

07;12

Рентгеноструктурные исследования влияния фотодублирования на структуру эмульсионного слоя самопроявляющегося дихромированного желатина, сенсibilизированного красителем метиленовым голубым

© Ю.С. Загайнова, С.С. Колесников

Иркутский государственный университет
E-mail: yuliazagainova@mail.ru

Поступило в Редакцию 10 июня 2003 г.

Исследованы особенности структурной организации эмульсионных слоев на основе самопроявляющегося дихромированного желатина, сенсibilизированного красителем метиленовым голубым с влагосодержанием 76%. Приводятся картины дифракции рентгеновских лучей $I(2\theta)$ для данных эмульсионных слоев. Для аморфного состояния рассчитаны функции рассеяния. Рассмотрены отличия структуры фотослоя экспонированных образцов от неэкспонированных. Показано, что в процессе записи происходит упорядочивание структуры фотослоя, вызванное изменениями конформационных состояний макромолекул желатина.

1. Введение. В процессе фотодублирования возникают особенности структурной организации, связанные с самопроявлением дихромированного желатина, сенсibilизированного красителем метиленовым голубым при 76% -ном влагосодержании слоя. Кроме первичных фотохимических процессов необходимо учитывать особенности строения и изменения конформационных состояний макромолекул желатина в слое, влияющие на характеристики записанных голограмм.

Рентгеноструктурные и электронно-микроскопические исследования белков типа коллагена показывают, что в структуре этого белка имеются упорядоченные (кристаллические) и неупорядоченные (аморфные) участки. Структурные особенности коллагеновых белков определяются аминокислотным составом. Они позволили выделить их в одну группу фибриллярных белков и отнести к типу кератина—миози-

на-фибриногена [1,2]. Аминокислотные остатки участвуют в стабилизации внутримолекулярной структуры макромолекул желатина и образуют межмолекулярные водородные связи, формируя четвертичное конформационное состояние макромолекул. Характерными признаками рентгенограммы коллагенового типа являются: наличие максимума интенсивности с $s/2 = 2.86 \text{ \AA}$, присутствие сильного рефлекса с $s/2 = 11.4 \text{ \AA}$ и диффузного максимума с $s/2 = 4.6 \text{ \AA}$ (где s — координата в обратном пространстве). Считается, что интерференционные максимумы, равные расстоянию 2.86 \AA , соответствуют длине одного аминокислотного остатка, а межплоскостные расстояния $d = 11.4$ и 4.6 \AA соответствуют расстоянию между боковыми цепями аминокислотных остатков, располагающихся под прямыми углами к оси полипептидных цепей [1,3]. В спектрах рентгеновской дифракции желатина также проявляются характерные диффузные пики с $s/2 = 4.6 \text{ \AA}$ и $s/2 = 11.2 \text{ \AA}$, свидетельствующие о наличии в структуре желатиновых слоев участков в конформации спирали и клубка, подобных денатурированному белку. В то же время преимущественное конформационное состояние определяется не только концентрацией желатины, но и рН и ионной силой среды, температурой, а также наличием в системе дубителей — ионов металлов, нейтральных солей.

Поэтому задачей исследований являлось выявление изменений структуры эмульсионного слоя в процессе записи голограмм при варьировании параметров синтеза и влагосодержания, фотодублирования.

2. Экспериментальные установки и метод приготовления образцов. Нами проводились исследования ламинированных эмульсионных слоев с эффектом самопроявления на основе дихромированного желатина, сенсibilизированного красителем метиленовым голубым. Для синтеза слоев использовали фотографический желатин, который предварительно растворяли в дистиллированной воде при $T = 22^\circ\text{C}$ в течение часа. Приготовление эмульсионного раствора осуществлялось при температуре $T_1 = 43^\circ\text{C}$. К водному раствору желатина добавляли глицерин, бихромат аммония и 0.001% водного раствора метиленового голубого. Полученный раствор заливали в кювету с высотой стенок, определяющей в дальнейшем толщину эмульсионного слоя (2 mm). Время созревания слоев составило 24 h при температуре $T_2 = 15^\circ\text{C}$.

Далее проводились исследования изменений дифракционной эффективности (ДЭ) от энергии экспозиции (E) с помощью голографической установки для записи голограмм плоских волн. Проектирование голо-

графической установки осуществлялось методом деления амплитуды [4]. В качестве источника излучения использовался He–Ne-лазер ЛГ220. Мощность лазера составляла $P_L = 20 \text{ mW}$. Пространственная частота записанных голографических структур $\sim 800 \text{ lines/mm}$. Измерения дифракционной эффективности проводились с помощью кремниевого фотодиода FD типа ФД-7К.

Изучение динамики структуры фотослоя от влагосодержания проводилось с помощью рентгенографических исследований в широкоугловой области дифракции (съемки на просвет и на отражение) на дифрактометре ДРОН-3Р с гониометром ГУР-8, сфокусированным по схеме Брэгга–Брентано. В работе использовались рентгеновская трубка с медным анодом. Картины дифракции $I(2\theta)$ получали в режиме автоматического непрерывного сканирования детектора. В качестве дополнительного метода исследования структуры фотослоя использовался фотометод [5–7].

Для нормированных кривых интенсивности $I(2\theta)$ рассчитывались корреляционные кривые радиального распределения центров атомов в веществе $f(r) = 4\pi r^2(z_p(r) - z_{cp}(r))$ [5–7].

3. Полученные экспериментальные результаты и обсуждение. Максимально достижимая дифракционная эффективность ($D_{\text{Эmax}}$) при использовавшихся условиях синтеза и толщине эмульсионного слоя 2 mm составила 45% при энергии экспозиции $E = 40 \text{ mJ/cm}^2$. Этот результат превышает на 32% значения ($D_{\text{Эmax}}$) с ранее использовавшимися эмульсионными средами [2] для записи голограмм с толщиной слоя 2 mm и пространственной частотой 800 lines/mm.

С помощью рентгеноструктурного анализа удалось выявить особенности структурной организации полученных фотослоев до записи голограмм, а также вклад экспонирования. Для этого снимались картины дифракции $I(2\theta)$ при съемке на просвет и на отражение для всех исследуемых образцов (рис. 1). Широкоугольные рентгенографические исследования и фотометод показали, что структура фотослоев является полностью аморфной. При этом выявлены существенные отличия структурной организации экспонированных и неэкспонированных эмульсионных слоев при сравнении поведения кривых интенсивности $I(2\theta)$. В этих кривых наблюдаются три диффузных пика на углах 2θ : $2\theta_1 = 9.4^\circ$, $2\theta_2 = 27.3^\circ$, $2\theta_3 = 42^\circ$ (рис. 1). Наличие диффузных пиков говорит о равновесной разупорядоченности во всех направлениях. Уменьшение интенсивности и полуширины диффузного пика $2\theta_1$ для экспониро-

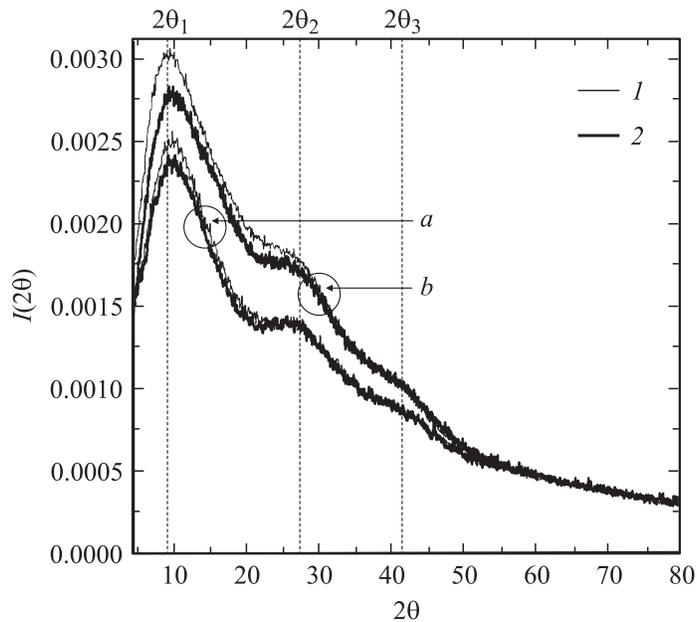


Рис. 1. Интенсивность дифракции рентгеновских лучей $I(2\theta)$ для образцов самопроявляющегося дихромированного желатина, сенсibilизированных в красной области спектра: a — дифракция для съемки на отражение, b — на просвет; 1 — для неэкспонированных образцов, 2 — для экспонированных образцов.

ванных образцов свидетельствует об упорядочивании системы по мере облучения He–Ne-лазером. Одновременно происходит уменьшение полуширины диффузного пика $2\theta_2$. Данные изменения кривой интенсивности рассеяния для эмульсионных слоев после экспонирования наиболее выражены для съемки на отражение. Это говорит о том, что во время записи происходит изменение структуры преимущественно в плоскостях (сечениях), параллельных поверхности эмульсионного слоя (или подложки, на которой производилось созревание), и оно определяется параметрами синтеза. При параметрах синтеза слоев, отличающихся от приведенных выше, не удалось зарегистрировать диффузный пик $2\theta_3$. При этом максимально достижимая дифракционная

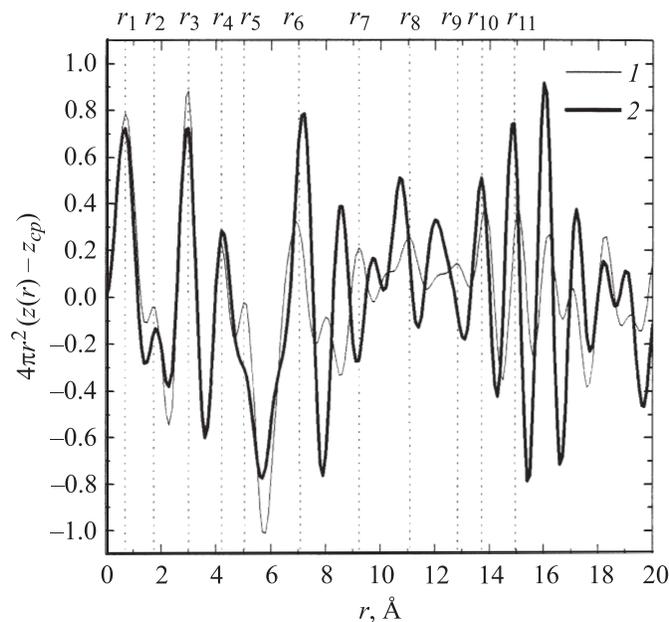


Рис. 2. Корреляционные кривые радиального распределения центров атомов в веществе при съемке на отражение: 1 — дифракция для неэкспонированных образцов, 2 — для экспонированных образцов.

эффективность записанных в слое голограмм уменьшается в два раза при пространственной частоте 800 lines/mm.

Рассмотрим средние межатомные расстояния, наблюдающиеся в слое, полученные путем построения корреляционных функций рассеяния по экспериментальным кривым интенсивности рассеяния $I(2\theta)$. Погрешность приведенных на рис. 2 средних межатомных расстояний (r_i) определяется погрешностью оборудования и ограниченностью кривой экспериментальных данных. Поскольку все межатомные расстояния, превышающие $r \sim 15 \text{ \AA}$, менее вероятны, то в работе они не приводятся.

После экспонирования не выявлено изменений в значениях средних межатомных расстояний для съемок на просвет. Поэтому для выявления влияния фотодублиения на структуру эмульсионного слоя в дальнейшем будем рассматривать средние межатомные расстояния при съемках на

отражение для неэкспонированных и экспонированных образцов. Для неэкспонированных образцов при съемке на просвет и на отражение выявлены следующие расстояния r_i : $r_1 = 0.7 \text{ \AA}$, $r_2 = 1.7 \text{ \AA}$, $r_3 = 3 \text{ \AA}$, $r_4 = 4.2 \text{ \AA}$, $r_5 = 5 \text{ \AA}$, $r_6 = 7 \text{ \AA}$, $r_7 = 9.1 \text{ \AA}$, $r_8 = 11.2 \text{ \AA}$, $r_9 = 12.7 \text{ \AA}$, $r_{10} = 13.7 \text{ \AA}$, $r_{11} = 15 \text{ \AA}$ (рис. 2).

Рассмотрим функцию рассеяния для экспонированных образцов при съемке на отражение (рис. 2). Как и в случае съемки на просвет, выявлены расстояния r_1, r_2 . Отметим, что данные расстояния r_i наблюдаются для всех студнеобразных эмульсионных слоев, полученных на основе водного раствора желатина. Для сухих эмульсионных слоев данные расстояния отсутствуют. Полученные экспериментальные данные и исследования других авторов, связанные со структурой воды при нормальных условиях [5,6], позволяют отнести расстояния r_1, r_2 к вкладу молекул „объемной воды“ [8], находящейся в фотослое, и/или наличию гидратной оболочки, образованной в результате взаимодействия молекул растворителя-воды с молекулами желатина. Зная химическую формулу макромолекулы желатина [9] и используя таблицу атомных радиусов [10], расстояния r_3 мы отнесли к участку пептидной цепи ($-\text{N}-\text{C}-\text{C}-$), который повторяется на протяжении всей длины молекулы. Расстояния r_4 в литературе относят к расстоянию между аминокислотными остатками [3,11], но, на наш взгляд, их правильнее отнести к участку пептидной цепи ($-\text{N}-\text{C}-\text{N}-$), так как атом N образует устойчивую химическую связь с аминокислотными остатками. Перечисленные расстояния, наблюдающиеся как на просвет, так и на отражение, для экспонированных и неэкспонированных образцов подтверждают сделанный выше вывод об аморфном состоянии вещества.

Рассмотрим отличия корреляционных функций рассеяния для экспонированного и неэкспонированного эмульсионных слоев. Как предполагается [2], при созревании эмульсионного слоя реализуются участки молекул желатина, находящиеся преимущественно в состоянии α -спирали. Период спирали примерно 5 \AA . Запись в слоях дихромированного желатина осуществляется путем протекания первичных фотохимических процессов [1], а также за счет изменения вторичного конформационного состояния или специально организованного фазового перехода „спираль \rightarrow клубок“ [2]. Поэтому выявленные расстояния r_5 (рис. 2) мы отнесли к спиральному конформационному состоянию молекул желатина. Таких расстояний не выявлено для экспонированных образцов при съемке на отражение, т.е. кроме изменений вторичных конформацион-

ных состояний по мере записи выявлено, что участки молекул желатина с α -спиралью, участвующие в записи, расходуются преимущественно в сечениях фотослоя параллельно подложке. Рассмотрим $f(r)$ на интервале значений межатомных расстояний $r_1 \in (6; 14) \text{ \AA}$ (рис. 2). Наблюдается смещение межатомных расстояний для экспонированных образцов в сторону меньших значений. Это связано с уменьшением расстояний между соседними макромолекулами желатина при записи в результате процесса фотодублирования. Также следует отметить, что после экспонирования образцов самопроявляющегося дихромированного желатина интенсивность кривой $f(r)$ для средних межатомных расстояний r_1 при съемке на просвет имеет меньшую интенсивность по сравнению с неэкспонированными образцами. Это говорит о перераспределении „объемной воды“ в системе при записи голограмм.

Заключение. При рентгеноструктурных исследованиях толстых эмульсионных слоев самопроявляющегося желатина, сенсibilизированного в красной области спектра, удалось выявить, что структура слоя является полностью аморфной. При облучении образцов светом He–Ne-лазера наблюдается упорядочивание структуры преимущественно в сечениях фотослоя, параллельных подложке, на которой осуществлялось созревание эмульсии. Выявлены внутрискруктурные изменения, связанные с перераспределением „объемной“ воды в эмульсионном слое по мере экспонирования, за счет которых, возможно, осуществляется изменение профиля показателя преломления слоя, необходимое для записи голограмм.

Список литературы

- [1] Крюков А.И., Шерстюк В.П., Дилунг И.И. Фотоперенос электрона и его прикладные аспекты. Киев: Наук. думка, 1982. 240 с.
- [2] Коноп А.Г., Коноп С.П., Малов А.Н. // Голографические методы исследования в науке и технике. Ярославль: ЯГПУ, 1977. С. 115–123.
- [3] Вайнштейн Б.К. Дифракция рентгеновых лучей на цепных молекулах. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 372 с.
- [4] Милер М. Голография / Пер. с чеш. Л.: Машиностроение, Ленингр. отд-ние, 1979. 207 с.
- [5] Скрышевский А.Ф. Структурный анализ жидкостей и аморфных тел. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Высш. школа, 1980. 328 с.

- [6] *Скрышевский А.Ф.* Структурный анализ жидкостей. Рентгенография. Нейтроноэлектрография. М.: Высшая школа, 1971. 256 с.
- [7] *Физические методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Сб.* / Под ред. проф. Ю.С. Лазуткина. М.: Наука, 1967. 324 с.
- [8] *Измайлова В.Н., Ямпольская Г.П., Сумм Б.Д.* Поверхностные явления в белковых системах. М.: Химия, 1988. 240 с.
- [9] *Миз К., Джеймс Т.* Теория фотографического процесса. Л.: Химия, Ленингр. отд-е, 1973. 950 с.
- [10] *Миркин Л.И.* Справочник по рентгеноструктурному анализу поликристаллов. М.: Физматгиз, 1961. 864 с.
- [11] *Голза Ю.П., Кузилин Ю.Е., Мельниченко Ю.Б., Шилов В.В.* // Успехи научной фотографии. Т. XXVI. С. 124–136.