

# О формировании макроскопически плоской фосфолипидной мембраны на гидрозольной подложке

А. М. Тихонов<sup>+1)</sup>, В. Е. Асадчиков\*, Ю. О. Волков\*

<sup>+</sup>Институт физических проблем им. Капицы РАН, 119334 Москва, Россия

\*Институт кристаллографии им. Шубникова РАН, 119333 Москва, Россия

Поступила в редакцию 3 августа 2015 г.

Методом рентгеновской рефлектометрии с использованием синхротронного излучения исследована зависимость структуры фосфолипидного слоя (DSPC и SOPC), адсорбированного на гидрозольной подложке, от концентрации NaOH в растворе 5-нанометровых частиц кремнезема. С помощью модельно-независимого подхода по экспериментальным данным восстановлены профили электронной концентрации (поляризуемости), согласно которым толщина липидной пленки может варьироваться от монослоя ( $\sim 35 \text{ \AA}$ ) до нескольких бислоев ( $\sim 450 \text{ \AA}$ ). При объемной концентрации NaOH  $\sim 0.5$  моль/л пленка на поверхности гидрозоля представляет собой макроскопически плоскую фосфолипидную мембрану (бислой) толщиной  $\sim 60 \text{ \AA}$  и с площадью, приходящейся на молекулу DSPC и SOPC,  $45 \pm 2$  и  $49 \pm 3 \text{ \AA}^2$  соответственно.

DOI: 10.7868/S0370274X15190157

Фосфолипидный бислой представляет собой простейшую модель клеточной мембраны [1–3]. Ранее нами сообщалось о способе получения макроскопически плоских мультислоев липидных мембран на сильно поляризованной подложке из водного раствора аморфных наночастиц кремнезема [4]. Применяв модельно-независимый подход при восстановлении профилей электронной концентрации [5, 6], из данных рентгеновской рефлектометрии мы установили, что толщина фосфолипидного мультислоя определяется параметрами гидрозоля, которые задают ширину поверхностного электрического двойного слоя: концентрацией ионов  $\text{Na}^+$ , уровнем pH и размером наночастиц. В частности, при определенных условиях на поверхности гидрозоля 5-нанометровых частиц спонтанно образуется макроскопически плоская фосфолипидная мембрана.

Пленки 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC) и 1-стеароил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (SOPC, см. рис. 1) приготавливались

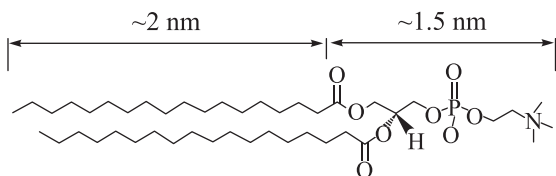


Рис. 1. Молекулярная структура фосфолипида DSPC

и изучались в соответствии с методикой, описанной в работе [4]. На поверхность жидкой подложки, помещенной во фторопластовую тарелку диаметром  $\sim 100$  мм, с помощью шприца высаживалась капля раствора фосфолипида в хлороформе объемом 10–20 мкл, содержащая достаточное количество вещества для того, чтобы при ее растекании по поверхности сформировать более десяти монослоев липида. Адсорбированная пленка при этом находится в равновесии с трехмерными агрегатами, в которые аккумулируется избыток поверхностно-активного вещества. Изменение поверхностного натяжения  $\gamma$  границы воздух–гидрозоль с  $\sim 74$  до  $\sim 50$ – $30$  мН/м регистрировалось по методу Вильгельми с помощью датчика поверхностного давления NIMA PS-2. Далее образец приводился в равновесие в герметичном одноступенчатом термостате при  $T = 298$  К в течение  $\sim 12$  ч.

Порошки и растворы в хлороформе синтетических DSPC и SOPC приобретались у Avanti Polar Lipids, а хлороформ ( $\sim 99.8\%$ ) – у Sigma-Aldrich. Гидрофобная часть молекул этих липидов ( $L_1 \approx 2$  нм) представляет собой две углеводородные цепи из 18 атомов углерода. Гидрофильная часть молекулы ( $L_2 \approx 1.5$  нм) образована глицерином и фосфохолином. Единственное отличие в строении DSPC и SOPC – это наличие у последнего двойной углеродной связи между 9-м и 10-м атомами в одной из углеводородных цепей. В молекуле DSPC (или  $\text{C}_{44}\text{H}_{88}\text{NO}_8\text{P}$ ) содержится  $\Gamma = 438$  электронов, а в

<sup>1)</sup>e-mail: tikhonov@kapitza.ras.ru

SOPC (или  $C_{44}H_{86}NO_8P$ ) – на два меньше ( $\Gamma = 436$ ).

Концентрированный монодисперсный золь Ludox FM, стабилизированный гидроксидом натрия, был предоставлен компанией Grace Davison. Этот водный раствор плотностью  $1.1 \text{ г/см}^3$  содержит кремнеземные аморфные частицы диаметром  $D \approx 5 \text{ нм}$  (16%  $\text{SiO}_2$ , 0.3% Na по массе и  $\text{pH} \approx 10$ ).

Обогащение гидрозоля NaOH проводилось в колбе путем его смешивания (взбалтывания и последующего помещения в ультразвуковую ванну Branson 2510) с раствором ( $\sim 5 \text{ моль/л}$ ) гидроксида щелочного металла (99.95% по содержанию металла, Sigma-Aldrich) в деионизированной воде (Barnstead UV). При этом очень важно, чтобы уровень pH-золя не превышал критического значения  $\text{pH}_c < 12$ , при котором происходит процесс коагуляции наночастиц [7].

Поперечное строение липидных пленок было исследовано методом рефлектометрии с использованием синхротронного излучения на станции X19C синхротрона NSLS, которая оборудована универсальным спектрометром для изучения поверхности жидкости [8]. Источником излучения для X19C является поворотный магнит с критической энергией  $\sim 6 \text{ кэВ}$ . В экспериментах использовался сфокусированный монохроматический рентгеновский луч с интенсивностью  $\approx 10^{11} \text{ ф/с}$  и энергией фотонов  $E = 15 \text{ кэВ}$  ( $\lambda = 0.825 \pm 0.002 \text{ \AA}$ ). Фокусировка луча с поперечным сечением на выходе из магнита 5 мм в высоту и 40 мм в ширину осуществлялась с помощью тороидального зеркала с фокусным расстоянием  $\sim 10 \text{ м}$ . Далее луч с диаметром поперечного сечения менее 1 мм отклонялся к поверхности образца, ориентированной силой гравитации, с помощью однокристалльного монохроматора (Si (111)). Таким образом, при измерении коэффициента отражения можно было перекрыть диапазон углов скольжения  $\alpha$  от 0 до  $\sim 8^\circ$ . Монохроматор спектрометра собран на основе трехкружного гониометра (Huber), имеет водяное охлаждение и расположен в герметичной емкости, заполненной газообразным гелием под небольшим избыточным давлением ( $\sim 10 \text{ торр}$ ). В эксперименте геометрические параметры падающего на поверхность образца луча, а также пространственное разрешение детектора контролировались с помощью щелей. В данной работе измерения коэффициента отражения были произведены с угловым разрешением детектора  $\Delta\beta \approx 0.02^\circ$  в вертикальной плоскости и  $\approx 0.8^\circ$  в горизонтальной.

Пусть  $\mathbf{k}_{in}$ ,  $\mathbf{k}_{sc}$  – волновые вектора падающего и рассеянного в направлении точки наблюдения лучей

соответственно. Вектор рассеяния  $\mathbf{q} = \mathbf{k}_{in} - \mathbf{k}_{sc}$  при зеркальном отражении ( $\alpha = \beta$ ) имеет только одну компоненту,  $q_z = (4\pi/\lambda) \sin(\alpha)$ , где  $\alpha$  и  $\beta$  – углы скольжения и рассеяния в плоскости, нормальной к поверхности (см. вставку к рис. 2).

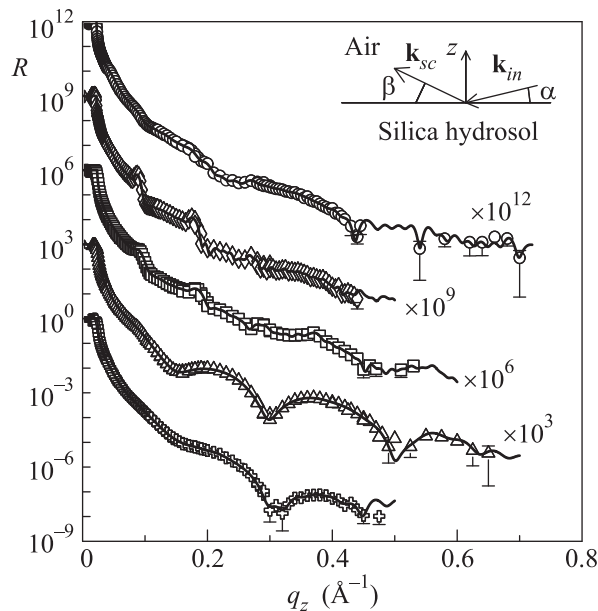


Рис. 2. Коэффициент отражения  $R$  границы воздух–гидрозоль с адсорбированной пленкой липида: кружки – монослой DSPC ( $\text{pH} \approx 10$ ); ромбы – мульти-слой DSPC ( $\text{pH} \approx 10$ ); квадраты – мульти-слой DSPC ( $\text{pH} \approx 11$ ); треугольники и кресты – бислой DSPC и SOPC, соответственно ( $\text{pH} \approx 11.5$ ); сплошные линии – результат расчета. Вставка:  $\mathbf{k}_{in}$ ,  $\mathbf{k}_{sc}$  – волновые вектора падающего и рассеянного в направлении точки наблюдения лучей соответственно

При измерении кривой отражения происходит усреднение влияния латеральных неоднородностей поверхности и приповерхностных слоев, так как характерная площадь области засветки образца зондирующим пучком  $\sim 10^2 \text{ мм}^2$ . Это позволяет рассмотреть восстановленные структуры в рамках представления идеальной слоисто-неоднородной среды.

Детальная реконструкция распределений поляризуемости среды  $\delta(z)$  по глубине  $z$  проводилась с использованием модельно-независимого подхода, основанного на экстраполяции асимптотики угловой зависимости коэффициента отражения в область больших  $\alpha$  [5, 6]. Предполагается наличие в реконструируемой структуре особых “точек разрыва”, в которых  $\delta(z)$  либо его  $n$ -я производная  $\delta^{(n)}(z)$  меняется скачкообразно:

$$D^{(n)}(z_j) \equiv \frac{d^n \delta}{dz^n}(z_j + 0) - \frac{d^n \delta}{dz^n}(z_j - 0), \quad (1)$$

где  $z_j$  – координата  $j$ -й точки разрыва. В свою очередь, в рамках первого борновского приближения асимптотическое поведение амплитудного коэффициента отражения имеет вид

$$r(q_z \rightarrow \infty) \simeq - \left( \frac{2\pi}{\lambda} \right)^2 \left( \frac{i}{q_z} \right)^{n+2} \sum_{j=1}^m D^{(n)}(z_j) e^{iq_z z_j}. \quad (2)$$

Подход [5] утверждает, что заданному сочетанию из  $m$  «точек разрыва»  $D^{(n)}(z)$  соответствует конечное число различных амплитудных коэффициентов отражения, описывающих экспериментально измеренное значение квадрата их модуля  $R$  в некотором интервале  $q_z$ . В частности, если расстояния между всеми «точками разрыва» различны, то существует всего два решения  $\delta(z)$ , удовлетворяющих требуемой асимптотике кривой отражения.

Процедура модельно-независимого восстановления профиля поляризуемости состоит из двух этапов. Сперва для исследуемой структуры посредством анализа зависимости  $Rq_z^{2n+4}$  определяются порядок и расположение «точек разрыва» (где  $n = 0, 1, 2, \dots$  – искомый порядок особых точек). Затем проводится численная оптимизация распределения  $\delta(z_1, \dots, z_M)$ , разбитого на большое число  $M \sim 100$  тонких слоев. При этом расчетная кривая отражения  $R_c$  подгоняется к экспериментально измеренной кривой  $R$  с применением стандартного алгоритма Левенберга–Марквардта [9].

В данной работе все экспериментальные кривые спадают  $\propto 1/q_z^6$ . Поэтому для описания структур достаточно использовать только особые точки 1-го порядка. В этом случае целевая функция невязки, обеспечивающая требуемое асимптотическое поведение угловой зависимости коэффициента отражения, имеет вид:

$$\begin{aligned} MF(\delta_1, \dots, \delta_M) = & \\ = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N & \left[ \log R(q_j) - \log R_c(q_j) \right]^2 + \\ + Q_1 \sum_{j \neq j_1, \dots, j_m}^{M-1} & (\delta_{j-1} + \delta_{j+1} - 2\delta_j)^2 + \\ + Q_2 \sum_{j=j_1 \dots j_m}^m & (\delta_{j+1} - \delta_j), \end{aligned} \quad (3)$$

где  $N$  – число экспериментальных точек,  $j_1, \dots, j_m$  – положения «точек разрыва»,  $Q_{1,2}$  – параметры, регулирующие точность подгонки ( $Q \approx 10^9$ ). Вторая сумма в (3) обеспечивает непрерывность профиля  $\delta(z)$  в интервалах между точками разрыва  $z_1, \dots, z_n$ , а третья – 1-й порядок точек разрыва.

Восстановленному профилю  $\delta(z)$  соответствует распределение электронной концентрации  $\rho(z)$  [10]:

$$\rho = \frac{2\pi}{r_0 \lambda^2} \delta, \quad (4)$$

где  $r_0 = 2.814 \cdot 10^{-5} \text{ \AA}$  – классический радиус электрона. Далее зависимость  $\rho(z)$  можно использовать, например, для оценки площади  $A$  на одну молекулу в монослой толщиной  $d = z_2 - z_1$ :

$$A = \frac{\Gamma}{\int_{z_1}^{z_2} \rho(z) dz}. \quad (5)$$

На рис. 2 символами представлены экспериментальные зависимости коэффициента отражения  $R(q_z)$  для границ воздух–гидрозоль 5-нанометровых частиц с адсорбированной пленкой липида. Кружки соответствуют поверхности золя с pH  $\approx 10$  (Ludox FM), количества высаженного на которой DSPC недостаточно для формирования однородного монослоя на всей поверхности подложки. Период осцилляции  $R$  для этой системы  $\Delta q_z \approx 0.25 \text{ \AA}^{-1}$ , что предполагает наличие в области засветки адсорбированного слоя толщиной в монослой ( $\sim 2\pi/\Delta q_z \approx 30 \text{ \AA}$ ). Ромбами показана зависимость  $R(q_z)$  для той же поверхности золя с pH  $\approx 10$ , но с однородным мультислоем DSPC. Квадратами представлена поверхность обогащенного NaOH ( $\sim 0.3$  моль/л) золя с pH  $\approx 11$  с мультислоем того же фосфолипиды. Последние две зависимости аналогичны ранее опубликованным данным для гидрозольных подложек с частицами кремнезема диаметром  $\sim 22$  нм и pH  $\approx 9$  [4]. Кривые, представленные треугольниками (слой DSPC) и крестами (слой SOPC), получены для подложек, обогащенных NaOH ( $\sim 0.5$  моль/л), с pH  $\approx 11.5$ . Период осцилляций  $R$  на этих кривых  $\Delta q_z \approx 0.15 \text{ \AA}^{-1}$ , т.е. толщина адсорбированного слоя  $\sim 2\pi/\Delta q_z \approx 50 \text{ \AA}$  (бислой).

Согласно восстановленному для монослоя DSPC профилю  $\rho(z)$  (рис. 3а, где  $\rho_w = 0.333 e^-/\text{\AA}^3$  – электронная концентрация в воде при нормальных условиях) его толщина  $36 \pm 2 \text{ \AA} \approx L_1 + L_2$ , т.е. все молекулы преимущественно ориентированы вдоль нормали к поверхности. Несмотря на то что расчетная площадь на молекулу  $A = 44 \pm 2 \text{ \AA}^2$  хорошо согласуется со значением для кристаллического монослоя, электронная концентрация в области гидрофильной группы все же меньше, чем в модельном распределении (штриховая линия на рис. 3а) для монослоя DSPC из работы [4]. Это, по-видимому, свидетельствует о неполном заполнении липидного слоя.

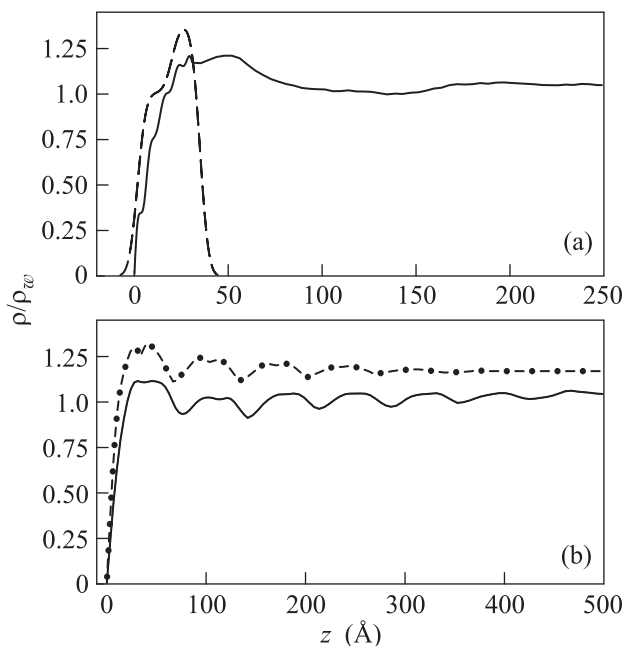


Рис. 3. Восстановленные профили распределений  $\rho(z)$ , нормированные на электронную концентрацию в воде при нормальных условиях,  $\rho_w = 0.333 e^-/\text{Å}^3$ . (a) – Сплошная линия – монослой DSPC на поверхности гидрозольа  $\sim 5$ -нанометровых частиц, штриховая линия – модельное распределение электронной концентрации для монослоя DSPC [4]. (b) – Сплошная линия – мультислой DSPC на гидрозольной подложке с  $\text{pH} \approx 10$ , штрихпунктир – мультислой того же липида на подложке с  $\text{pH} \approx 11$

Непосредственно к монослою примыкает слой с повышенной плотностью  $\rho \approx 1.2\rho_w$  толщиной  $\approx 50 \text{ Å}$ , а следом идет слой толщиной  $\sim 80 \text{ Å}$  с электронной концентрацией  $\approx \rho_w$ . Мы связываем формирование двух последних слоев с явлением конденсации наночастиц кремнезема на границе монослоя, образованной гидрофильными группами [11].

Профиль мультислоя DSPC на поверхности гидрозольа с  $\text{pH} \approx 10$  (сплошная линия на рис. 3b) представляет собой 6-слойную структуру (полная толщина  $\sim 450 \text{ Å}$ ) с периодом между “точками разрыва”  $72 \pm 2 \text{ Å}$ , что соответствует удвоенному значению длины молекулы DSPC. Предполагая, что каждый из наблюдаемых слоев эквивалентен молекулярному бислою, получаем расчетное значение  $A = 39 \pm 1 \text{ Å}^2$ . В то же время по экспериментальным данным скользкой дифракции  $A = 41.6 \pm 0.7 \text{ Å}^2$  [4]. Таким образом, согласно (5) избыточное число электронов на молекулу липида составляет  $32 \pm 9$ , что соответствует  $\sim 3$  молекулам  $\text{H}_2\text{O}$  и/или ионам  $\text{Na}^+$ . Толщина мультислоя DSPC на подложке с  $\text{pH} \approx 11$  за-

метно меньше ( $\sim 300 \text{ Å}$ ; штрихпунктирная линия на рис. 3b). Он представляет собой 4-слойную структуру с периодом между “точками разрыва”  $68.1 \pm 0.9 \text{ Å}$  и расчетным значением  $A = 34 \pm 2 \text{ Å}^2$ . Таким образом, “избыток” электронов на одну молекулу липида составляет  $86 \pm 2$ , что соответствует  $\sim 9$  молекулам  $\text{H}_2\text{O}$  и/или ионам  $\text{Na}^+$ .

На рис. 4а показан профиль электронной концентрации для тонкой пленки липида DSPC на гидро-

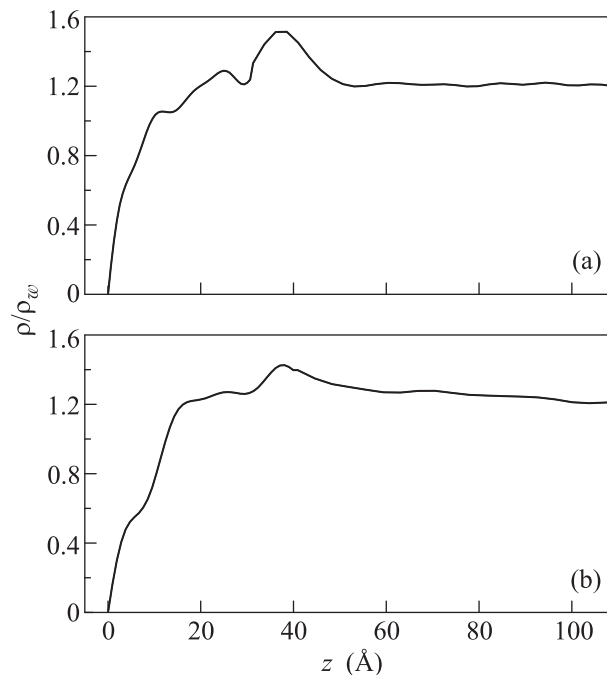


Рис. 4. Восстановленные профили распределений  $\rho(z)$ , нормированные на электронную концентрацию в воде при нормальных условиях,  $\rho_w = 0.333 e^-/\text{Å}^3$ , для мембраны из DSPC (a) и SOPC (b) на подложке с  $\text{pH} \approx 11.5$

золе, сильно обогащенном  $\text{NaOH}$  ( $\sim 0.5$  моль/л,  $\text{pH} \approx 11.5$ ). Одна из “точек разрыва” в нем расположена на глубине  $30.6 \text{ Å}$ . Предполагая, что положение этой особой точки соответствует границе раздела между внешним и внутренним монослоями, получаем  $A = 45 \pm 2 \text{ Å}^2$ .

К этой границе прилегает более плотный слой толщиной  $\sim 20 \text{ Å}$ . С одной стороны, его толщина немного меньше, а интегральная плотность близка к значению интегральной плотности монослоя DSPC. С другой стороны, толщина этого слоя более чем в два раза меньше характерного диаметра частиц в объеме исходного золя ( $\approx 5 \text{ нм}$ ). Если этот слой образован коллоидными частицами, то необходимо предположить, что с увеличением концентрации натрия в растворе их радиус существенно уменьшается. Однако при высокой концентрации  $\text{Na}^+$  экспериментально

**Таблица 1.** Параметры структур на поверхности золя 5-нанометровых частиц SiO<sub>2</sub>, стабилизированного NaOH\*)

Структура	Фосфолипид	pH	$L, \text{Å}$	$A, \text{Å}^2$
Монослой	DSPC	10	$36 \pm 2$	$44 \pm 2$
Бислой в мультислой	DSPC	10	$72 \pm 2$	$41.6 \pm 0.7$
Бислой в мультислой	DSPC	11	$68 \pm 1$	$41.6 \pm 0.7$
Бислой	DSPC	11.5	$60 \pm 2$	$45 \pm 2$
Бислой	SOPC	11.5	$60 \pm 2$	$49 \pm 3$

\*)  $L$  – толщина слоя;  $A$  – площадь поверхности, приходящаяся на одну молекулу липида.

наблюдается обратный процесс – коагуляция частиц, проявляющаяся, например, в помутнении раствора [7]. Это позволяет интерпретировать данное распределение как профиль липидного бислоя на поверхности гидрозоля.

Для пленки липида SOPC на подложке с pH  $\approx 11.5$  толщина уплотненной области превышает  $60 \text{ Å}$  (рис. 4b). При этом  $\rho(z)$  плавно спадает по глубине, выраженной границы раздела между пленкой и подложкой не наблюдается. Также не обнаружено отчетливого расслоения наночастиц кремнезоля в приповерхностной области. Отметим, что на глубине до  $57 \text{ Å}$  интегральная плотность всей наблюдаемой структуры более чем в два раза превосходит теоретическое значение для монослоя этого липида. Предположив количество SOPC в пленке равным двум (трем) монослоям, то получим  $A = 49 \pm 3 \text{ Å}^2$  ( $65 \pm 3 \text{ Å}^2$ ). Только второе значение находится в согласии с оценкой величины  $A$  для бислойных стенок везикул SOPC в водных суспензиях [12].

Профили электронной концентрации для пленок DSPC и SOPC на рис. 4 имеют очень схожую структуру. Вместе с тем фосфолипиды DSPC и SOPC имеют различные температуры фазового перехода  $T_c$ , связанного с плавлением углеводородных цепей (*chain-melting transition*) [2]. Для первого фосфолипида  $T_c \approx 55 \text{ °C}$ , что объясняет формирование макроскопически плоской кристаллической мембраны ( $A = 45 \pm 2 \text{ Å}^2$ ). Для SOPC  $T_c \approx 6 \text{ °C}$ , и при этом параметр  $A$  на  $\sim 10\%$  больше, чем у DSPC. Таким образом, при комнатной температуре мембрана SOPC, возможно, находится в жидком агрегатном состоянии.

Отметим, что для последних двух систем интервал  $z$ , в котором поверхностная электронная концентрация отличается от объемной,  $\rho_b \approx 1.2\rho_w$ , шире толщины бислоя ( $\sim 60 \text{ Å}$ ) на  $50\text{--}60 \text{ Å}$ . Возможно, образование этой переходной области связано с конденсацией наночастиц кремнезоля на границе липидной мембраны [11].

Ранее показано, что на границе воздух–кремнезоль существует чрезвычайно широкий переходный слой (электрический двойной слой), возникающий благодаря разнице в потенциалах сил электрического изображения для катионов Na<sup>+</sup> и отрицательно заряженных наночастиц кремнезоля (макроионов) [13]. Его ширина определяется дебаевской длиной экранирования  $\Lambda_D$  в объеме раствора [1]. Добавление в состав золя гидроксида натрия приводит к смещению в нем химического равновесия, сопровождающемуся ростом значения pH раствора, или объемной концентрации  $c^-$  ионов OH<sup>-</sup>. Поскольку  $\Lambda_D \propto 1/\sqrt{c^-}$ , увеличение pH приводит к сужению поверхностного двойного слоя [14].

Совокупность полученных нами данных свидетельствует о том, что полная толщина адсорбированного мультислоя DSPC  $\sim \Lambda_D$  (см. табл. 1). Обогащение гидрозолевой подложки NaOH приводит к уменьшению в несколько раз максимальной толщины адсорбированного липидного слоя в соответствии с уменьшением  $\Lambda_D$ . При pH  $\approx 10$  ( $\Lambda_D \sim 300 \text{ Å}$ ) на поверхности гидрозоля формируется самый толстый ( $\sim 450 \text{ Å}$ ) мультислой из шести бислоев DSPC, при pH  $\approx 11$  ( $\Lambda_D \sim 100 \text{ Å}$ ) мультислой толщиной  $\sim 300 \text{ Å}$  состоит из четырех бислоев, а при pH  $\approx 11.5$  ( $\Lambda_D \sim 50 \text{ Å}$ ) образуется один бислой. При этом ориентированная упаковка молекул внутри каждого бислоя соответствует двумерному кристаллу фосфолипида.

Таким образом, восстановленные с помощью модельно-независимого подхода профили электронной концентрации демонстрируют, что толщина адсорбированной на поверхности гидрозоля пленки DSPC по порядку величины совпадает с дебаевской длиной экранирования в подложке. При объемной концентрации NaOH  $\sim 0.5$  моль/л и pH  $\approx 11.5$  на поверхности гидрозоля формируется макроскопически плоская фосфолипидная мембрана толщиной  $\sim 60 \text{ Å}$  с величиной  $A$ , характерной для двумерного кристалла (гексагональная фаза  $P_{6v}$ , [2, 4]). В случае

SOPC A как минимум на  $\sim 10\%$  больше, чем для бислоя DSPC. В этом случае возможно образование жидкой мембраны толщиной  $\sim 60 \text{ \AA}$  (фаза  $L_\alpha$  [2]).

Синхротрон NSLS использовался при поддержке Департамента энергетики США по контракту #DE-AC02-98CH10886. Станция X19C финансировалась из фондов ChemMatCARS, Университета Чикаго, Университета Иллинойса в Чикаго и Университета Стони Брук. Авторы благодарны компании Grace Davison за предоставление растворов коллоидного кремнезема Ludox. Работа частично поддержана РФФИ (грант # 15-32-20935).

1. A. W. Adamson, *Physical Chemistry of Surfaces*, 3rd ed., John Wiley & Sons, N.Y. (1976).
2. D. M. Small, *The Physical Chemistry of Lipids*, Plenum Press, N.Y. (1986).
3. Д. А. Лось, *Десатуразы жирных кислот*, Научный мир, М. (2014).
4. А. М. Тихонов, Письма в ЖЭТФ **92**, 394 (2010).
5. I. V. Kozhevnikov, Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. A **508**, 519 (2003).
6. I. V. Kozhevnikov, L. Peverini, and E. Ziegler, Phys. Rev. B **85**, 125439 (2012).
7. J. Depasse and A. Watillon, J. Coll. Int. Sci. **33**, 430 (1970).
8. M. L. Schlossman, D. Synal, Y. Guan, M. Meron, G. Shea-McCarthy, Z. Huang, A. Acero, S. M. Williams, S. A. Rice, and P. J. Viccaro, Rev. Sci. Instrum. **68**, 4372 (1997).
9. J. Nocedal and S. Wright, *Numerical Optimization*, 2nd ed., Springer (2006).
10. B. L. Henke, E. M. Gullikson, and J. C. Davis, Atomic Data and Nuclear Data Tables **54**, 181 (1993).
11. 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).
12. N. Kučerka, M.-P. Mieh, and J. Katsaras, Bio. Bio. Acta **1808**, 2761 (2011).
13. А. М. Тихонов, J. Phys. Chem. C **111**, 930 (2007).
14. А. М. Тихонов, J. Chem. Phys **124**, 164704 (2006).