и $\rho_{lipid}(z)$ (кривая 2) имеют соответствующие структурные факторы Φ_{nc} и Φ_{lipid} . Если в пределах области жидкокристаллического мультислоя ($-330 < z < 0 \text{ \AA}$) плотность упаковки фосфолипидных молекул примерно соответствует объемной электронной плотности ρ_w [1], то компоненты плотности имеют следующий вид:

$$\rho_{nc}(z) = \rho_{\text{SiO}_2} \frac{\rho(z) - \rho_w}{\rho_{\text{SiO}_2} - \rho_w}, \quad (9)$$

$$\rho_{lipid}(z) = \rho_w \frac{\rho_{\text{SiO}_2} - \rho(z)}{\rho_{\text{SiO}_2} - \rho_w}.$$

Вне области мультислоя ($z < -330 \text{ \AA}$) вторая компонента, составляющая примерно $0.85\rho_w$, соответствует распределению плотности воды в объеме подложки (кривая 3 на рис. 7).

В приповерхностной области толщиной $\sim 300 \text{ \AA}$ начальное приближение для компоненты вклада наночастиц в рассеивающую плотность было аппроксимировано распределением Гаусса

$$\rho_{nc}(z < 0) = \rho_b + \frac{\rho_{peak}}{\sqrt{2\pi}} \exp \left[-0.5 \left(\frac{z - z_{peak}}{\sigma_\rho} \right)^2 \right],$$

где ρ_{peak} — нормировочное значение пиковой плотности, $z_{peak} \approx 120 \text{ \AA}$ — усредненная глубина залегания наночастиц под поверхностью, $\sigma_\rho \approx 83 \text{ \AA}$ — параметр ширины размытия слоя, $\rho_{nc}(z > 0) \equiv 0$.

Для стабилизации расчетной процедуры также был использован дополнительный регуляризационный критерий

$$Q = \sum_{i=2}^{Nz-1} (\rho_{i+1} + \rho_{i-1} - 2\rho_i)^2 \rightarrow \min,$$

обеспечивающий гладкость искомых распределений компонент $\rho(z)$.

4. ОБСУЖДЕНИЕ

Реконструкция распределений электронной плотности по глубине $\rho(z)$ и статистических

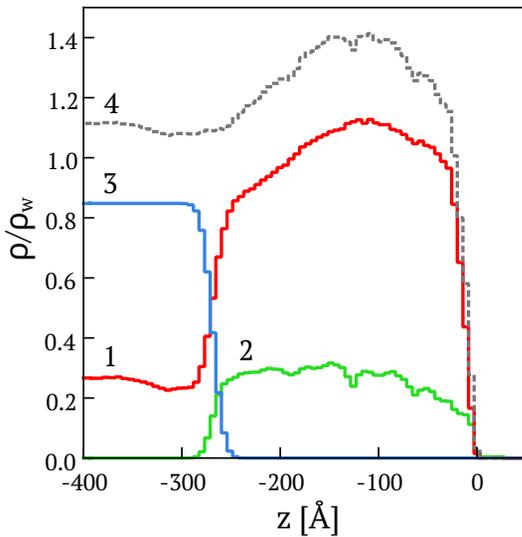


Рис. 7. Расчетные компоненты электронной плотности (9), нормированные на плотность воды ρ_w : 1 — распределение электронной плотности наночастиц SiO_2 $\rho_{nc}(z)$, 2 — мультислоя DPPC $\rho_{lipid}(z)$, 3 — воды в подложке. Кривая 4 соответствует кривой 2 на рис. 5 а

спектров корреляций шероховатостей $PSD(\nu)$ по экспериментальным кривым рефлектометрии и незеркального рассеяния была проведена с применением модельно-независимого подхода [24]. Расчеты были реализованы в среде языка Python с применением пакетов библиотек Scientific Python и PyLab.

В расчетах предполагалось, что спектры шероховатостей на каждой границе между бислоями описываются одним и тем же капиллярным спектром $PSD_{cap}(\nu)$, и все границы раздела взаимно некоррелированы. В свою очередь, спектр корреляций наночастиц PSD_{nc} моделировался суммой К-корреляционных моделей [29]:

$$PSD_{KC}(\nu) = \sum \frac{\sigma^2 \zeta_c^2}{(1 + \zeta_c^2 \nu^2)^{(1+h)/2}}, \quad (10)$$

где σ — предельная высота шероховатости отсечки в области низких частот, ζ_c — критическая корреляционная длина, h — фрактальный параметр.

Для снижения неоднозначности расчет проводился одновременно для всех четырех экспериментальных распределений $I(\alpha, \beta)$ (рис. 3) относительно одних и тех же компонент PSD_{cap} и PSD_{nc} . Точность расчета иллюстрируется на рис. 3 сплошными линиями.

Распределения электронной плотности по глубине по нормали к поверхности $\rho(z)$, восстановленные для мультислоев DPPC в различные моменты

времени, приведены на рис. 5. Видно, что при выдержке образцов со временем наблюдается последовательное упорядочение липидной пленки с внутренним расслоением, однако организация бислоев в структуре остается неоднородной. Также во всех случаях в приповерхностной области, соответствующей мультислою DPPC, присутствует область существенного повышения электронной плотности, толщина которой согласуется с характерными диаметрами наночастиц SiO_2 в кремнезольной подложке, равными соответственно 22 и 8 нм. Это указывает на проникновение и накопление наночастиц из объема подложки в липидной пленке, что, в свою очередь, объясняет наблюдаемую нерегулярность структуры мультислоя.

Сравнительные распределения электронной плотности по глубине по нормали к поверхности $\rho(z)$, нормированные на объемную электронную плотность воды ρ_w , для пленки DPPC до и после нагревания выше температуры плавления липида, приведены на рис. 6. Видно, что в результате нагревания мультислоя структура разрушается; область, соответствующая наночастицам SiO_2 в пленке, сохраняется, однако интегральное значение ее плотности падает в $(\rho(T_1) - \rho_b)/(\rho(T_2) - \rho_b) \approx 1.3$ раза, где $T_1 = 23^\circ\text{C}$, а $T_2 = 45^\circ\text{C}$. Это указывает, по всей видимости, на отток наночастиц в объем подложки вследствие разжижения липидной пленки.

Распределения компонент пленки DPPC на кремнезолье 22-нанометровых частиц до нагревания, полученные для данных диффузного рассеяния, приведены на рис. 7; соответствующая им качественная модель на основе совокупности полученных данных показана на рис. 8. Согласно расчетам, ламеллярный липидный мультислою DPPC (кривая 2 на рис. 7) состоит из совокупности четырех-пяти упорядоченных бислоев и незаполненного монослоя непосредственно на поверхности. Структурный фактор последнего описывается волнообразным изменением кривой R/R_F с широким минимумом в $q_z \approx 0.2 \text{ \AA}^{-1}$ и широким максимумом при $q_z \approx 0.3 \text{ \AA}^{-1}$ на рис. 2 а, b. Структурный фактор ламеллярной структуры описывает система относительно острых пиков с периодом $\Delta q_z \sim 0.1 \text{ \AA}^{-1}$. Расчетное строение периодического элемента мультислоя (фосфолипидного бислоя) хорошо согласуется с параметрами гидратированного бислоя DPPC, предложенными в рамках модельного подхода в работе [5]. Существенное и неожиданное качественное отличие данной структурной модели от рассмотренной в [5] заключается

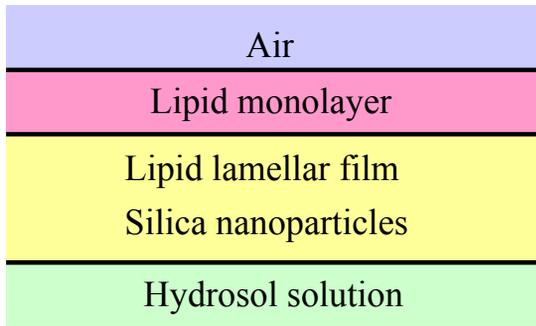


Рис. 8. Модель поперечного строения пленки липида DPPC на границе гидрозоль-воздух

в присутствии наночастиц кремнезема в липидной пленке, концентрация которых (кривая 3 на рис. 7) более чем в 4 раза превышает концентрацию кремнезема в растворе подложки и близка к таковой на поверхности чистого гидрозоля [30]. Структурный фактор наночастиц, захваченных мультислоем, описывается стабильным пиком при $q_z \approx 0.03 \text{ \AA}^{-1}$.

Отметим, что ранее накопления наночастиц в мультислое не наблюдалось как в пленках DPPC, так и в пленках других фосфолипидов DSPC и DMPS на аналогичных кремнезольных подложках [31,32]. Возможно, это вызвано изменением технологии приготовления пленок DPPC в представленном эксперименте, в котором поверхность гидрозольной подложки не подвергалась предварительной аспирации при помощи пипетки перед нанесением пленки, что, по-видимому, является причиной «замусоривания» липидной пленки наночастицами.

Данные рефлектометрии и диффузного рассеяния, собранные в условиях полного внешнего отражения, позволяют получить информацию о статистических свойствах поверхности жидкости, покрытой мультислойной липидной пленкой, без использования какой-либо априорной информации о ее структуре. Согласно анализу представленных экспериментальных данных, накопление наночастиц оксида кремния из объема подложки в липидном мультислое приводит к фундаментально некапиллярному рассеянию от границ раздела в мультислое.

На рис. 9 систематизированы результаты расчетов шероховатости границ раздела. Сплошной синей прямой 1 представлен модельный спектр высот капиллярных шероховатостей, рассчитанный для величины поверхностного натяжения $\gamma = 41 \pm 1 \text{ мН/м}$ при температуре $T = 298 \text{ К}$. Этот спектр описывает, например, жидкокристаллическую фазу ленгмюровского монослоя DMPS вблизи коллапса [33]. Зна-

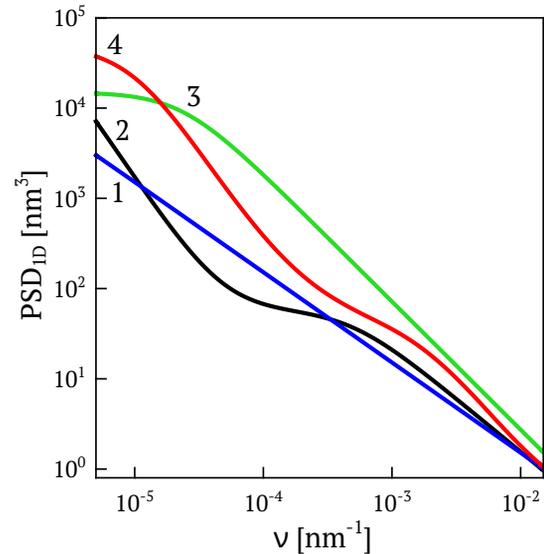


Рис. 9. Расчетные спектры: 1 — модельная капиллярная шероховатость $PSD_{cap}(\nu)$; 2 — шероховатость поверхности чистого кремнезоля TM (из работы [30]); 3 — межслойная шероховатость мультислоя липида DSPC (из работы [10]); 4 — пространственные корреляции наночастиц $PSD_{nc}(\nu)$, захваченных мультислоем DPPC

чение эффективной капиллярной высоты шероховатости, рассчитанное аналитически по (6) и (7) в интервале $\nu = 10^{-5} - 10^{-2} \text{ нм}^{-1}$, составляет $\sigma_{cap} = 3.7 \text{ \AA}$ и согласуется со значениями, приведенными ранее в литературе [6].

Кривая 2 представляет спектр высот шероховатости чистой поверхности кремнезоля 22-нанометровых частиц (разбавленный золь Ludox TM-50) из работы [30], который описывается суммой двух К-корреляционных моделей (10) $PSD_{KC}^{(1)}(\nu) + PSD_{KC}^{(2)}(\nu)$. Статистика шероховатости этой поверхности в высокочастотной области ($\nu > 10^{-4} \text{ нм}^{-1}$) описывается параметрами $\sigma = 3.4 \text{ \AA}$, $\zeta_c = 1.1 \text{ мкм}$, $h = 0.11$.

Кривая 3 — спектр высот межслойных шероховатостей в мультислое липида DSPC [10], описываемый одной К-корреляционной моделью (10) при $\sigma = 8.1 \text{ \AA}$, $\zeta_c = 43 \text{ мкм}$, $h = 0.23$. Отметим, что в высокочастотной области ($\nu > 10^{-4} \text{ нм}^{-1}$) шероховатость является однородной и стохастической.

Наконец, кривая 4 — спектр пространственных корреляций в плоскости слоя наночастиц, захваченных мультислоем DPPC, $PSD_{nc}(\nu)$. Из-за относительно большого вклада наночастиц в электронную плотность мультислоя DPPC интенсивность диффузного рассеяния в основном задается этим спектром. Зависимость $PSD_{nc}(\nu)$ имеет ха-

ракетные особенности кривой ρ и также может быть описана суммой двух К-корреляционных моделей с модельными параметрами $PSD_{KC}^{(2)}$ для высокочастотной области $\sigma = 3.8 \text{ \AA}$, $\zeta_c = 0.6 \text{ мкм}$, $h = 0.29$. Проявляемая корреляционная длина, по-видимому, соответствует характерному радиусу ближнего порядка в ориентации абсорбированных наночастиц в плоскости липидной пленки. При этом эффективная шероховатость (6) во всем расчетном интервале пространственных частот составляет $\sigma_{eff} = 7.5 \text{ \AA}$, что заметно превышает капиллярную ширину, равную примерно 4 \AA , и близко к значению, полученному ранее в [5] в модели «чистого» мультислоя DPPC $\approx 8 \text{ \AA}$.

С одной стороны, по сравнению с чистой поверхностью кремнезоля, для захваченных пленкой DPPC наночастиц критическая корреляционная длина ζ_c сокращается почти вдвое, в то время как фрактальный параметр h возрастает примерно в три раза. Это указывает на «огрубление» шероховатости при нанесении липида, что, по-видимому, связано с большей продольной жесткостью мультислоя, ограничивающей подвижность и перераспределение наночастиц кремния в приповерхностной области. Отметим, что при формировании приповерхностной структуры на гидрофильную поверхность внедренных в пленку наночастиц кремнезема адсорбируются полярные фосфолипидные молекулы, что может служить причиной ограничения подвижности частиц. С другой стороны, чистый мультислой DSPC характеризуется в сорок раз большей величиной ζ_c и в два раза большим h , чем чистая поверхность подложки. Таким образом, в совокупности это свидетельствует о сильной зависимости механических свойств пленки от концентрации наночастиц в мультислое. По нашему мнению, молекулярно-динамические расчеты (например для модуля изгиба пленки) могли бы прояснить микроскопические причины этой зависимости [34].

Таким образом, по данным рефлектометрии и диффузного рассеяния, собранных в условиях полного внешнего отражения, получена информация о статистических свойствах поверхности жидкости, покрытой мультислойной липидной пленкой, без использования какой-либо априорной информации о ее структуре. Сравнение данных для двух случаев пленки (однородный мультислой и мультислой с внедренными наночастицами) указывает на существенные различия в статистике шероховатости. Установленные из эксперимента спектры высот принципиально отклоняются от предсказаний теории капиллярных волн в области простран-

ственных частот $\nu < 10^{-3} \text{ нм}^{-1}$ [15]. Аппроксимация спектров высот шероховатости суммой двух К-корреляционных распределений указывает на переход от собственного спектра шероховатости слоя наночастиц к капиллярной шероховатости поверхности жидкости в области корреляционной длины, равной примерно 0.6 мкм .

Благодарности. Авторы выражают благодарность Вейо Хонкимаки и Хелене Изерн (ESRF) за помощь в проведении экспериментов.

Финансирование. Эксперименты на станции ID31 проводились в рамках исследовательских проектов SC-4461 и SC-4845 Европейского источника синхротронного излучения (ESRF), Гренобль, Франция. Методическая часть работы выполнена в рамках государственных заданий НИЦ «Курчатовский институт» и ИФП РАН. Теоретическая часть работы выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-12-00200).

ЛИТЕРАТУРА

1. D. M. Small, *The Physical Chemistry of Lipids*, Plenum Press, New York (1986).
2. H. Möhwald, *Phospholipid monolayers*, in: *Handbook of Biological Physics*, ed. by R. Lipowsky and E. Sackmann, Elsevier Science B.V., Netherlands, Amsterdam (1995), p. 161.
3. C. Stefaniu, G. Brezesinski, and H. Mohwald, *Adv. Colloid Interface Sci.* **208**, 197 (2014).
4. А. М. Тихонов, Письма в ЖЭТФ **92**, 394 (2010).
5. А. М. Тихонов, ЖЭТФ **158**, 821 (2020).
6. А. М. Tikhonov, *J. Chem. Phys.* **130**, 024512 (2009).
7. I. Langmuir, *J. Amer. Chem. Soc.* **39**, 1848 (1917).
8. K. V. Blodgett, *J. Amer. Chem. Soc.* **57**, 1007 (1935).
9. K. V. Blodgett and I. Langmuir, *Phys. Rev.* **51**, 964 (1937).
10. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Б. С. Рошин, Ю. А. Ермаков, Письма в ЖЭТФ **114**, 674 (2021).
11. J. M. Crowley, *Biophys. J.* **13**, 711 (1973).
12. U. Zimmermann, G. Pilwat, and F. Riemann, *Biophys. J.* **14**, 881 (1974).
13. И. Г. Абидор, В. Б. Аракелян, В. Ф. Пастушенко, М. Р. Тарасевич, Л. В. Черномордик, ДАН СССР **240**, 733 (1978).

14. I. V. Kozhevnikov, Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A **508**, 519 (2003).
15. F. P. Buff, R. A. Lovett, and F. H. Stillinger, Phys. Rev. Lett. **15**, 621 (1965).
16. M. Tolan, *X-ray Scattering from Soft-Matter Thin Films*, Springer Tracts in Modern Physics **148**, Springer, Berlin, Heidelberg (1999).
17. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, А. Д. Нуждин, Б. С. Роцин, ПТЭ **146** (2021).
18. T. Graham, Trans. Roy. Soc. London **151**, 183 (1861).
19. J. W. Ryznar, *Colloidal Chemistry: Theoretical and Applied*, V. VI, ed. by J. B. Alexander, Reinhold Publishing Corporation, New York, USA (1946).
20. C. Huang, S. Li, Zq. Wang, and Hn. Lin, Lipids **28**, 365 (1993).
21. R. Koyanova and M. Caffrey, Biochim. Biophys. Acta **1376**, 91 (1998).
22. V. Honkimäki, H. Reichert, J. Okasinski, and H. Dosch, J. Synchrotron Rad. **13**, 426 (2006).
23. C. Ponchut, J. Rigal, J. Clément, E. Papillon, A. Homs, and S. Petitdemange, J. Instrum. **6**, C01069 (2011).
24. I. V. Kozhevnikov, L. Peverini, and E. Ziegler, Phys. Rev. B **85**, 125439 (2012).
25. R. Zhang, S. Tristram-Nagle, W. Sun, R. L. Headrick, T. C. Irving, R. M. Suter, and J. F. Nagle, Biophys. J. **70**, 349 (1996).
26. S. K. Sinha, E. B. Sirota, S. Garoff, and H. B. Stanley, Phys. Rev. B **38**, 2297 (1988).
27. X. Bai, L. Xiu, J. Y. Tang, Y. Y. Zuo, and G. Hu, Biophys. J. **117**, 1224 (2019).
28. И. В. Кожевников, Кристаллография **57**, 558 (2012).
29. G. Palasantzas, Phys. Rev. B **48**, 14472 (1993).
30. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Б. С. Роцин, В. Хонкимаки, М. Бланко, ЖЭТФ **159**, 5 (2021).
31. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Б. С. Роцин, И. С. Монахов, И. С. Смирнов, Письма в ЖЭТФ **104**, 880 (2016).
32. А. М. Тихонов, Ю. О. Волков, Б. С. Роцин, А. Д. Нуждин, В. Е. Асадчиков, Кристаллография **69**, 476 (2024).
33. Yu. A. Ermakov, V. E. Asadchikov, B. S. Roschin, Yu. O. Volkov, D. A. Khomich, A. M. Nesterenko, and A. M. Tikhonov, Langmuir **35**, 12326 (2019).
34. J. Hernández-Muños, F. Bresme, P. Tarazona, and E. Chaçon, J. Chem. Theory Comput. **18**, 3151 (2022).