

**Thermodynamik der Demizellierung und Solubilisierung von
Alkylglucosiden mit ausgewählten Phospholipiden sowie
das rheologische Verhalten der Solubilisierung am Beispiel
Octylglucosid / Dimyristoylphosphatidylglyzerol**

Vom Fachbereich Chemie der
Universität Kaiserslautern
zur Verleihung des akademischen Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
genehmigte Dissertation
(D 386)

von

Dipl. Chem. Matthias Keller

Betreuer: Prof. Dr. A. Blume

Kaiserslautern 2001

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 6. Juli 2001

Prüfungskommission:

Vorsitzender: Prof. Dr. E. Vilsmaier

1. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Blume

2. Berichterstatter: Prof. Dr.-Ing. S. Ernst

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von November 1995 bis April 2001
im Fachbereich Chemie der
Universität Kaiserslautern / Martin Luther Universität Halle a.d. Saale

Ich danke Herrn Prof. Dr. A. Blume für die interessante Thematik, die wohlwollende Unterstützung und den mir gewährten Freiraum während der Anfertigung dieser Arbeit.

Meinem Vater gewidmet

1 Einleitung	8
1.1 Amphiphile	8
1.2 Biologische Membranen	9
1.3 Lipide	10
1.4 Detergentien	14
1.5 Der hydrophobe Effekt	15
2 Problemstellung	19
3 Experimenteller Teil	20
3.1 Chemikalien	20
3.1.1 Tenside	20
3.1.2 Lipide	21
3.1.2.1 Sojalezithine:	21
3.1.2.2 Synthetische Lipide	21
3.2 Probenvorbereitung	22
3.2.1 Herstellung der Lipidvesikel	22
3.2.2 Herstellung der Lipidgemische für die Solubilisierung	22
3.2.3 Herstellung der Lipidvesikel und der Detergens-Lipid-Gemische für das DSC Experiment	23
3.2.4 Herstellung von Detergenslösungen	23
3.2.5 Herstellung der Pufferlösungen	23
3.3 Instrumentierung	24
3.4 DTC - Gerät	26
3.4.1 Aufbau und Funktionsweise	26
3.4.2 Durchführung des Demizellisierungsexperiments	28
3.4.3 Durchführung des Solubilisierungsexperiments	28
3.4.4 Durchführung des Verteilungsexperiments	28
3.5 DSC-Gerät	29
3.5.1 Aufbau und Funktionsweise	29
3.5.2 Durchführung des DSC Experiments	29
3.6 Vesikelgrößenbestimmung mittels der „Dynamischen Lichtstreuung“ (DLS)	29
3.6.1 Meßprinzip	29
3.6.2 Durchführung des DLS-Titrationsexperiments	30
3.7 Fluoreszenzspektrometer	30

3.7.1 Aufbau und Funktionsweise	30
3.7.2 Durchführung des Titrationsexperiments	31
3.8 Rotationsviskosimeter	31
3.8.1 Aufbau und Funktionsweise	31
3.8.2 Durchführung der Viskositätsmessung	32
4 Ergebnisse	33
4.1 Allgemeines Phasendiagramm	33
4.2 Demizellisierung von OG und DM	35
4.2.1 Bestimmung der CMC und der Demizellisierungsenthalpie	35
4.2.2 Berechnung der thermodynamischen Größen ΔG_{Demiz} , ΔS_{Demiz} und $\Delta C_{\text{P}_{\text{Demiz}}}$ sowie die Bestimmung von T_{H} und T_{S}	37
4.2.3 OG in Wasser	41
4.2.4 OG in 5 mM NaCl-Puffer	43
4.2.5 OG in 1 M NaCl-Puffer	44
4.2.6 DM in Wasser	45
4.2.7 DM in 1 M NaCl-Puffer	46
4.2.8 Bestimmung von T_{H} , T_{S} und $\Delta C_{\text{P}_{\text{Demiz}}}$	47
4.2.9 Diskussion und Zusammenfassung	48
4.3 Solubilisierung	52
4.3.1 Kettenlängenabhängigkeit von $R_{\text{e}}^{\#}$ der Lezithine solubilisiert mit OG in Wasser und in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C	56
4.3.2 Kopfgruppenabhängigkeit von $R_{\text{e}}^{\#}$ für die Solubilisierung mit OG in Wasser und pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C	59
4.3.3 Kettenlängenabhängigkeit von $R_{\text{e}}^{\#}$ der Lezithine solubilisiert mit DM in Wasser und in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C	61
4.3.4 Kopfgruppenabhängigkeit der Lipide solubilisiert mit DM in pH6 Phosphatpuffer	63
4.3.5 Temperaturabhängigkeit der Phasengrenzen und T_{H} -Bestimmung am Beispiel Octylglucosid / Phospholipon P90/90g	65
4.3.6 Solubilisierung in Abhängigkeit der Vesikelgröße	68
4.3.7 Solubilisierung von DMPC / DMPG Gemischen mit OG in pH 6 Phosphatpuffer	69
4.3.8 Diskussion und Zusammenfassung	72
4.4 Verteilungsexperimente	75
4.4.1 Titration von Lipidvesikeln zu Detergensmonomeren	76
4.4.2 Titration von Detergensmonomeren zu Lipidvesikeln	79
4.4.2.1 Abhängigkeit von der Vesikelgröße	81
4.4.2.2 Konzentrationsabhängigkeit	81
4.4.3 Diskussion und Zusammenfassung	82

4.5 Differenz Scanning Kalorimetrie DSC	84
4.5.1 Phasenübergangstemperaturen in Abhängigkeit der Detergenskonzentration am Beispiel OG / DPPC	85
4.5.2 Diskussion und Zusammenfassung	90
4.6 Lichtstreuung und visuelle Bestimmung des Koexistenzbereichs	91
4.6.1 OG/DMPC in Wasser bei 27 °C	91
4.6.2 OG/P90g in Wasser bei 27 °C	96
4.6.3 OG/DMPG in pH 6 Phosphatpuffer bei 27 °C	97
4.6.4 Diskussion und Zusammenfassung	98
4.7 Rheologie	99
4.7.1 Allgemeines	99
4.7.1.1 Newton'sches Verhalten	100
4.7.1.2 Nicht-Newton'sches Verhalten	100
4.7.1.3 Strömungsanomalien	102
4.7.1.4 Viskositätsmessungen	104
4.7.2 Viskositätsmessungen am System OG / DMPG	104
4.7.2.1 Ergebnisse	104
4.7.3 Diskussion und Zusammenfassung	108
5 Zusammenfassung	109
6 Literaturverzeichnis	113
7 Anhang	119
7.1 Abkürzungen	119
8 Danksagung	122

1 Einleitung

1.1 Amphiphile

Moleküle mit einem polaren, hydrophilen und einem unpolaren, lipophilen Ende werden als Amphiphile bezeichnet. Der Ausdruck stammt aus dem Griechischen „ampho = beide“ und „philos = Freund“ [1]. Als erster beschrieb Hartley 1936 diese Eigenschaft in seinem Buch „Aqueous Solutions of Paraffin-Chain Salts“ [2]. Der lipophile Molekülteil besteht meist aus einer Kohlenwasserstoffkette oder einem Alkylbenzolrest. Die hydrophile Kopfgruppe kann ionisch, zwitterionisch oder ungeladen sein. Lösliche und unlösliche Amphiphile werden je nach ihrem Verhalten in wäßrigen Lösungen eingeteilt [3]. Bei den unlöslichen wird ihrerseits nochmals zwischen quellenden und nichtquellenden Amphiphilen unterschieden. Erstere sind z.B. die meisten Phospholipide, Monoacylglycerine und einige Glykolipide. Zu letzterer Gruppe gehören die Di- und Triacylglycerine sowie Cholesterin und langkettige Fettsäuren. Zu den löslichen Amphiphilen zählt man Detergentien, welche auch als Tenside bezeichnet werden. Bringt man amphiphile Moleküle in Wasser ein, so kommt es ab einer bestimmten Grenzkonzentration zu einer spontanen Selbstassoziation. Dabei werden die hydrophoben Molekülteile durch die hydratisierten hydrophilen Kopfgruppen vom Wasser abgeschirmt. Die Geometrie der so entstehenden Assoziate ist im Wesentlichen von der Struktur und der Ladung des Amphiphils abhängig. Mit Hilfe des geometrischen Modells von Israelachvilli können Vorhersagen über die Form der Assoziate ungeladener Amphiphile gemacht werden [4]. Es wird ein Packungsparameter P nach Gl. 1 bestimmt, welcher von drei Parametern abhängt, dem Molekülvolumen V , dem Flächenbedarf der Kopfgruppe a sowie der Länge l des Amphiphils.

$$P = \frac{V}{a \cdot l} \quad \text{Gl. 1}$$

In Abb. 1 ist die resultierende Geometrie der Assoziate in Abhängigkeit des Packungsparameters wiedergegeben.

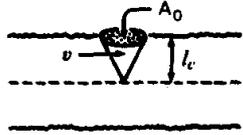
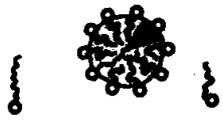
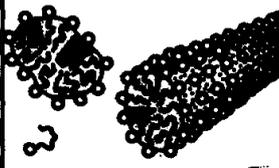
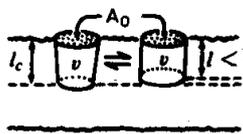
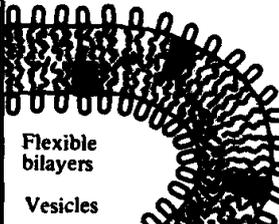
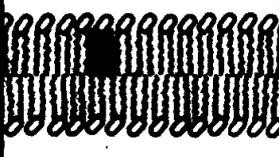
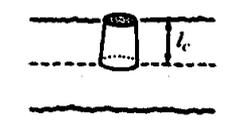
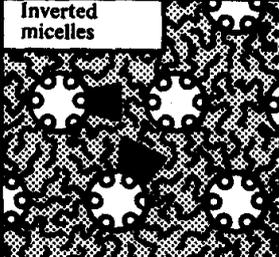
Lipid	Critical packing parameter $v/A_0 l_c$	Critical packing shape	Structures formed
Single-chained lipids (detergents) with large head-group areas:	$< \frac{1}{2}$	Cone 	Spherical micelles 
Single-chained lipids with small head-group areas:	$\frac{1}{2} - \frac{1}{2}$	Truncated cone or wedge 	Globular or cylindrical micelles 
Double-chained lipids with large head-group areas, fluid chains:	$\frac{1}{2} - 1$	Truncated cone 	Flexible bilayers Vesicles 
Double-chained lipids with small head-group areas, anionic lipids in high salt, saturated frozen chains:	~ 1	Cylinder 	Planar bilayers 
Double-chained lipids with small head-group areas,	> 1	Inverted truncated cone 	Inverted micelles 

Abb. 1 Schematische Darstellung der Aggregatform amphiphiler Moleküle, in Abhängigkeit vom Packungsparameter P [4].

1.2 Biologische Membranen

Biologische Membranen haben grundlegende Bedeutung für jegliches Leben. Sämtliche Zellen sind von einer Plasmamembran umschlossen. Sie verleiht den Zellen Individualität, indem sie diese von ihrer Umgebung abgrenzt. Diese Membranaggregate bestehen hauptsächlich aus

Proteinen und Lipiden und sind hochselektive Permeabilitätsschranken, die mittels geeigneter Transportsysteme die Zusammensetzung des intrazellulären Mediums regulieren [5]. Singer und Nicholson beschreiben in ihrem Flüssig-Mosaik-Modell die Zellmembran als eine zweidimensionale Lösung von Proteinen in einer Lipidmatrix, die von peripheren Proteinen tangiert und von integralen Proteinen durchspannt wird [6,7]. Mittels Röntgenstrukturanalyse und Elektronenmikroskopie konnte diese Theorie bewiesen werden [8]. Die Dicke der Lipiddoppelschicht beträgt ca. 6-10 nm [5,9]. Die Organisation der Lipiddoppelschicht wird durch den hydrophoben Effekt bedingt und basiert auf nicht kovalenten Wechselwirkungen kooperativen Charakters.

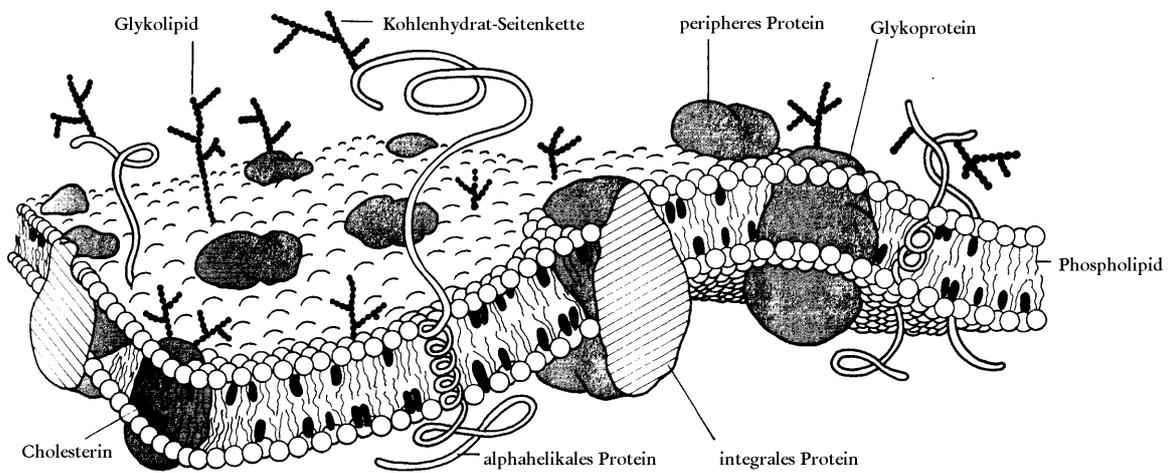


Abb. 2 Flüssig-Mosaik-Modell einer Zellmembran von Singer und Nicholson [10].

1.3 Lipide

Der Begriff Lipide beschreibt keine Stoffgruppe im eigentlichen chemischen Sinne, sondern Lipide sind definitionsgemäß wasserunlösliche Biomoleküle, die in organischen Lösungsmitteln wie Chloroform sehr gut löslich sind [1,5]. Lipide besitzen ein breites Spektrum an biologischen Funktionen. So treten sie in der Natur als Speicherlipide, Signalmoleküle und auch als Membrankomponenten auf. Die Membranlipide lassen sich in Phospholipide, Glykolipide und in Cholesterin unterteilen. Dabei stellen die Phospholipide den größten Lipidanteil in biologischen Membranen. Sie leiten sich von Glycerin (Glyzerophospholipide) oder dem Aminoalkohol Sphingosin (Sphingophospholipide) ab. Der Aufbau der

Glyzerophospholipide besteht aus einem Glycerin-Rückgrat, welches mit zwei Fettsäuren und einem phosphorylierten Alkohol als Kopfgruppe verestert ist. Die langkettigen Fettsäuren enthalten gewöhnlich eine gerade Anzahl an Kohlenstoffatomen, typischerweise zwischen 14 und 24. Die Fettsäuren mit 16 und 18 Kohlenstoffatomen kommen dabei am häufigsten vor [5]. In tierischen Organismen sind die Kohlenwasserstoffketten unverzweigt. Die Fettsäuren können gesättigt oder ungesättigt vorliegen. Letztere weisen bei der Kohlenstoffdoppelbindung fast immer eine cis-Konfiguration auf. Die Klassifikation der Phospholipide erfolgt anhand ihrer Kopfgruppe. Ihr allgemeiner Aufbau ist in Abb. 3 dargestellt.

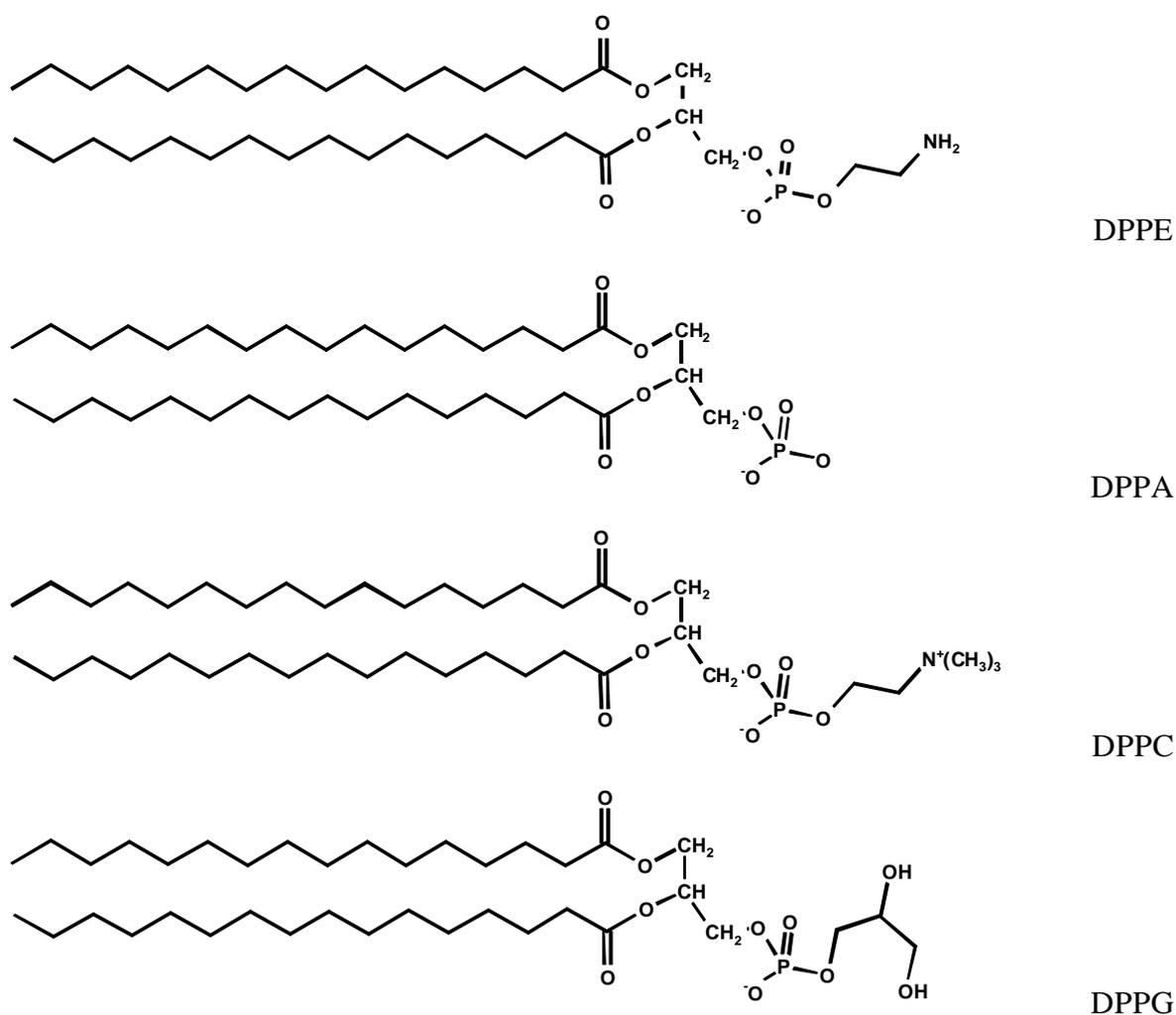


Abb.3 Strukturformel einiger wichtiger Phospholipide mit Glycerin-Grundgerüst und Palmitinfettsäureketten [11].

Aufgrund ihres amphiphilen Charakters entstehen beim Dispergieren von Phospholipiden in Überschuß an Wasser flexible sphärische oder planare Lipiddoppelschichten. Die Formen jener Aggregate hängen nicht nur vom Wassergehalt (lyotroper Polymorphismus) und der Temperatur (thermotroper Polymorphismus) ab, sondern auch von der Struktur des Amphiphils. Durch Änderung verschiedener Parameter wie z.B. Wassergehalt, Temperatur, Ionenstärke und oder pH-Wert können Übergänge zwischen den einzelnen Phasen induziert werden. In Abb. 4 sind die Phasendiagramme von DPPC und DPPE in Abhängigkeit von Temperatur und Wassergehalt eingezeichnet [8].

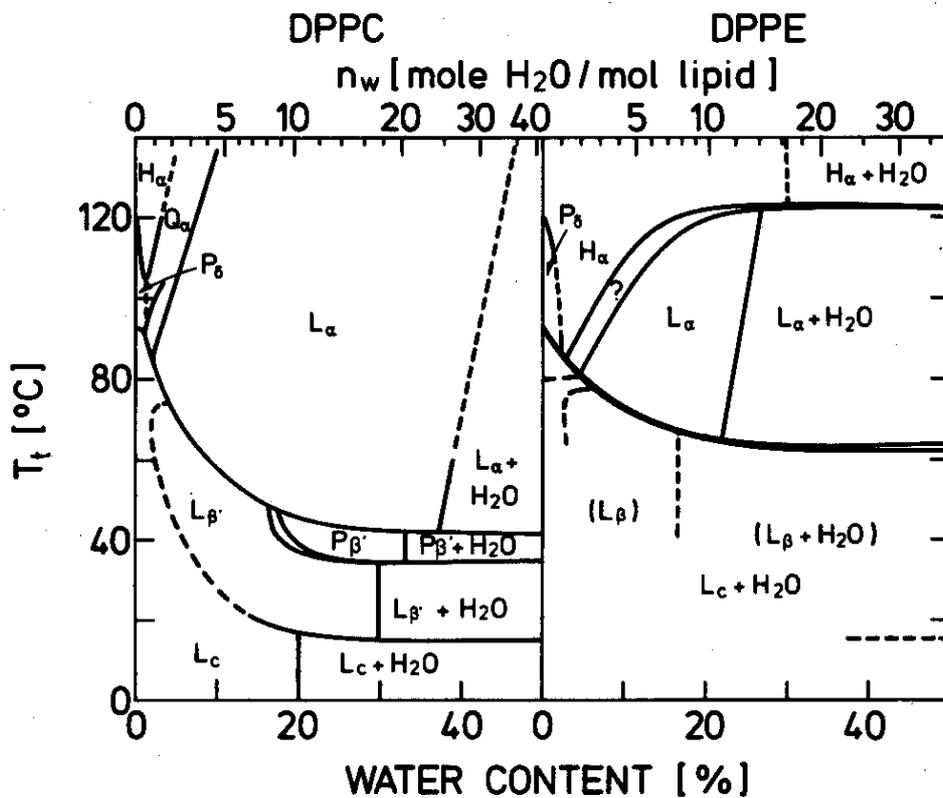


Abb. 4 Phasendiagramme von DPPC und DPPE in Abhängigkeit des Wassergehalts [8].

Die auftretenden Phasen der Lipiddoppelschicht und deren Luzzatti Symbole sind in Abb. 5 schematisch dargestellt.

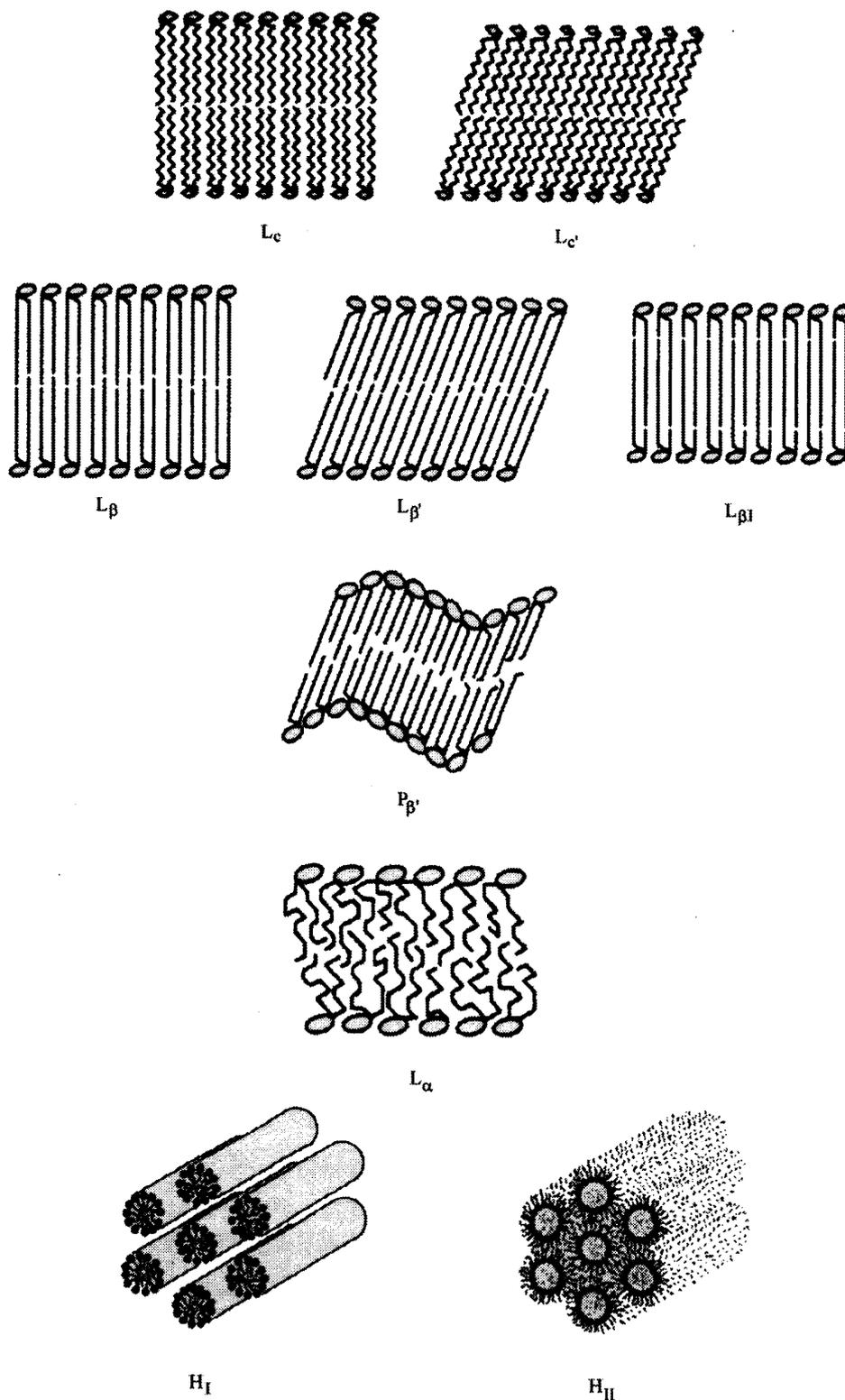


Abb. 5 Schematische Darstellung der lamellaren und periodischen Doppelschichtstrukturen [12]. Mit kristalliner Phase L_c , Gelphase L_β , gewellter „ripple“ Phase $P_{\beta'}$ und flüssigkristalliner Phase L_α . Der Apostroph im Index bedeutet, daß die Fettsäureketten zur Membrannormalen geneigt sind [13]. Die hexagonalen Phasen H_I und H_{II} unterscheiden sich dadurch, daß H_{II} eine invertierte Struktur besitzt.

In der Gelphase L_{β} ordnen sich die Phospholipide in einer quasihexagonalen Struktur an und die Acylketten liegen in der all-trans Konformation vor [14]. Je nach Lipid können die Acylketten zur Membrannormalen einen Winkel einnehmen, was durch Apostrophierung des Indexes gekennzeichnet ist. Unterhalb der Gelphase existiert bei bestimmten Phospholipidsystemen die Sub-Gel Phase, oder auch kristalline L_c Phase genannt. In diesem Fall sind die Lipide orthorhombisch angeordnet und die Acylketten dichter gepackt als in der Gelphase. Bei den Lezithinen gelangt man von der Gelphase durch Temperaturerhöhung zur „Ripple“-Phase P_{β} . In dieser Phase ist die Oberfläche periodisch gewellt und die Acylketten nehmen einen Winkel von $30-50^{\circ}$ zur Membrannormalen ein [15]. Der Übergang zur flüssigkristallinen Phase L_{α} findet bei der charakteristischen Temperatur T_m statt. Dieser wird auch Hauptumwandlung genannt und ist bedingt durch ein ‘Aufschmelzen’ der Acylketten und Zunahme deren Rotationsfreiheitsgrade. Durch verstärktes Auftreten von gauche Rotationsisomeren erhöht sich der Volumenbedarf der Ketten und es kommt zu einer lateralen Expansion der Lipiddoppelschicht. Gleichzeitig nimmt die Membrandicke ab und die Fluidität der Membran zu. Phosphatidylethanolamine, Cardiolipine und Phosphatidsäuren bilden unter bestimmten Bedingungen invertierte hexagonale Phasen aus [16].

1.4 Detergentien

Detergentien - auch Tenside genannt - sind oberflächenaktive Substanzen, die in der Lage sind, die Grenzflächenspannung zu beeinflussen. Sie gehören zu den löslichen Amphiphilen und zeigen in Wasser ein interessantes Löslichkeitsverhalten. Bis zur kritischen Mizellbildungskonzentration CMC liegen Detergensmoleküle als Monomere vor. Bedingt durch den hydrophoben Effekt kommt es oberhalb der CMC zur Bildung meist kugelförmiger Aggregate - sogenannter Mizellen - , wie in Abb. 1 dargestellt.

Der Konzentrationsverlauf der Detergensmoleküle als Monomere und in Aggregaten ist in Abb. 6 veranschaulicht.

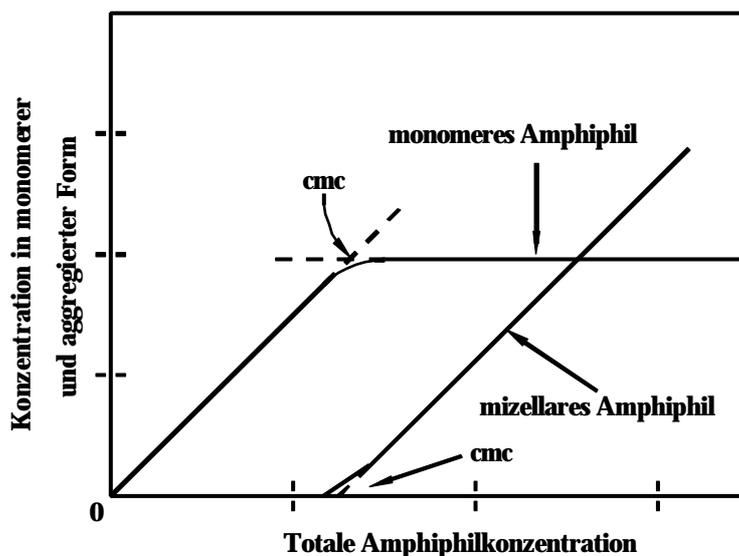


Abb. 6 Schematische Darstellung der Detergengkonzentration in monomerer- und mizellarer Form nichtionischer Detergentien[8].

1.5 Der hydrophobe Effekt

Gibt man eine unpolare Flüssigkeit in Wasser, so ist diese darin nur sehr gering löslich. Ihr Bestreben wird es sein, sich zusammenzulagern und Domänen auszubilden. Dieses Verhalten wird durch den hydrophoben Effekt verursacht [18]. Die dabei wirkenden Kräfte sind nicht chemischer sondern rein physikalischer Natur. Unerlässlich sind solche Phänomene bei natürlichen Prozessen wie etwa der Aggregation oberflächenaktiver Substanzen, der Anordnung von Lipiden in biologischen Membranen oder der Faltung von Proteinen [19,20]. In der Vergangenheit ging man davon aus, daß die attraktiven Wechselwirkungen zwischen hydrophoben Kohlenwasserstoffketten für diesen Vorgang verantwortlich sind [21-23]. Frank und Evans formulierten 1945 als erste ein Modell, welches die Ursache des Phänomens in den Eigenschaften des Wassers vermutete [24]. Sie beschrieben in ihrem „Eisbergmodell“ die Struktur der Wassermoleküle um das gelöste hydrophobe Molekül als mikroskopischen Eisberg. Der hydrophobe Effekt, wie man ihn heute versteht, beruht auf einem ungünstigen Entropieverlust des Wassers beim Lösen eines unpolaren Moleküls bei Raumtemperatur. Diejenigen Wassermoleküle, die sich in unmittelbarer Nachbarschaft zu dem hydrophoben Molekül befinden, haben eine geringere Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen als die übrigen Wassermoleküle [25-27]. Moderne Neutronenbeugungsexperimente

bestätigen, daß die O-H Bindungen des Wassers sich bevorzugt tangential um die Kavität des unpolaren Moleküls anordnen und somit einen clathratartigen Solvationskäfig bilden. Eine starre kristalline Struktur wie in einem Eisberg liegt jedoch nicht vor [28,29]. Der Entropieverlust dieses Vorgangs ist ebenso wie die dazugehörige Enthalpie temperaturabhängig. Dies sei anhand der thermodynamischen Größen ΔG , ΔH und ΔS für die Selbstassoziation eines Tensids in Wasser in Abb. 7 aufgezeigt [30].

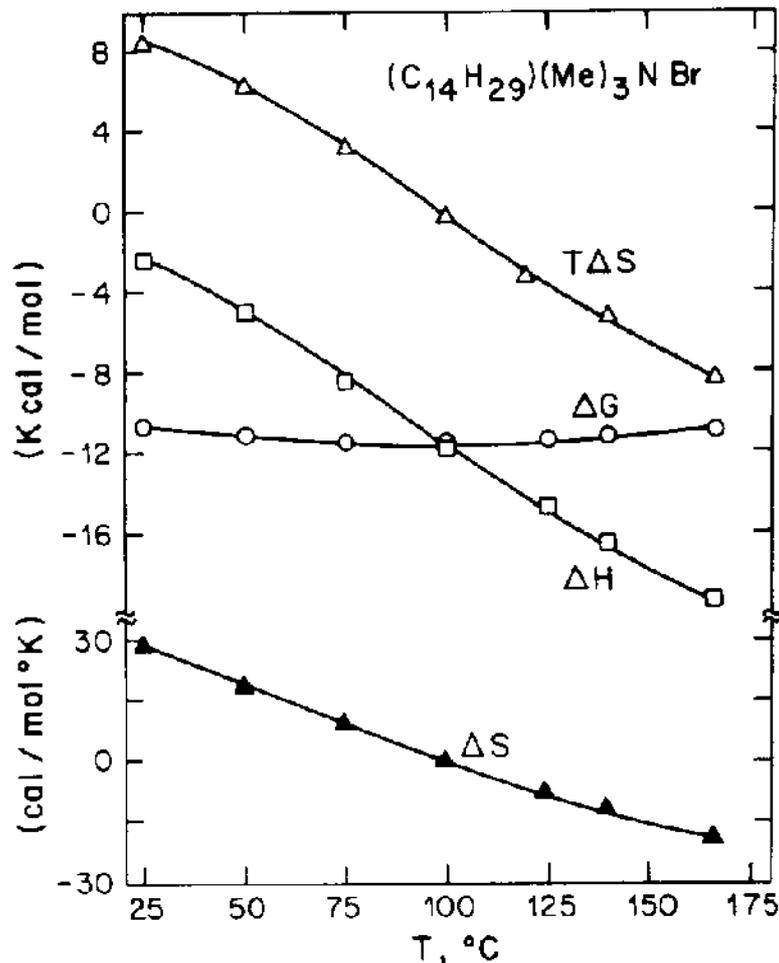


Abb. 7 Thermodynamische Größen ΔG , ΔH , ΔS und $T\Delta S$ für die Mizellisierung von Trimethyltetradecylammoniumbromid [30].

Die Selbstassoziation des Tensids, also die „Domänenbildung“ - bei Tensiden spricht man auch von Mizellbildung - ist ein spontaner Prozeß. Die Gibbs'sche freie Standardenthalpie für den Transfer eines Detergensmonomers vom Wasser in die Mizelle läßt sich nach folgenden Gleichungen beschreiben [19,31,32].

$$\Delta G_{\text{Aggr}} = m_{\text{Mic}}^0 - m_{\text{W}}^0 \quad \text{Gl. 2}$$

$$= RT \cdot \ln \text{CMC}' + RT \cdot \ln f_{\text{W}} - \frac{RT}{m} \cdot \ln \left(\frac{\text{CMC}'}{m} \right) \quad \text{Gl. 3}$$

In den Gleichungen ist m die Aggregationszahl, d.h. die Anzahl der Detergensmoleküle pro Mizelle; f_{W} ist der Aktivitätskoeffizient der Monomere in Wasser; CMC' ist die kritische Mizellbildungskonzentration als Molenbruch. Nach dem Phasenseparationsmodell kann unter Annahme einer genügend großen Aggregationszahl und idealem Verhalten der Monomere in Wasser der zweite und dritte Term vernachlässigt werden [33]. Die freie Enthalpie der Aggregation kann näherungsweise wie folgt geschrieben werden.

$$\Delta G_{\text{Aggr}} = RT \cdot \ln \text{CMC}' \quad \text{Gl. 4}$$

Die treibende Kraft für die Selbstassoziation des Tensids ist bei niedrigen Temperaturen der Entropiegewinn des Wassers. Mit steigender Temperatur wird dieser Prozeß entropisch immer ungünstiger. Der Enthalpieterm ist bei niedrigen Temperaturen hingegen klein und steigt im angegebenen Temperaturintervall betragsmäßig an. Die Selbstassoziation wird also bei höherer Temperatur von dem Enthalpieterm dominiert. Gemäß der Gibbs-Helmholtz Gleichung Gl. 5 hängt die freie Enthalpie ΔG von ΔH und $T\Delta S$ ab. Sie ist selbst nur schwach temperaturabhängig. Es liegt hier also eine „Enthalpie-Entropie“ Kompensation vor [34].

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{Gl. 5}$$

Sowohl die Enthalpie als auch die Entropie weisen jeweils eine Nullstelle bei einer charakteristischen Temperatur T_{H} resp. T_{S} auf. Aus Löslichkeitsmessungen unpolarer Stoffe, wie z.B. Benzol, Toluol und aliphatischen Kohlenwasserstoffen wie Pentan und Hexan, läßt sich T_{H} aus der Temperaturabhängigkeit der Löslichkeitskonstanten X nach der van't Hoff'schen Reaktionsisobare Gl. 6 bestimmen [35]. T_{H} liegt für oben genannte Kohlenwasserstoffe bei ca. 20 °C.

$$\frac{\int \ln X}{\int T} = -\frac{\int \left(\frac{\Delta G}{RT}\right)}{\int T} = \frac{\Delta H}{RT^2} = 0 \quad \text{Gl. 6}$$

Die Löslichkeit als Maß der Hydrophobie besitzt bei T_H ($\Delta H = 0$) einen Extremwert, der aufgrund von $\Delta C_p > 0$ ein Minimum darstellt. An dieser Stelle ist die geringe Löslichkeit ausschließlich auf den ungünstigen Entropieverlust des Wassers zurückzuführen. Die Nullstelle T_S , an der $\Delta S = 0$ ist, bestimmt man durch Gl. 7.

$$\Delta S_{T_S} = -\left(\frac{\int \Delta G}{\int T}\right)_{T_S} = 0 \quad \text{Gl. 7}$$

Für oben aufgeführte Kohlenwasserstoffe liegt T_S im Bereich von ca. 120-130 °C, wie Abb. 8 zeigt.

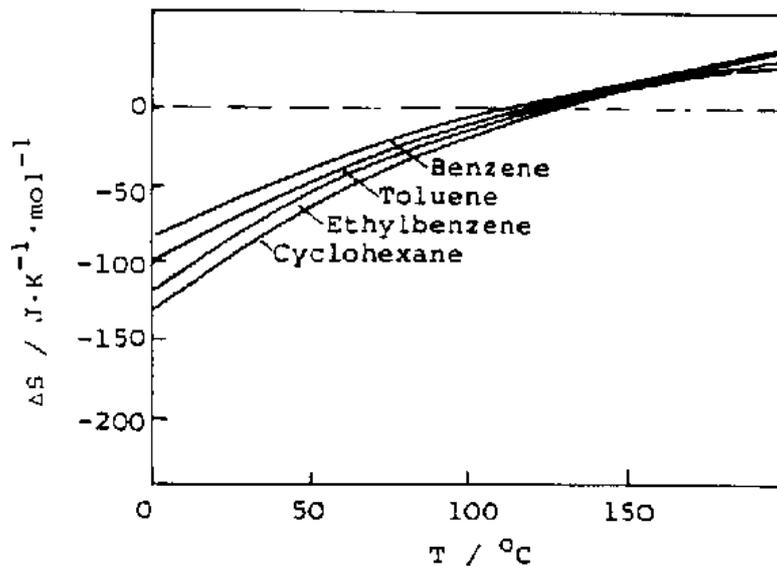


Abb. 8 Temperaturabhängigkeit der Transferentropie einiger unpolarer Substanzen aus der jeweiligen reinen Flüssigkeit in Wasser [35].

2 Problemstellung

Nichtionische Alkylglucoside sind sehr milde Detergentien, welche sich für die Solubilisierung und Rekonstitution von Proteinen in wohldefinierten Lipidmatrizen eignen. Aus dieser Motivation heraus sollte das thermodynamische Verhalten dieser Tenside am Beispiel von Octylglucosid und Dodecylmaltosid untersucht werden. Weiterhin sollte die Solubilisierungskraft auf diverse Lipide in Abhängigkeit deren Lipidkopfgruppe und Acylkettenlänge untersucht werden. In diesem Zusammenhang sollte aufgezeigt werden, ob sich die isotherme Titrationskalorimetrie eignet, den Vorgang der Solubilisierung näher zu charakterisieren. Zur Unterstützung wurde die Differenz Scanning Kalorimetrie, die sich hervorragend zur Bestimmung der thermotropen Eigenschaften von Lipidmodellmembransystemen eignet, herangezogen. Aufgrund der Partikelgröße vesikulärer Lipiddispersionen sollte versucht werden die Solubilisierung mittels dynamischer und statischer Lichtstreuung zu verfolgen. Zuletzt sollten die mechanischen Eigenschaften eines Detergens/Lipid Gemisches im Koexistenzbereich mittels Rotationsviskosimetrie untersucht werden.

3 Experimenteller Teil

3.1 Chemikalien

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien wurden ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt.

Das verwendete Wasser wurde einer Reinstwasseraufbereitungsanlage (SG-Reinstwassersystem RS 90-4 MF) der Firma Wasseraufbereitung- und Regenerierstation GmbH, Barsbüttel entnommen. Der elektrische Leitwert des Wassers war während der Wasserentnahme $< 0,06 \mu\text{S}/\text{cm}$.

Chloroform, p.A.; Riedel de Haën, Deventer Niederlande.

Methanol, p.A.; Riedel de Haën, Deventer Niederlande.

3.1.1 Tenside

1-O-octyl- β -D-glucopyranosid

Bachem Biochemica GmbH, Heidelberg.

Der Reinheitsgrad beträgt $> 99 \%$, ermittelt durch Dünnschichtchromatographie.

1-O-dodecyl- β -D-maltosid

AppliChem GmbH, Darmstadt.

Der Reinheitsgrad beträgt $> 99 \%$, ermittelt durch HPLC.

3.1.2 Lipide

3.1.2.1 Sojalezithine:

Phospholipon 90/90g (P90g) mit der Zusammensetzung:

- C 16:0 Palmitinsäure 12,9 %
- C 18:0 Stearinsäure 4,4 %
- C 18:1 Ölsäure 10,5 %
- C 18:2 Linolsäure 6,6 %
- C 18:3 Linolensäure 5,7 %

PC Kopfgruppe 93 %

Lyso-PC 3 %

$M_r = 750$

Epicuron 200H (E200H):

Perhydriertes Soja Lezithin mit gleicher Zusammensetzung wie Phospholipon 90/90g jedoch mit gesättigten Acylketten.

Nattermann Phospholipid GmbH, Köln.

3.1.2.2 Synthetische Lipide

1,2-Dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphorylcholin

Der Reinheitsgrad war pro analysi.

Nattermann Phospholipid GmbH, Köln.

1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphorylcholin

1,2-Distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphorylcholin
1,2-Diarachidoyl-*sn*-glycero-3-phosphorylcholin
1,2-Dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidsäure
1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidsäure
1,2-Dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphorylglycerol
1,2-Dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphorylglycerol
Der Reinheitsgrad war pro analysi.

Sygena, Ltd, CH-4410 Liestal, Schweiz.

3.2 Probenvorbereitung

3.2.1 Herstellung der Lipidvesikel

Zu den abgewogenen Lipiden wurde entsprechend den gewünschten Konzentrationsverhältnissen Reinstwasser oder Puffer zugegeben. Das Reinstwasser wurde vorher mit einem 200 nm Celluloseacetatfilter filtriert. Anschließend wurde die Probe mechanisch etwa 30 s lang gerüttelt und bei ca. $10\text{ }^{\circ}\text{C} > T_m$ 10-20 min. im Ultraschallbad beschallt.

3.2.2 Herstellung der Lipidgemische für die Solubilisierung

Die Lipide wurden einzeln eingewogen und mit Chloroform/Methanol 3:1 v/v aufgenommen. Nach der Vereinigung wurde das Lösungsmittelgemisch mit Stickstoff unter leichter Erwärmung im Wasserbad abgeblasen. Nach zwölfstündiger Trocknung im Hochvakuum wurde wie in Kapitel. 3.2.1 weiter verfahren.

3.2.3 Herstellung der Lipidvesikel und der Detergens-Lipid-Gemische für das DSC Experiment

Zu den abgewogenen Lipiden wurde entsprechend den gewünschten Konzentrationsverhältnissen Reinstwasser oder Puffer zugegeben. Das Reinstwasser wurde vorher mit einem 200 nm Celluloseacetatfilter filtriert. Sodann wurde die Probe analog der Gefrier-Tau-Methode 10 mal für ca. 10 s jeweils in kochendes Wasser und in Eiswasser getaucht und anschließend mechanisch etwa 30 s lang gerüttelt.

Die Detergens-Lipid-Gemische wurden durch Zugabe der benötigten Detergenslösung zu obiger Lipiddispersion erhalten. Zur besseren Vermischung wurde die Dispersion noch ca. 30 s lang mechanisch gerüttelt und anschließend im Vakuum entgast. Es wurde bewußt auf Beschallung der Probe verzichtet, da dies zu Veränderungen des Umwandlungspeaks führt [36-38].

3.2.4 Herstellung von Detergenslösungen

Eingewogenes Detergens wurde mit filtriertem Reinstwasser oder Puffer analog der Herstellung der Lipiddispersionen aufgefüllt und bis zur vollständigen Auflösung mechanisch gerüttelt.

3.2.5 Herstellung der Pufferlösungen

Eingewogenes NaCl wurde entsprechend der gewünschten Konzentration mit Reinstwasser aufgefüllt und bis zur vollständigen Auflösung mechanisch gerüttelt.

Der pH 6 Phosphatpuffer wurde aus dem Volumenverhältnis 88,9 : 11,1 einer jeweils 1/15 M Lösung von Kaliumdihydrogenphosphat und Dinatriumhydrogenphosphat hergestellt [39].

3.3 Instrumentierung

Omega Differential Titration Calorimeter

MicroCal Inc., Northampton, MA, USA.

Thermostat am DTC-Gerät: Haake F6 / C25

Haake GmbH, Dieselstr. 4, 76227 Karlsruhe.

MC-2 Differential Scanning Calorimeter

MicroCal Inc., Northampton, MA, USA.

Thermostat am DSC-Gerät: Haake F2

Haake GmbH, Dieselstr. 4, 76227 Karlsruhe.

Photonenkorrelationspektrometer Zetasizer 3 und Series 7032 Multi 8 Correlator

Malvern Instruments GmbH, Rigipsstr. 19, 71083 Herrenberg.

Fluoreszenzspektrometer, FluoroMax-2

Instruments S. A., Inc., JOBIN YVON/SPEX Devison, Edison,
New Jersey, USA.

Rotationsviskosimeter, CVO

Bohlin Instruments, Lugwaldstraße 22, 75417 Mühlacker.

Thermostat am Rheometer: Steuerung Bohlin Instruments KTB 30,

Julabo Kältebad

Julabo Labortechnik GmbH, Eisenbahnstr. 45, 77960 Seelbach.

Druckluft am Rheometer: Jun Air Modell 18-50

Prebena, Steen + Klentze, Kornkamp 16, 22926 Ahrensburg.

Ultraschallbad Transsonic T 310/H

Elma GmbH + Co KG, Kolpingstr. 1-7, 78224 Singen/Htw.

Mechanischer Rüttler VF2

IKA-Labortechnik, Janke & Kunkel GmbH & Co KG,
Staufen i.Br.

Feinwaage

E. Mettler, Zürich, Schweiz.

Reinstwasseranlage RS 90-4 MF

Wasseraufbereitungs- und Regenerierstation GmbH, Barsbüttel.

3.4 DTC - Gerät

3.4.1 Aufbau und Funktionsweise

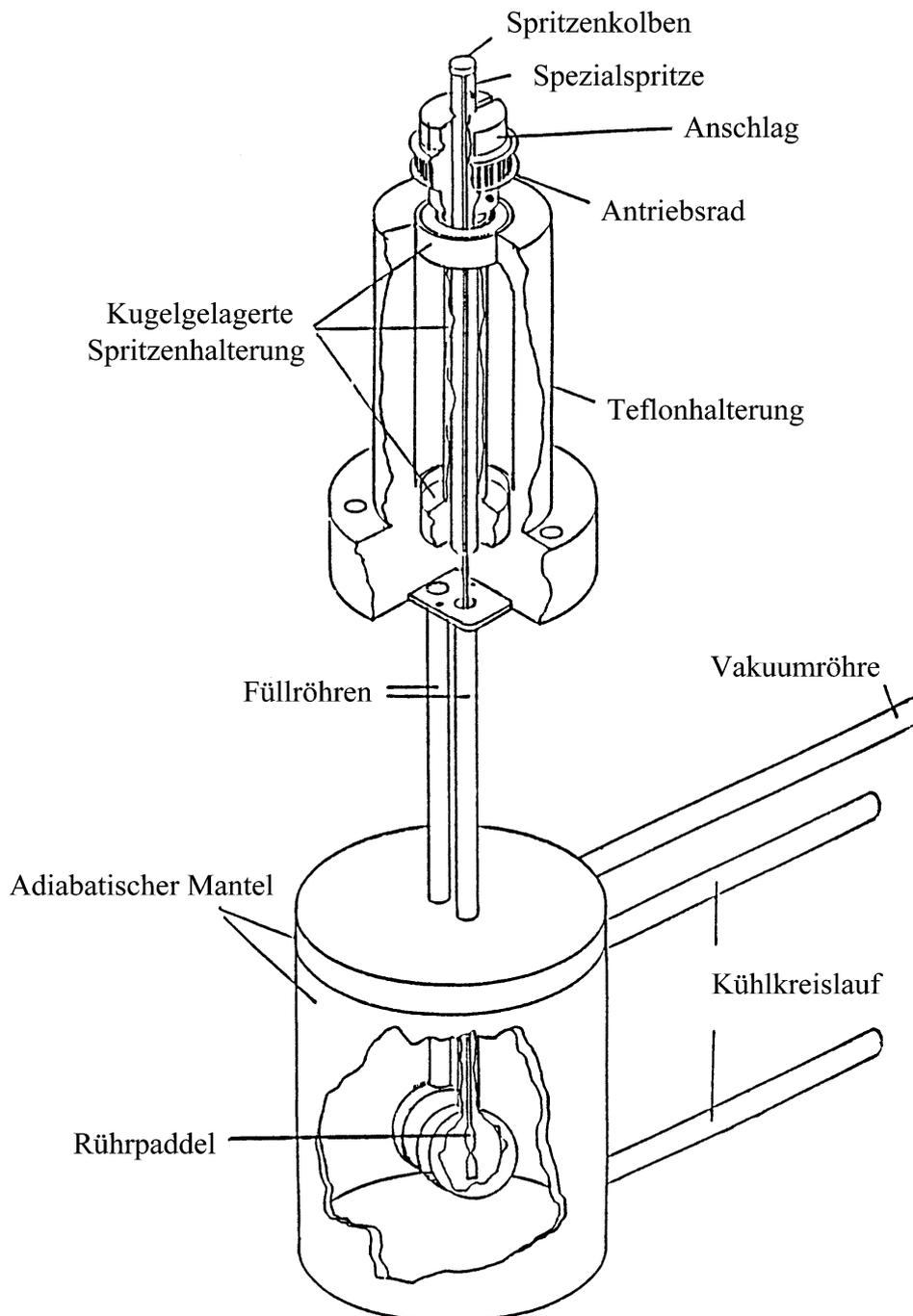


Abb. 9 Schematische Darstellung des Differenz-Titrationskalorimeters DTC.

Die Funktionsweise des DTC-Gerätes basiert auf der Messung von Wärmeeffekten, die beim Zutitrieren einer gewissen Menge an Lösung in eine andere entstehen.

Die Meßapparatur gestattet es, wohldefinierte Volumina in bestimmten Zeitintervallen aus einer Spritze über eine lange Kanüle in die Probenzelle ($V = 1,3684 \text{ ml}$) einzuspritzen. Zur Verfügung standen Spritzen mit einem Nennvolumen von 50, 100 und 250 μl . Eine davon befindet sich dazu in jener Aufnahme, die es ermöglicht, sie um ihre Längsachse zu drehen. Die Drehbewegung wird von einem Elektromotor erzeugt und mittels eines Zahnriemens auf die Spritzenaufnahme und somit auf die Spritze übertragen. Die Drehfrequenz läßt sich an einem Drehpotentiometer einstellen. Ein Paddel am Ende der Spritzenkanüle, das tief in die Probenzelle eintaucht, vermischt nun bei Rotation die Flüssigkeit in der Meßzelle, um Konzentrationsgradienten zu vermeiden und für einen schnellen Temperatenausgleich in der Zelle zu sorgen. Die Steuerung, Datenaufzeichnung und Kalibrierung des Gerätes erfolgt durch einen Computer.

Ein adiabatischer Mantel umgibt die Proben- und die Referenzzelle. Die Referenzzelle wird mit einer niedrigen konstanten Heizrate erwärmt (Erwärmung der Zelle beträgt ca. $0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ pro Stunde). In der Referenzzelle befindet sich reines Wasser. Die Temperaturdifferenz zwischen den Zellen wird mittels der Heizleistung der Probenzelle auf Null geregelt. Eine Spannung proportional der Heizleistung wird gegen die Zeit aufgetragen. Bei einem endo- resp. exothermen Vorgang in der Probenzelle wird die entstandene Temperaturdifferenz zur Referenzzelle durch eine Änderung der Heizleistung ausgeglichen. Das Zeitintegral dieser Differenzheizleistung ist ein Maß für die in der Probenzelle umgesetzten Wärmemenge.

3.4.2 Durchführung des Demizellierungsexperiments

In eine 250 μ l-Spritze des Titrationskalorimeters wurde eine mizellare Detergenzlösung eingefüllt. Die Probenzelle wurde mit reinem Wasser gefüllt. Die Detergenzkonzentration in der Spritze wurde so gewählt, daß während des Experimentes die CMC des Tensids in der Probenzelle überschritten wurde. Die Zugabenvolumina und Zeitintervalle der verschiedenen Experimente variierten zwischen 6 - 8 μ l bzw. 6 - 7 Minuten. Um Bläschenbildung bei 70 °C in der Probenzelle zu vermeiden, wurden die Lösungen vorher entgast. Die Auswertung der kalorimetrischen Meßdaten wurde mit Hilfe des Softwareprogramms ORIGIN 2.9 der Firma MicroCal Software, Inc. durchgeführt.

3.4.3 Durchführung des Solubilisierungsexperiments

Die Durchführung erfolgte analog der des Demizellierungsexperiments. Anstelle des Wassers wurde eine vesikuläre Lipiddispersion in die Probenzelle gefüllt. Die Konzentrationen der Dispersionen variierten zwischen 1 und 5 mM. Die Vesikel besaßen Größen von 60 - 150 nm Durchmesser.

3.4.4 Durchführung des Verteilungsexperiments

Es wurden zwei Arten von Verteilungsexperimenten durchgeführt (vgl. Pfeile II und III in Abb. 12). Im Versuch II wurde monomere Detergenzlösung in die Probenzelle vorgelegt und Lipiddispersion zutitriert. Im Verteilungsexperiment III wurde Lipiddispersion in die Probenzelle vorgelegt und monomere Detergenzlösung zutitriert.

3.5 DSC-Gerät

3.5.1 Aufbau und Funktionsweise

Der Aufbau des DSC-Geräts ist analog dem DTC-Gerät. In einem adiabatischen Mantel befinden sich die Proben- und die Referenzzelle mit je einem Fassungsvermögen von ca. 1,33 ml. Beide Zellen werden nach dem Äquilibrieren mit gleicher Leistung aufgeheizt. Findet nun in der Probenzelle eine Phasenumwandlung statt, so wird die benötigte Energie durch eine Differenzheizleistung ausgeglichen. Diese wird als Funktion der Zeit aufgenommen und ermöglicht es die Phasenumwandlungstemperatur und die dazugehörige Enthalpie zu bestimmen.

3.5.2 Durchführung des DSC Experiments

Die gemäß Kapitel 3.2.3 hergestellte Lösung wird in die Probenzelle eingefüllt. In die Referenzzelle wird entsprechend der Lipiddispersion Wasser oder Puffer eingefüllt. Die Probe wurde sodann auf ca. 10 °C äquilibriert und mit einer Heizrate von 60 °C / h vermessen.

3.6 Vesikelgrößenbestimmung mittels der „Dynamischen Lichtstreuung“ (DLS)

3.6.1 Meßprinzip

Das Verfahren der dynamischen Lichtstreuung, auch bekannt unter einer Reihe weiterer Bezeichnungen wie z.B. PCS (Photonenkorrelations-Spektroskopie) oder QELS (Quasielastische Lichtstreuung), wird zur routinemäßigen Partikelgrößenbestimmung eingesetzt. Sie ist eine schnelle und einfache Untersuchungsmethode.

Die Messungen wurden mit einem ZetaSizer 3 durchgeführt, der sich zur Bestimmung von Partikeln mit Größen von 5 - 5000 Nanometer eignet.

Ein HeNe-Laser der Wellenlänge 635 Nanometer durchstrahlt die Probenzelle. Ein Detektor, rechtwinklig zu dem Laserstrahl angeordnet, mißt die Intensität des von den Partikeln gestreuten Lichts. Ein an das Gerät angeschlossener Korrelator registriert in verschieden großen Zeitintervallen die Streulichtintensitätsänderung. Änderungen der Intensität mit der Zeit, werden durch die Brown'sche Molekularbewegung hervorgerufen. Da sich kleine Teilchen schneller bewegen als große, ist die durch kleine Teilchen verursachte Änderung, und damit die Information über ihre Größe, in kurzen Zeitintervallen zu finden. Die Analyse der Daten mittels der geräteeigenen Software ergibt den Diffusionskoeffizienten, und unter Berücksichtigung der Temperatur sowie der Viskosität der Probenlösung erhält man die Größe der Partikel [40].

3.6.2 Durchführung des DLS-Titrationsexperiments

In die Küvette der Lichtstreuapparatur wurde eine DMPC-Dispersion eingefüllt. Nun wurden definierte Volumina OG-Lösung mit einer Eppendorfpipette zugegeben und zwei Minuten lang magnetisch gerührt. Die Größe der Vesikel der DMPC-Dispersion wurde nach jeder OG-Zugabe zweimal gemessen.

3.7 *Fluoreszenzspektrometer*

3.7.1 Aufbau und Funktionsweise

Das von einer Lichtquelle ausgestrahlte Licht wird mittels eines Monochromators auf die gewünschte Wellenlänge gebracht, und durchstrahlt nach dem passieren einer Blende die Küvette mit der Probe. Das im 90° Winkel gestreute Licht passiert ebenfalls eine Blende und einen Monochromator bevor es detektiert wird. Die Küvette befindet sich in einer temperierbaren Aufnahme mit Möglichkeit zum magnetischen Rühren.

3.7.2 Durchführung des Titrationsexperiments

Die beiden Monochromatoren wurden auf 650 nm und die beiden Blenden auf einen Durchlaß von 5 nm gestellt. Es wurden 2 ml einer wie in Kapitel 3.2.1 präparierten Lipiddispersion in die Küvette eingefüllt, äquibriert und während des Experiments permanent magnetisch gerührt. Jeder Datenpunkt entspricht einem Mittelwert aus drei Messungen. Nach jeder Zugabe von Detergenzlösung wurde 3 bis 5 Minuten äquibriert.

3.8 Rotationsviskosimeter

3.8.1 Aufbau und Funktionsweise

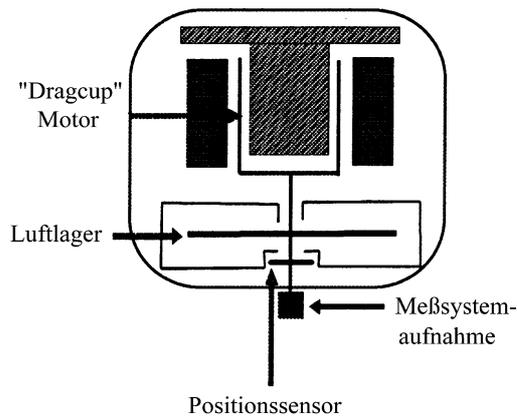


Abb. 10 Schubspannung gesteuertes Rheometer mit Ferraris (Dragcup) Motor [108].

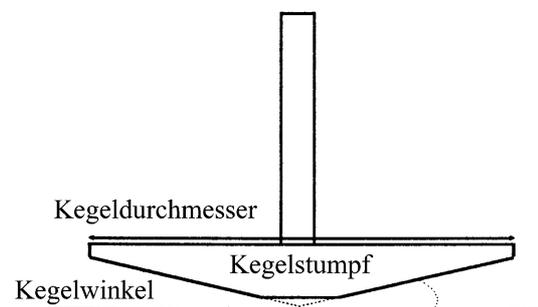


Abb. 11 Kegel-Platte Meßsystem des Rotationsviskosimeters [108].

Im Rotationsviskosimeter befindet sich die zu vermessende Probe zwischen einer waagerechten, beheizbaren Bodenplatte und einem Kegelstumpf mit 4° Neigung und 40 mm Durchmesser. Die Aufnahme mit dem Kegelstumpf ist luftgelagert. Ein Ferraris-Motor (Dragcup) erzeugt ein Drehmoment auf die Aufnahmevorrichtung. Die Viskosität der Probe wirkt dieser Kraft entgegen und die daraus resultierende Drehbewegung der Vorrichtung wird mit einem Winkelpositionssensor detektiert. Die Software errechnet aus dem aufgebrauchten Drehmoment und den spezifischen Daten der Meßvorrichtung die angelegte Schubspannung und Scherrate, aus denen sich mit dem Newton'schen Viskositätsgesetz die Viskosität des Mediums bestimmen läßt.

3.8.2 Durchführung der Viskositätsmessung

Die Meßvorrichtung CP $4^\circ/40$ wurde mit 300 μl Probenlösung befüllt und 5 min. äquilibriert. Es wurde die Meßvorrichtung mit einer Lösungsmittelfalle, die mit Wasser befüllt war umschlossen, um etwaigen Wasserverlust durch Verdunstung vorzubeugen. Mit dem Schubspannungsgesteuerten Meßmodus wurden bei der Vermessung von Wasser und den Lipid-Tensid-Gemischen unter Anlegung von 1 Pa Schubspannung alle 60-120 s ein Datenpunkt über einen Zeitraum von 10-15 Minuten aufgenommen. Dieser Meßzyklus wurde für jede Probe dreimal wiederholt. Aus den so erhaltenen Daten wurde ein Mittelwert mit allen Datenpunkten > 120 s gebildet.

An der oberen Grenze des Koexistenzgebietes wurde für zwei Gemische eine Schubspannungsrampe von 0,1-15 Pa aufwärts und abwärts angelegt. Es wurden in Intervallen von 130 s Datenpunkte aufgezeichnet.

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeines Phasendiagramm

In Abb. 12 ist ein allgemeines Phasendiagramm für Detergens/Lipid/Wasser-Gemische mit einem Wasser Gehalt >95 Gew.% dargestellt [41-47]. Es ist die Gesamtdetergenskonzentration D_t gegen die Lipidkonzentration L aufgetragen. Der Verlauf der in dieser Arbeit durchgeführten kalorimetrischen Experimente läßt sich schematisch durch die eingezeichneten Pfeile veranschaulichen.

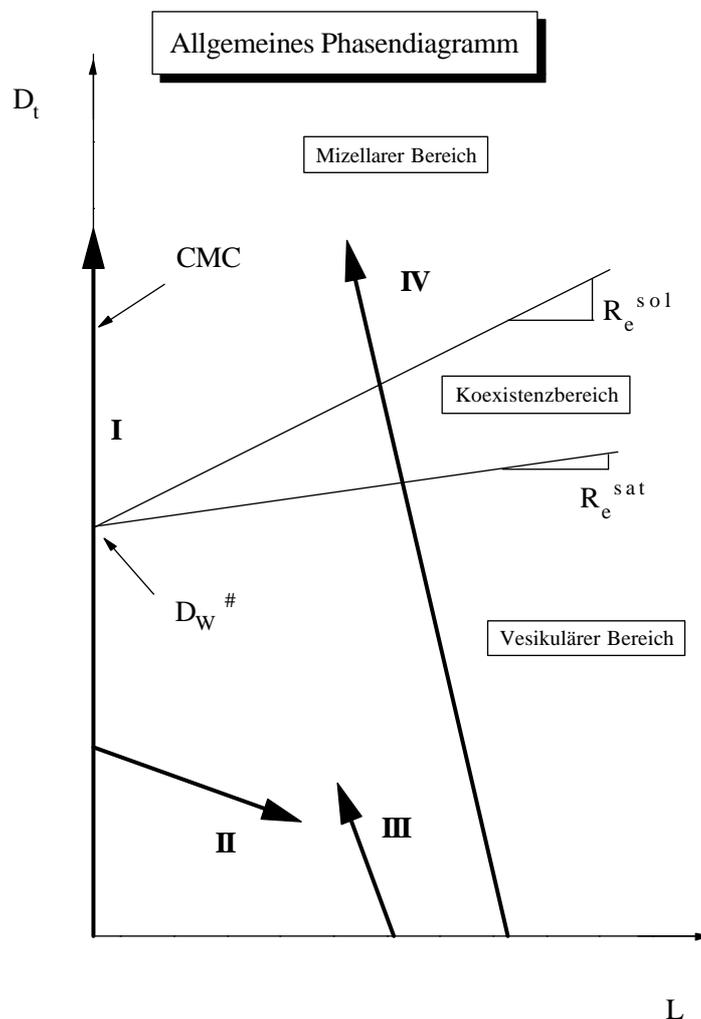


Abb. 12 Allgemeines Phasendiagramm nach dem Modell von Lichtenberg et. al. für Detergens/Lipid/Wasser-Gemische mit Überschuß an Wasser und Darstellung der titrationskalorimetrischen Versuche [44].

Pfeil I verläuft entlang der Ordinate bei $L=0$ und beschreibt das Demizellierungsexperiment. Hochkonzentrierte Detergenzlösung wird in das Lösungsmittel in der Probenzelle eintitriert. Die zur Auswertung benutzte Software errechnet aus den Anfangskonzentrationen der Lösungen und der injizierten Menge, unter Berücksichtigung der Verdrängung, die in der Probenzelle herrschenden Konzentrationen. Es wird während des Versuchs die CMC in der Probenzelle überschritten. Pfeil II und III beschreiben zwei verschiedene Verteilungsexperimente. Bei II legt man Detergenzlösung in der Probenzelle vor und titriert dazu eine vesikuläre Lipiddispersion, und in III wird dagegen Lipiddispersion in der Probenzelle vorgelegt und Detergenzlösung zutitriert. Das Ziel der Experimente II und III ist es, den Verteilungskoeffizienten P bei niedrigen Detergenzkonzentrationen in den Vesikeln zu bestimmen. Der Pfeil IV beschreibt das Solubilisierungsexperiment. Durch Zugabe von Detergens zu einer vorgelegten, vesikulären Lipiddispersion wird die Solubilisierung der Vesikel in gemischte Mizellen erreicht. Man erhält aus dem Solubilisierungsexperiment die Sättigungs- und Solubilisierungsgrenze des Koexistenzbereichs.

4.2 Demizellisierung von OG und DM

4.2.1 Bestimmung der CMC und der Demizellisierungsenthalpie

Im allgemeinen Phasendiagramm Abb. 12 verläuft das Demizellisierungsexperiment entlang der Ordinate bei $L = 0$. Für die Titration von hochkonzentrierter OG Lösung in Wasser erhält man folgendes Kalorigramm.

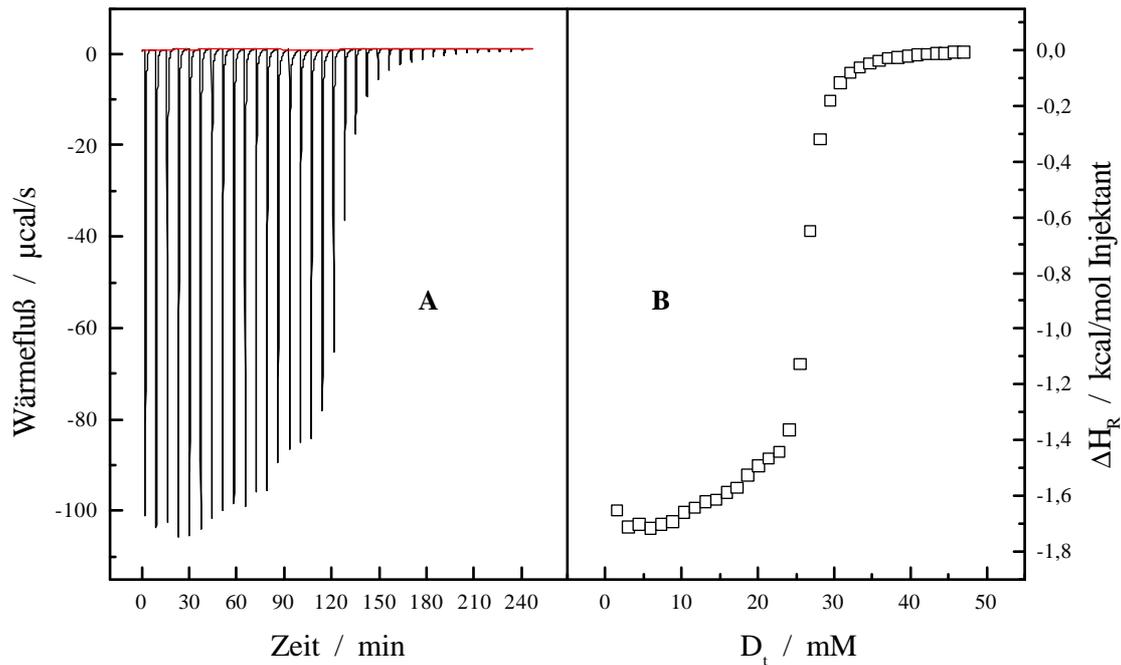


Abb. 13 Titration von $35 \cdot 8 \mu\text{l}$ einer $255,6 \text{ mM}$ Octylglucosidlösung in Wasser bei $26,7 \text{ }^\circ\text{C}$;
A) Rohdaten; **B)** Reaktionsenthalpie.

Die Titration der hochkonzentrierten OG Lösung zeigt am Anfang eine starke Exothermie, bis plötzlich eine sprunghafte Änderung die Signale gegen Null gehen läßt. Der Enthalpieverlauf kann nach dem Satz von Heß in mehrere Teilschritte zerlegt werden. Es werden drei Prozesse diskutiert, die zur Reaktionsenthalpie beitragen [48,49].

1. die Verdünnungsenthalpie der Mizellen
2. die Demizellisierungsenthalpie
3. die Verdünnungsenthalpie der Monomere

Die hochkonzentrierte Detergenslösung in der Spritze enthält Detergensmonomere und Detergensmizellen. Die Mizellen in der zutitrierten Lösung werden auf das Volumen der Probenzelle verdünnt. Dabei wird die Verdünnungsenthalpie der Mizellen frei.

Da die Detergenskonzentration in der Probenzelle anfangs geringer ist als die CMC, werden die Mizellen demizellisiert, d.h. sie lösen sich auf. Dieser Vorgang bewirkt den enthalpisch größten Beitrag. Das Auflösen der Mizellen erhöht seinerseits die Detergensmonomerkonzentration in der Probenzelle.

Als dritter Beitrag werden die Detergensmonomere auf das gesamte Probenvolumen verdünnt. Sobald die CMC erreicht ist, fallen die beiden letzten Beiträge weg, und es findet nur noch die Verdünnung der Mizellen statt. Die CMC läßt sich somit am Wendepunkt des Graphen bestimmen [50]. Aus demselben Titrationsexperiment läßt sich auch die Demizellierungsenthalpie ΔQ_{Demiz} als Stufenhöhe des Graphen bestimmen [51].

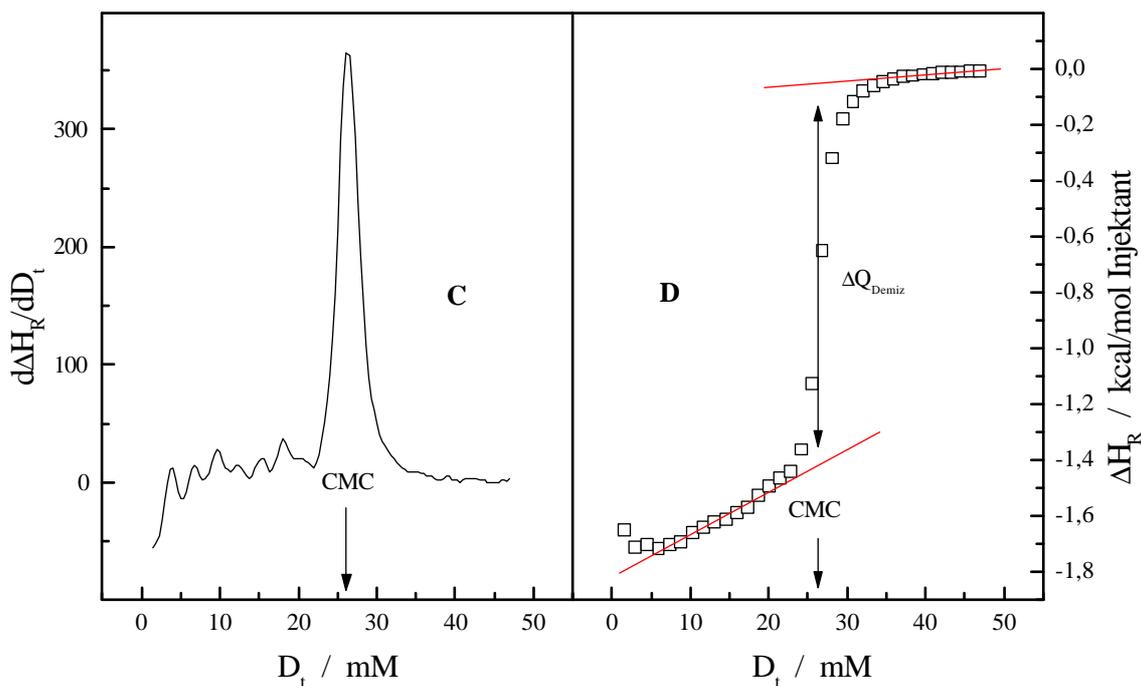


Abb. 14 C) Erste Ableitung der Reaktionsenthalpie zur Bestimmung der CMC am Maximum.

D) Die Stufenhöhe des Graphen ist die Demizellierungsenthalpie ΔQ_{Demiz} .

Zur Bestimmung der CMC wurde der Reaktionsenthalpiegraph unter Verwendung kubischer Splinefunktionen mit neunzig Punkten interpoliert und nach der Detergenskonzentration differenziert. Der Extremwert der Ableitung ergibt die CMC. Zur Bestimmung der Reaktionsenthalpie wurde in Abb. 14D durch den linearen Anfangs- und Endbereich des Graphen jeweils eine Gerade gelegt und bis zur CMC extrapoliert. Die Stufenhöhe am Punkt

der CMC entspricht der Demizellierungsenthalpie ΔQ_{Demiz} . Da sich jedoch in der Spritze das Detergens sowohl in monomerer als auch in mizellarer Form befindet und zur Berechnung der Reaktionsenthalpie ΔH_R softwarebedingt die Gesamtdetergenskonzentration eingeht, - zur Demizellierung aber nur die Detergenskonzentration in den Mizellen maßgebend ist - muß ΔQ_{Demiz} noch um die Monomerkonzentration korrigiert werden, um die molare Demizellierungsenthalpie ΔH_{Demiz} zu erhalten. Unter der Annahme, daß oberhalb der CMC die Monomerkonzentration konstant bleibt, läßt sich die Detergenskonzentration in den Mizellen durch Differenzbildung gemäß Gl. 8 berechnen.

$$D_{\text{Miz}} = D_t - D_{\text{Mon}} \approx D_t - \text{CMC} \quad \text{Gl. 8}$$

Die molare Demizellierungsenthalpie ΔH_{Demiz} errechnet sich mit dem Korrekturterm aus ΔQ_{Demiz} gemäß Gl. 9.

$$\Delta H_{\text{Demiz}} = \frac{D_t}{D_{\text{Miz}}} \cdot \Delta Q_{\text{Demiz}} \quad \text{Gl. 9}$$

4.2.2 Berechnung der thermodynamischen Größen ΔG_{Demiz} , ΔS_{Demiz} und $\Delta C_{p_{\text{Demiz}}}$ sowie die Bestimmung von T_H und T_S

Für den Transfer von Detergensmolekülen aus der Mizelle in die Wasserphase gilt für die Gibbs'sche freie Standardenthalpie folgende Beziehung [19,31,32].

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{Demiz}} &= \mu_{\text{Wasser}}^0 - \mu_{\text{Mizelle}}^0 \\ &= -RT \ln \text{CMC}' - RT \ln f_w + \frac{RT}{m} \ln \left(\frac{\text{CMC}'}{m} \right) \end{aligned} \quad \text{Gl. 10}$$

Die Aggregationszahl m stellt die Anzahl der Detergensmonomere pro Mizelle dar, f_w ist der Aktivitätskoeffizient der Monomere in Wasser und CMC' die kritische Mizellbildungskonzentration als Molenbruch. Unter Voraussetzung einer genügend großen Aggregationszahl und idealem Verhalten der Monomere in Wasser, wird der zweite und dritte Term sehr klein

und kann somit vernachlässigt werden. Diese Annahmen werden für beide eingesetzten Detergentien OG und DM zugrunde gelegt. Literaturangaben für die Aggregationszahlen von OG reichen von 27 bis 87 und für DM von 98 bis 149 [52,53]. Nach dem Phasenseparationsmodell kann die freie Enthalpie annähernd durch Gl. 11 beschrieben werden.

$$\Delta G_{\text{Demiz}} = -RT \ln \text{CMC}' \quad \text{Gl. 11}$$

Über die Gibbs-Helmholtz Gleichung

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{Gl. 12}$$

erhält man die Demizellierungsentropie.

$$\Delta S_{\text{Demiz}} = \frac{\Delta H_{\text{Demiz}} - \Delta G_{\text{Demiz}}}{T} \quad \text{Gl. 13}$$

Die Wärmekapazität berechnet sich durch Differentiation der Enthalpie nach der Temperatur.

$$\Delta C_{p_{\text{Demiz}}} = \frac{\partial \Delta H_{\text{Demiz}}}{\partial T} \quad \text{Gl. 14}$$

In früheren Arbeiten stellte man einen linearen Zusammenhang zwischen der Wärmekapazität $\Delta C_{p_{\text{Demiz}}}$ und der hydrophoben Oberfläche von Kohlenwasserstoffen fest, welche durch Aggregation der hydrophoben Hydratation entzogen wurden. Gill und Wadsö fanden 1976 diesen empirischen Zusammenhang. Als Maß für die hydrophobe Oberfläche diente die Anzahl der Wasserstoffatome n_H [51,54].

$$\Delta C_p = 33 \cdot n_H \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} = 7,88 \cdot n_H \frac{\text{cal}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \quad \text{Gl. 15}$$

Die Temperatur T_S , bei der $\Delta S = 0$ ist, wird nach der Gibbs'schen Fundamentalgleichung Gl. 16 aus dem Maximum von ΔG_{Demiz} bestimmt.

$$\frac{\partial \Delta G_{\text{Demiz}}}{\partial T} = -\Delta S_{\text{Demiz}} \quad \text{Gl. 16}$$

In Abb. 15 sind die Reaktionsenthalpien der Demizellisierung von OG bei verschiedenen Temperaturen aufgetragen. Die Demizellisierungsenthalpie wird betragsmäßig immer geringer und kehrt schließlich bei T_H , bei der $\Delta H_{\text{Demiz}} = 0$ ist, das Vorzeichen um. Diese Vorzeichenumkehr der Enthalpie ist typisch für Prozesse, die durch den hydrophoben Effekt bedingt sind. Aus dem titrationskalorimetrischen Demizellisierungsexperiment sind gleichzeitig die CMC und die Demizellisierungsenthalpie zugänglich. Nähert man sich T_H wächst aufgrund des abnehmenden Meßeffectes der Fehler für die Bestimmung der beiden Größen.

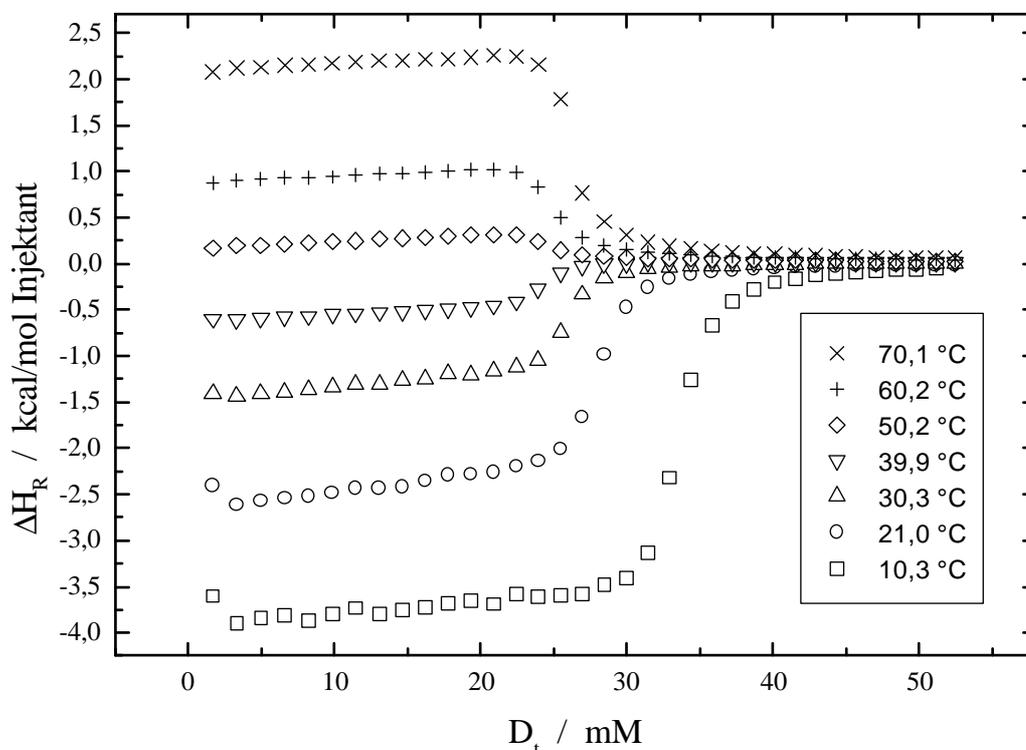


Abb. 15 Reaktionsenthalpien mehrerer Titrationsen von jeweils $35 \cdot 8 \mu\text{l}$ 285,5 mM OG-Lösung in Wasser bei verschiedenen Temperaturen.

Mit Hilfe der Gleichung von van't Hoff Gl. 17 lassen sich ΔH_{Demiz} und die CMC in dem Bereich, in dem deren experimentelle Bestimmung schwierig oder gar unmöglich ist, mathematisch anpassen [51].

$$\left(\frac{\partial \ln \text{CMC}'}{\partial T}\right)_p = \frac{\Delta H_{\text{Demiz}}}{RT^2} \quad \text{Gl. 17}$$

Die experimentellen Werte der Demizellierungsenthalpie werden durch ein Polynom 2. Grades angenähert.

$$\Delta H_{\text{Demiz}} = \Delta H_{\text{Demiz}}(0) + aT + bT^2 \quad \text{Gl. 18}$$

Durch Integration erhält man $\ln \text{CMC}'$ als Funktion der Temperatur.

$$\ln \text{CMC}'(T) = \frac{1}{R} \cdot \left(-\frac{\Delta H_{\text{Demiz}}}{T} + a \ln T + bT\right) + c \quad \text{Gl. 19}$$

Eine andere empirische Möglichkeit zeigten Nusselder und Engberts 1992. Sie paßten die Temperaturabhängigkeit von $\ln \text{CMC}'(T)$ durch ein Polynom 2. Grades an [55].

$$\ln \text{CMC}'(T) = AT^2 + BT + C \quad \text{Gl. 20}$$

Die thermodynamischen Größen und deren mathematische Anpassungen der Systeme OG und DM, jeweils in Wasser und NaCl-Puffer, sind in den folgenden Kapiteln graphisch und tabellarisch zusammengestellt.

4.2.3 OG in Wasser

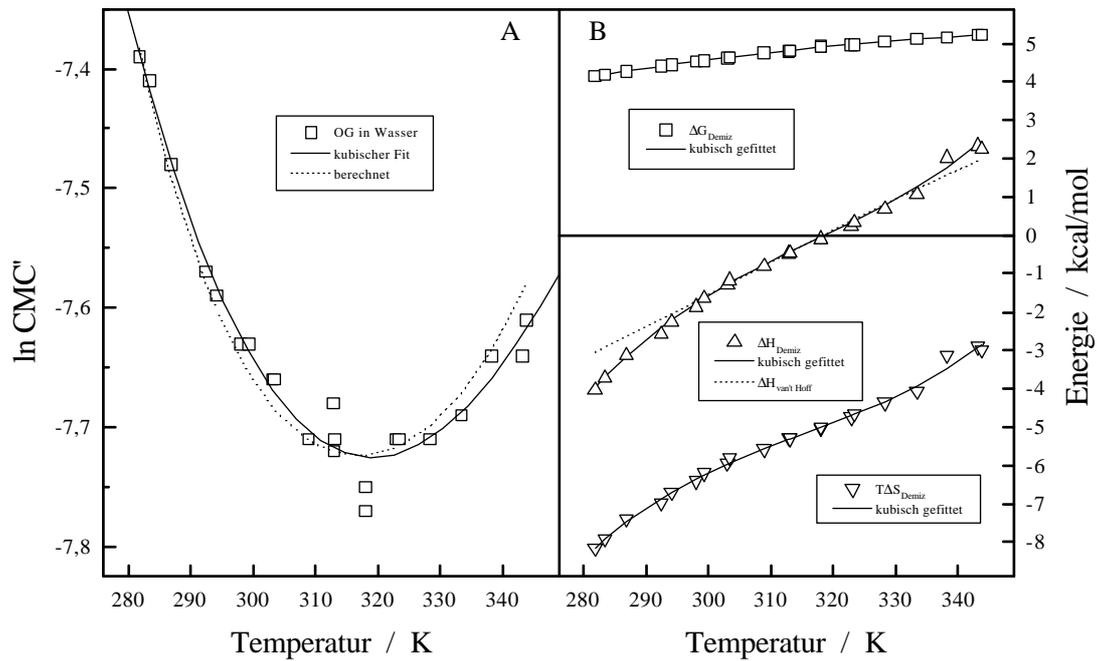


Abb. 16 OG demizellisiert in Wasser. **A)** $\ln CMC'$ -Werte, angepaßt nach Gl. 20 mit Polynom 3. Grades; die gestrichelte Linie ist berechnet nach Gl. 19 mit kubischer Näherung für ΔH_{Demiz} . **B)** Datenpunkte ΔG_{Demiz} , ΔH_{Demiz} und $T\Delta S_{Demiz}$, jeweils mit Polynom 3. Grades angepaßt. Die gepunktete Linie ($\Delta H_{van't Hoff}$) ist nach Gl. 17 mit kubischer Näherung für $\ln CMC'$ berechnet.

In Tab. 1 sind die thermodynamischen Größen der Demizellierung von OG in Wasser aufgelistet.

Demizellisierung von Octylglucosid in Wasser					
T K	CMC mM	ln CMC'	ΔH_{Demiz} cal/mol	ΔG_{Demiz} cal/mol	$T\Delta S_{\text{Demiz}}$ cal/mol
281,8	34,4	-7,39	-4022	4152	-8174
283,4	33,5	-7,41	-3733	4191	-7924
286,8	31,3	-7,48	-3123	4280	-7403
292,4	28,7	-7,57	-2570	4413	-6983
294,1	28,0	-7,59	-2251	4453	-6704
298,0	26,8	-7,63	-1871	4538	-6409
299,3	26,9	-7,63	-1649	4555	-6204
303,0	26,1	-7,66	-1305	4628	-5934
303,4	26,1	-7,66	-1176	4636	-5812
308,9	24,7	-7,71	-826	4753	-5580
312,9	25,3	-7,68	-488	4797	-5285
313,0	24,5	-7,72	-464	4819	-5283
313,1	24,6	-7,71	-478	4819	-5297
318,0	23,3	-7,77	-108	4925	-5033
318,0	23,8	-7,75	-100	4914	-5014
322,9	24,6	-7,71	224	4964	-4741
323,4	24,5	-7,71	328	4976	-4647
328,3	24,5	-7,71	690	5049	-4359
333,4	24,9	-7,69	1049	5116	-4066
338,2	26,2	-7,64	2015	5154	-3139
343,2	26,1	-7,64	2326	5232	-2905
343,8	26,9	-7,61	2237	5220	-2983

Tab. 1 Die thermodynamischen Daten der Demizellisierung von Octylglucosid in Wasser.

4.2.4 OG in 5 mM NaCl-Puffer

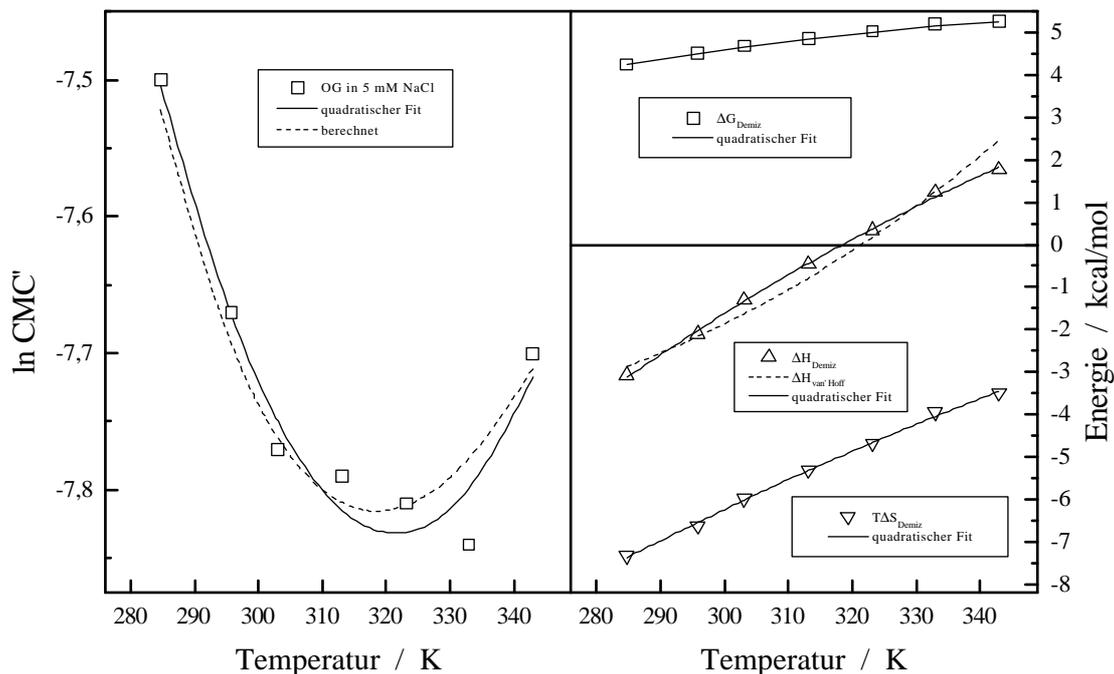


Abb. 17 OG demizellisiert in 5 mM NaCl. $\ln \text{CMC}'$ -Werte, angepaßt nach Gl. 20; die gepunktete Linie ist berechnet nach Gl. 19. Datenpunkte ΔG_{Demiz} , ΔH_{Demiz} und $T\Delta S_{\text{Demiz}}$, jeweils mit Polynom 2. Grades angepaßt. Die gepunktete Linie ($\Delta H_{\text{van't Hoff}}$) ist nach Gl. 17 mit quadratischer Näherung für $\ln \text{CMC}'$ berechnet.

Demizellisierung von Octylglucosid in 5 mM NaCl Puffer					
T K	CMC mM	$\ln \text{CMC}'$	ΔH_{Demiz} cal/mol	ΔG_{Demiz} cal/mol	$T\Delta S_{\text{Demiz}}$ cal/mol
284,7	30,7	-7,50	-3084	4240	-7324
295,8	25,8	-7,67	-2103	4508	-6611
303,1	23,4	-7,77	-1302	4676	-5978
313,2	22,8	-7,79	-453	4846	-5300
323,2	22,3	-7,81	342	5011	-4669
333,0	21,5	-7,84	1242	5183	-3940
343,0	24,7	-7,70	1766	5241	-3475

Tab. 2 Die thermodynamischen Daten der Demizellisierung von OG in 5 mM NaCl-Puffer.

4.2.5 OG in 1 M NaCl-Puffer

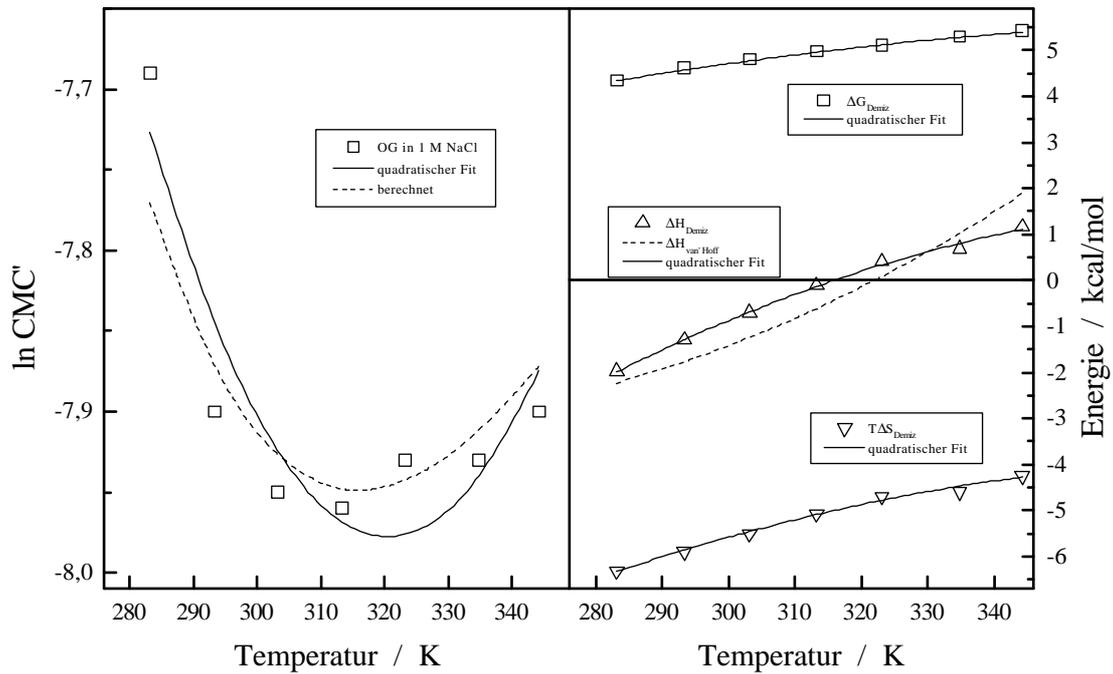


Abb. 18 OG demizellisiert in 1 M NaCl. $\ln \text{CMC}'$ -Werte, angepaßt nach Gl. 20; die gepunktete Linie ist berechnet nach Gl. 19. Datenpunkte ΔG_{Demiz} , ΔH_{Demiz} und $T\Delta S_{\text{Demiz}}$, jeweils mit Polynom 2. Grades angepaßt. Die gepunktete Linie ($\Delta H_{\text{van't Hoff}}$) ist nach Gl. 17 mit quadratischer Näherung für $\ln \text{CMC}'$ berechnet.

Demizellisierung von Octylglucosid in 1 M NaCl Puffer					
T K	CMC mM	$\ln \text{CMC}'$	ΔH_{Demiz} cal/mol	ΔG_{Demiz} cal/mol	$T\Delta S_{\text{Demiz}}$ cal/mol
283,2	25,5	-7,69	-1982	4323	-6305
293,4	20,7	-7,90	-1293	4600	-5893
303,2	19,5	-7,95	-706	4788	-5494
313,3	19,2	-7,96	-112	4953	-5065
323,2	19,7	-7,93	407	5089	-4682
334,9	19,6	-7,93	686	5275	-4589
344,3	20,2	-7,90	1165	5399	-4234

Tab. 3 Die thermodynamischen Daten der Demizellisierung von OG in 1 M NaCl-Puffer.

4.2.6 DM in Wasser

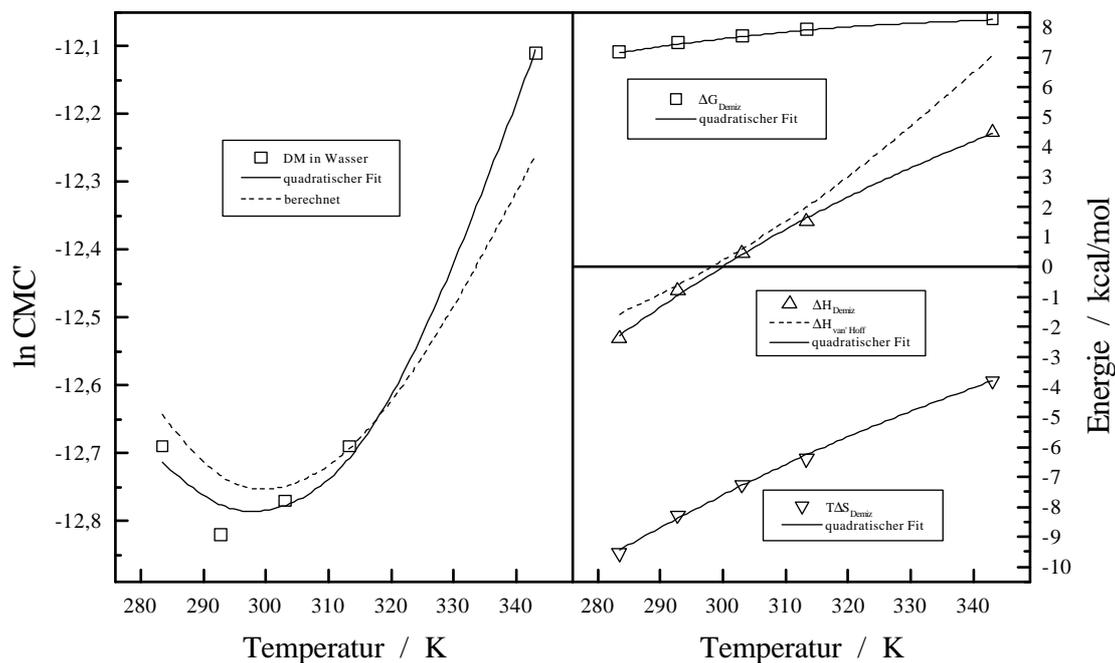


Abb. 19 DM demzellisiert in Wasser. $\ln \text{CMC}'$ -Werte, angepaßt nach Gl. 20; die gepunktete Linie ist berechnet nach Gl. 19. Datenpunkte ΔG_{Demiz} , ΔH_{Demiz} und $T\Delta S_{\text{Demiz}}$, jeweils mit Polynom 2. Grades angepaßt. Die gepunktete Linie ($\Delta H_{\text{van't Hoff}}$) ist nach Gl. 17 mit quadratischer Näherung für $\ln \text{CMC}'$ berechnet.

Demzellisierung von Dodecylmaltosid in Wasser					
T K	CMC mM	$\ln \text{CMC}'$	ΔH_{Demiz} cal/mol	ΔG_{Demiz} cal/mol	$T\Delta S_{\text{Demiz}}$ cal/mol
283,5	0,171	-12,69	-2381	7145	-9527
292,8	0,150	-12,82	-779	7456	-8236
303,1	0,158	-12,77	450	7685	-7235
313,4	0,171	-12,69	1525	7895	-6370
343,1	0,300	-12,11	4488	8249	-3762

Tab. 4 Die thermodynamischen Daten der Demzellisierung von DM in Wasser.

4.2.7 DM in 1 M NaCl-Puffer

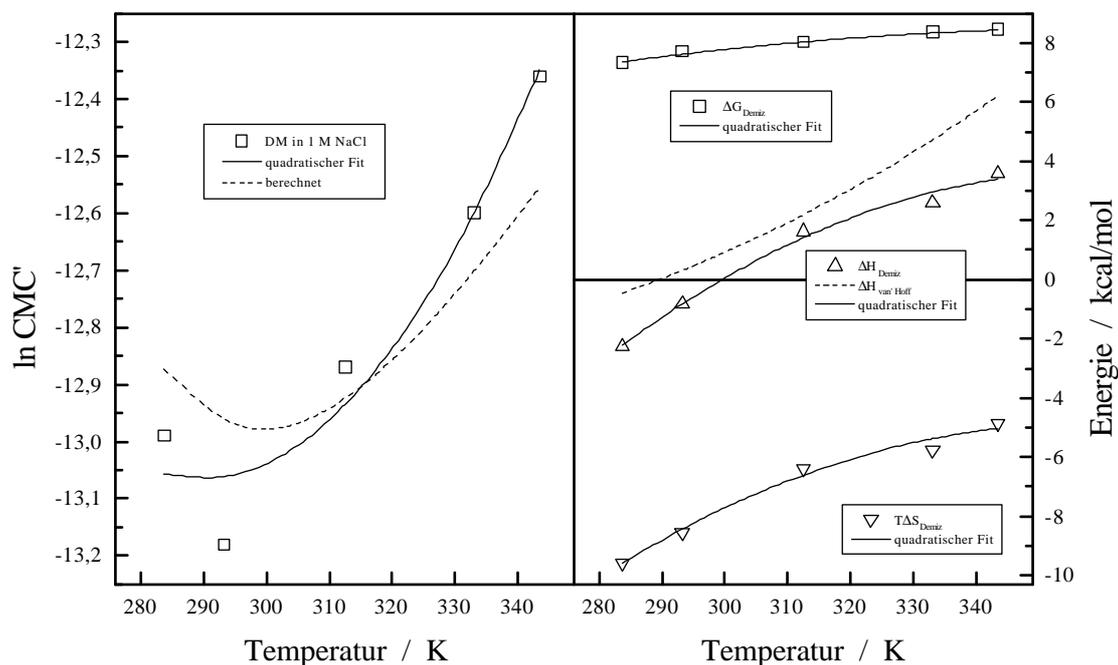


Abb. 20 DM demizellisiert in 1 M NaCl. $\ln \text{CMC}'$ -Werte, angepaßt nach Gl. 20; die gepunktete Linie ist berechnet nach Gl. 19. Datenpunkte ΔG_{Demiz} , ΔH_{Demiz} und $T\Delta S_{\text{Demiz}}$, jeweils mit Polynom 2. Grades angepaßt. Die gepunktete Linie ($\Delta H_{\text{van't Hoff}}$) ist nach Gl. 17 mit quadratischer Näherung für $\ln \text{CMC}'$ berechnet.

Demizellisierung von Dodecylmaltosid in 1 M NaCl Puffer					
T K	CMC mM	$\ln \text{CMC}'$	ΔH_{Demiz} cal/mol	ΔG_{Demiz} cal/mol	$T\Delta S_{\text{Demiz}}$ cal/mol
283,7	0,127	-12,99	-2254	7318	-9572
293,2	0,104	-13,18	-844	7678	-8522
312,5	0,141	-12,87	1628	7989	-6360
333,1	0,183	-12,60	2597	8338	-5741
343,5	0,232	-12,36	3594	8434	-4840

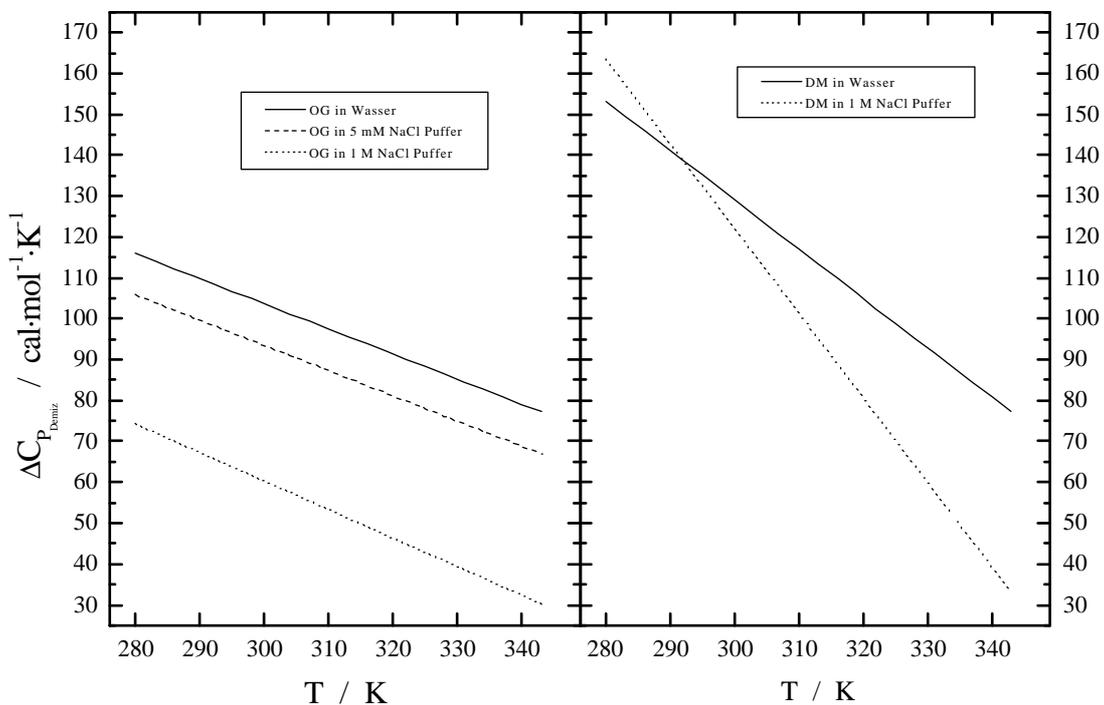
Tab. 5 Die thermodynamischen Daten der Demizellisierung von DM in 1 M NaCl-Puffer

4.2.8 Bestimmung von T_H , T_S und $\Delta C_{p_{\text{Demiz}}}$

	T_H / K		T_S / K
	Minimum von $\ln \text{CMC}'$	Nullstelle von ΔH_{Demiz}	Maximum von ΔG_{Demiz}
OG in Wasser	320,5	318,1 / 319,3*	378
OG in 5 mM NaCl	321,4	318,4	373
OG in 1 M NaCl	320,4	315,9	395
DM in Wasser	298,1	299,8	354
DM in 1 M NaCl	289,5	299,5	365

Tab. 6 Bestimmung von T_H und T_S jeweils aus den quadratischen Anpassungen.* Nullstelle der kubischen Anpassung von ΔH_{Demiz} .

Aufgrund der quadratischen Anpassung der Demizellierungsenthalpie nach Gl. 18 ergibt sich nach Gl. 14 eine lineare Funktion für die Wärmekapazität $\Delta C_{p_{\text{Demiz}}}$.

Abb. 21 Wärmekapazitätsänderung für die Demizellierung von OG und DM als Funktion der Temperatur berechnet nach Gl. 14 mit quadratischer Näherung für ΔH_{Demiz} .

4.2.9 Diskussion und Zusammenfassung

Die Löslichkeit der Detergentien Octylglucosid und Dodecylmaltosid in Wasser ist eine Funktion der Temperatur, der Salzkonzentration und der Kettenlänge resp. Kopfgruppe. Die Temperaturfunktionen der Demizellierungsenthalpie und $\ln\text{CMC}'$ lassen sich durch ein Polynom 2. Grades anpassen. Mit diesen Anpassungen läßt sich T_H zum einen an der Nullstelle von $\Delta H_{\text{Demiz}}(T)$ und zum anderen am Minimum von $\ln\text{CMC}'(T)$ bestimmen. Aus beiden Methoden resultieren nur leicht unterschiedliche Werte für T_H . Dies war auch so zu erwarten, da die Hydrophobizität bei T_H maximal ist. DM zeigt aufgrund seiner stärkeren Hydrophobie eine deutlich niedrigere T_H als OG. Einfluß darauf haben die Änderung der Hydratation der Kopfgruppe, die Hydratation der hydrophoben Acylketten und Ordnungseffekte der Ketten wie Heerklotz et. al. für LPC und DAPC aufzeigt [109]. Die Werte liegen leicht unter 300 K, vergleichbar mit jenen organischer Kohlenwasserstoffe [35]. Die von OG liegen gut 20 K höher. Die T_s -Werte liegen mit 354-365 K bei DM und 373-395 K bei OG im dafür typischen Bereich von 363-413 K [51].

Aus dem Minimum von $\ln\text{CMC}'(T)$ läßt sich für Octylglucosid keine Tendenz mit steigender Salzkonzentration ablesen. Dagegen deutet die Nullstellenmethode eine leichte Verringerung mit steigender Salzkonzentration an. Bei Dodecylmaltosid zeigt hingegen nur die Bestimmung des Minimums von $\ln\text{CMC}'(T)$ eine abnehmende Tendenz bei höherer Salzkonzentration. Die Effekte sind in diesem Fall der nichtionischen Tenside jedoch schwach und es bedarf noch weiterer Messungen, auch bei höheren Ionenstärken, um den Trend noch stärker zu verdeutlichen.

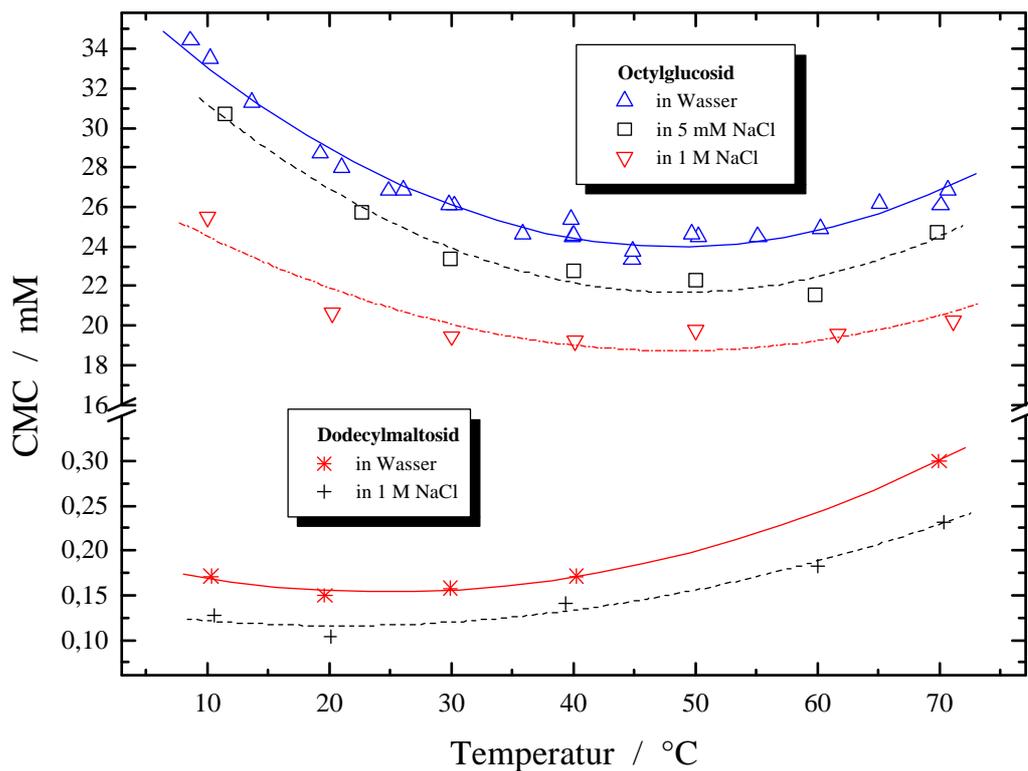


Abb. 22 CMC Werte für Octylglucosid und Dodecylmaltosid in Wasser und in NaCl Puffer.

Die CMC von OG und DM nehmen mit steigender Neutralsalzkonzentration bis 1 M NaCl um ca. 30 % ab. Im Gegensatz dazu verringert sich bei geladenen Tensiden wie z.B. DTAB und SDS die Löslichkeit um das 10 resp. 30 fache [56]. Die nichtionischen Tenside werden weitaus weniger durch vorhandenes Neutralsalz beeinflusst als ionische Tenside [107].

Die Abhängigkeit der CMC von der Kettenlänge des hydrophoben Molekülteils zeigt sich deutlich am Beispiel der homologen Reihe der Alkylglucoside in Abb. 23 [56]. Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen $\log\text{CMC}$ und der Alkylkettenlänge.

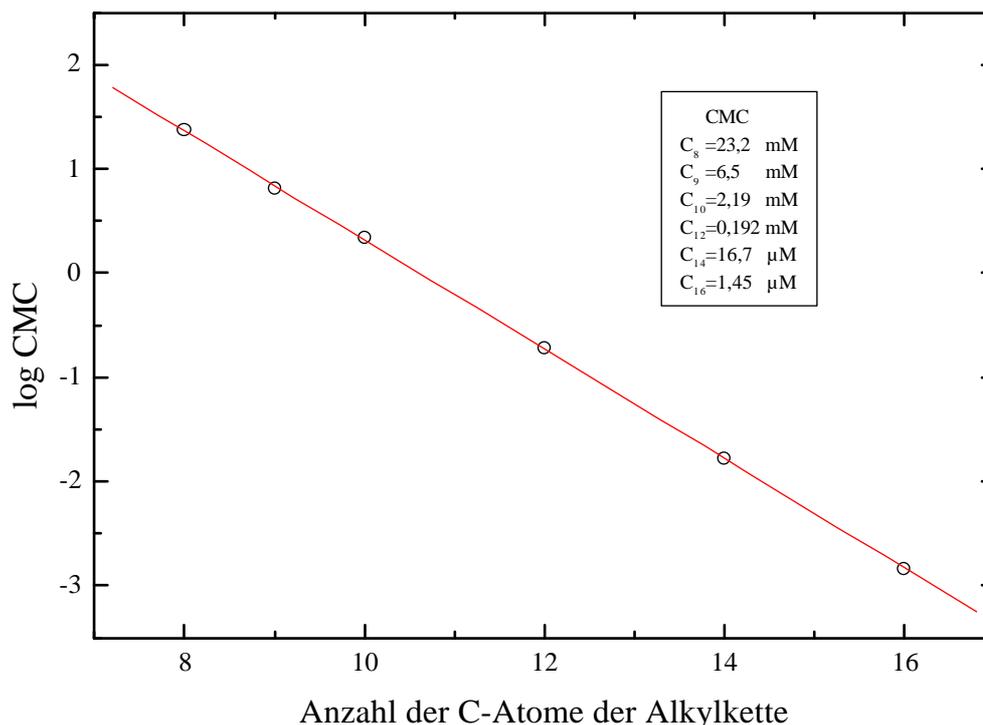


Abb. 23 Lineare Korrelation von $\log CMC$ mit der Anzahl der Methyleneinheiten des hydrophoben Molekülteils bei Alkyl- β -D-glucosiden bei Raumtemperatur [56].

Der allgemeine Fall, daß eine größere hydrophile Kopfgruppe auch gleichzeitig eine bessere Wasserlöslichkeit verursacht, trifft auf Alkylmaltosid im Vergleich zu Alkylglucosid nicht zu [57-61]. Tenside mit dem größeren Disaccharid, der Maltosekopfgruppe, müßten demnach eine größere CMC aufweisen. Der Vergleich der CMC bei Raumtemperatur für Octyl- β -D-glucosid (23,4 mM [52], 25 mM [62], 26,8 mM eigener Wert), Octyl- β -D-maltosid (23,4 mM [52]), Dodecyl- β -D-glucosid (80-190 μ M [63]) und Dodecyl- β -D-maltosid (150-200 μ M [52,56,63,64], 158 μ M bei 30 °C eigener Wert) zeigt im Bereich der Meßgenauigkeit, bei gleicher Alkylkettenlänge, keine nennenswerten Unterschiede [58,61] (ebenso besteht gute Übereinstimmung der eigenen CMC-Werte mit den literaturbekannten Daten). Dieses Ergebnis könnte mit der Löslichkeit des reinen Zuckers begründet werden. Eine gesättigte wäßrige Glucoselösung enthält 45,1 Gew.-% des Zuckers gegenüber 20,1 Gew.-% einer gesättigten Maltoselösung [65]. Maltose ist demnach in Wasser schlechter löslich als Glucose, und könnte dadurch auch im Tensid trotz größerer hydrophiler Kopfgruppe keine höhere CMC bedingen.

Zur Beschreibung der Struktur von Mizellen und deren Wassergehalt können mehrere Modelle wie z.B. das Fjord, Reef oder Lattice Modell herangezogen werden [17,60]. Die abgeschirmte Oberfläche der Alkylkette des Tensids in der Mizelle läßt sich mit der Wärmekapazitäts-

änderung der Demizellisierung korrelieren [54]. Nach Gl. 15 nimmt die Abschirmung in OG-Mizellen in Wasser bei Raumtemperatur von 6 Methyleneinheiten bis auf 4-5 bei 70 °C ab. Bedingt durch den längeren hydrophoben Molekülteil sind die Absolutwerte von DM größer und nehmen von 8 bei Raumtemperatur bis auf 4-5 Methyleneinheiten bei 70 °C ab. Die abnehmende Tendenz ist bei allen Tensidsystemen in mehr oder weniger starkem Maß zu beobachten und wird verursacht durch die Zunahme der Dynamik und Fluidität der Mizellen mit steigender Temperatur. Die ΔC_P -Funktionen der Salzlösungen sind bei OG niedriger als die in Wasser und nehmen auch etwas stärker ab. Ebenso ist die Funktion bei DM in Salzlösung steiler als jene in Wasser. Dies bedeutet, daß die hydrophoben Wechselwirkungen - hydrophobe Hydratation - mit der Salzkonzentration und der Temperatur zunehmen.

4.3 Solubilisierung

Das Solubilisierungsexperiment ist in Abb. 12 schematisch als Pfeil IV dargestellt. Das Phasenmodell von Lichtenberg beschreibt die Umwandlung der Lipidvesikel durch Zugabe von Detergens über einen Koexistenzbereich bis hin zum gemischt mizellaren Bereich [41]. Dies wurde realisiert indem vesikuläre Lipiddispersion in die Probenzelle des Titrationskalorimeters vorgelegt und hochkonzentrierte Detergensiösung zutitriert wurde. Die Gesamtdetergensiönkonzentration D_t in der Probenzelle ist gemäß Gl. 21 die Summe aus der in die Vesikel eingebauten Detergensiönkonzentration D_e und der Detergensiönkonzentration im Wasser D_w .

$$D_t = D_e + D_w \quad \text{Gl. 21}$$

Der Quotient aus Detergensiönkonzentration zu Lipidkonzentration in den gemischten Aggregaten ist das effektive Verhältnis R_e [47].

$$R_e = \frac{D_e}{L} \quad \text{Gl. 22}$$

Mit steigender Gesamtdetergensiönkonzentration nimmt das effektive Verhältnis R_e zu. Beim Erreichen der Grenze zum Koexistenzbereich sind die gemischten Vesikel an Detergensiönmolekülen gesättigt. Die Zusammensetzung der Lipiddoppelschicht entspricht dem charakteristischen Verhältnis R_e^{sat} . Weiterer Detergensiöneinbau führt zur Solubilisierung der Vesikel, d.h. der Bildung von an Lipid gesättigten, gemischten Mizellen der charakteristischen Zusammensetzung R_e^{sol} . Nach Beendigung der Solubilisierung - also nach vollständiger Umwandlung der gemischten Vesikel in gemischte Mizellen - steigt im gemischt mizellaren Bereich das Verhältnis R_e weiter an. Trägt man aus mehreren Solubilisierungsexperimenten, bei variierenden Lipidvorlagen, D_t gegen L der charakteristischen Verhältnisse R_e^{sat} resp. R_e^{sol} auf, so erhält man durch lineare Regression die Grenzen des Koexistenzbereichs (vgl. Phasendiagramme Abb. 26, Abb. 27 und im Anhang). In Gl. 23 gibt $R_e^{\#}$ mit den Werten $D_t^{\#}$ und $L^{\#}$ ($\#$ steht für $^{\text{sat}}$ resp. $^{\text{sol}}$) bei R_e^{sat} resp. R_e^{sol} die Steigung der Saturierungs- resp. Solubilisierungsgrenze des Koexistenzbereichs an. $D_w^{\#}$ ist eine hypothetische CMC des Detergens in Gegenwart von Lipid.

$$D_t^\# = R_e^\# \cdot L^\# + D_w^\#$$

Gl. 23

Die Werte $D_t^\#$ und $L^\#$ wurden aus dem Solubilisierungsexperiment am Wendepunkt des intermediären Extremums bestimmt (Abb. 25).

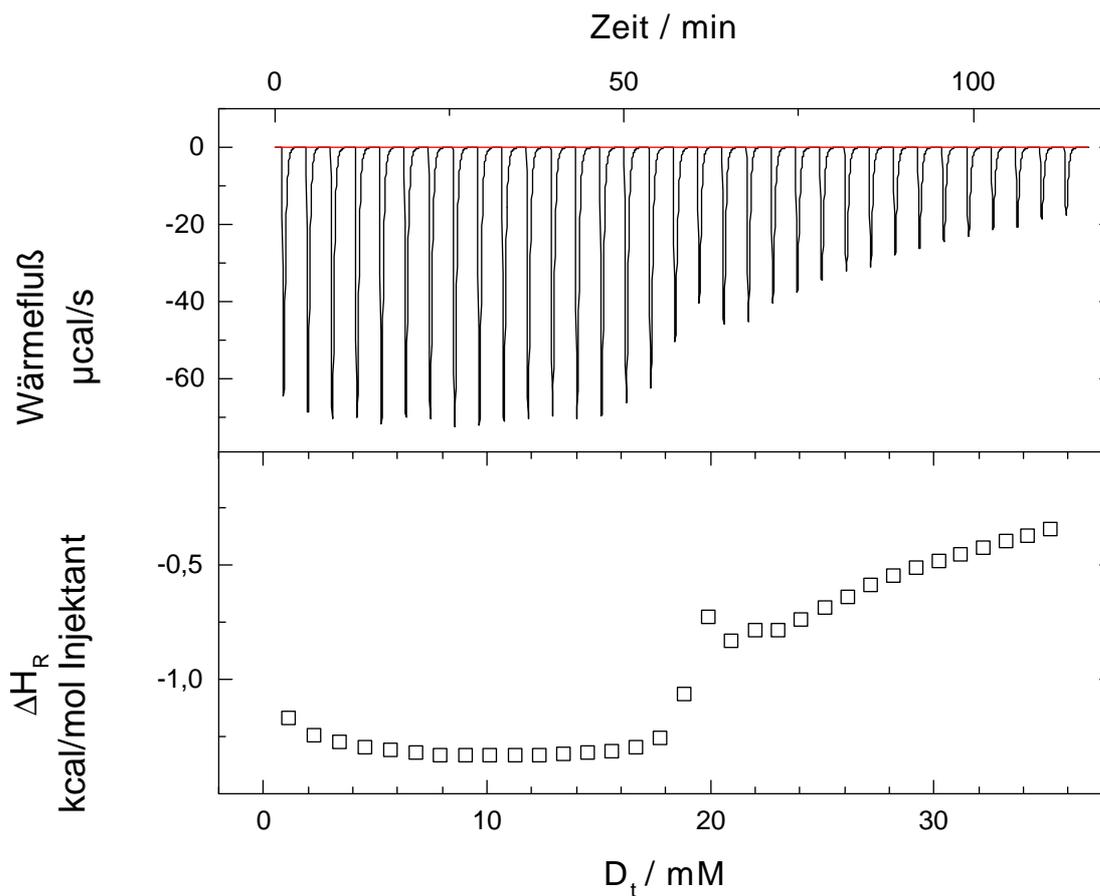


Abb. 24 Solubilisierungsexperiment: Zugabe von $33 \cdot 6 \mu\text{l}$ 262 mM OG Lösung zu 2,1 mM DMPC Dispersion bei 27°C in Wasser.

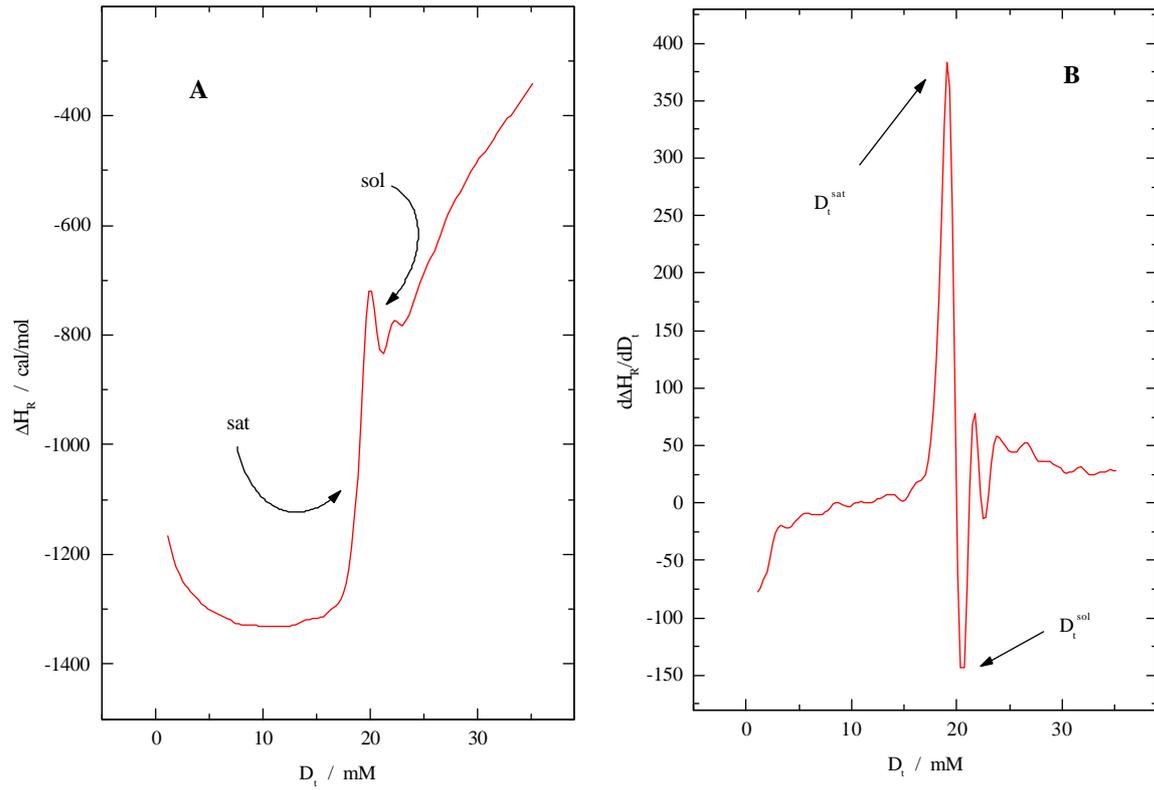


Abb. 25 **A** Enthalpogramm eines ITC-Solubilisierungsexperiments. Die Bestimmung von $D_t^\#$ und $L^\#$ an den Wendepunkten des intermediären Extremums durch Ableitung in **B**. Zugabe von $33 \cdot 6 \mu\text{l}$ 262 mM OG Lösung zu 2,1 mM DMPC Dispersion bei 27 °C in Wasser.

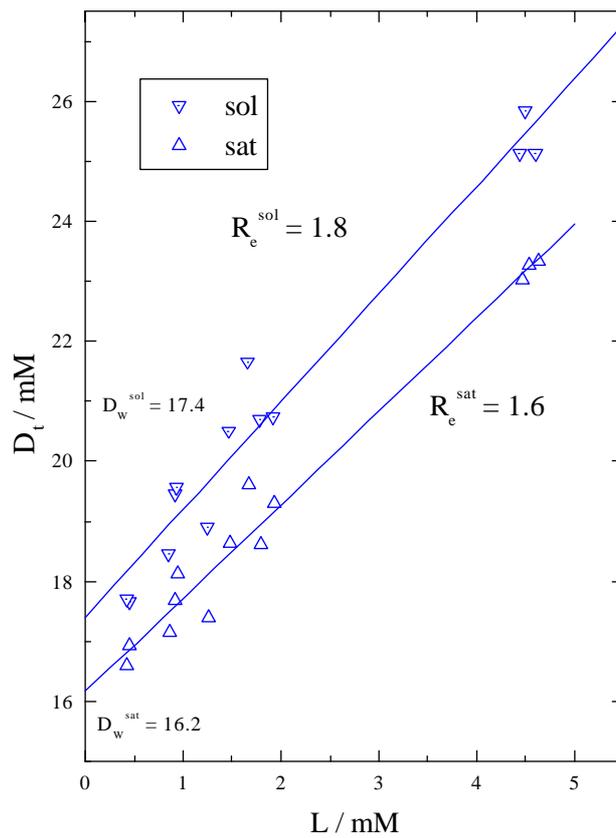


Abb. 26 Phasendiagramm von DMPC solubilisiert mit OG in Wasser bei 27 °C.

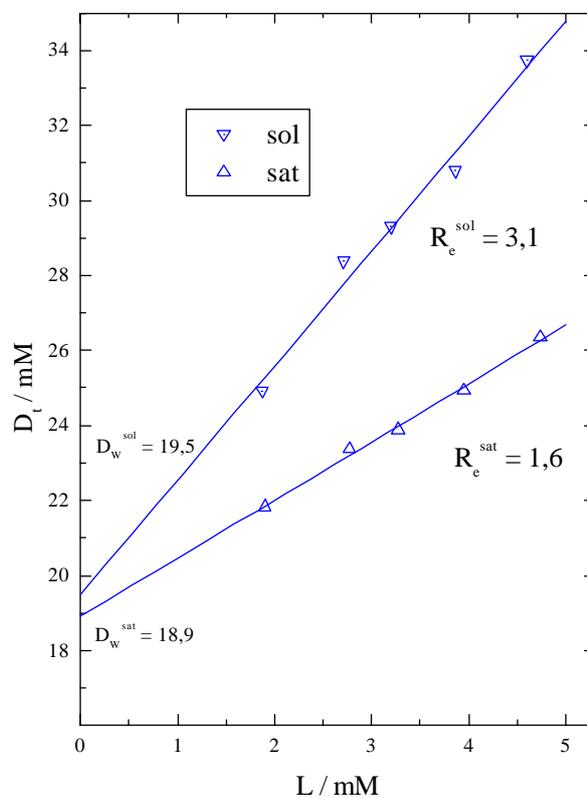


Abb. 27 Phasendiagramm von P90g solubilisiert mit OG in Wasser bei 27 °C.

4.3.1 Kettenlängenabhängigkeit von $R_e^\#$ der Lezithine solubilisiert mit OG in Wasser und in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C

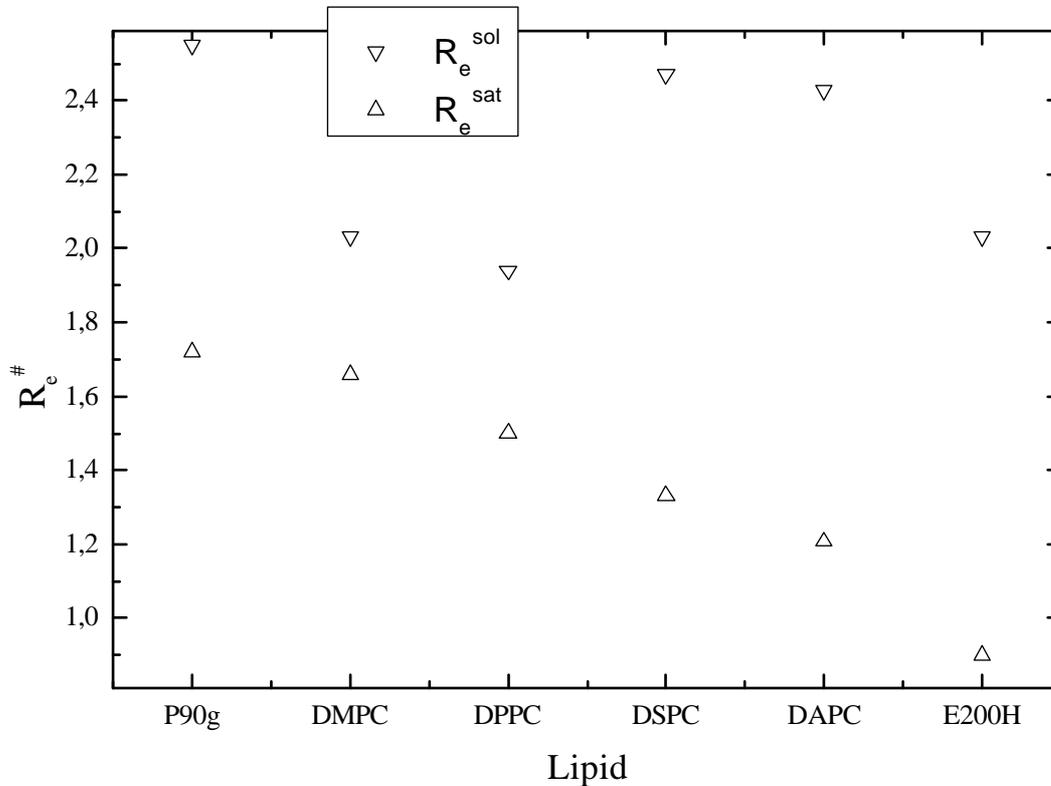


Abb. 28 Sättigungsgrenzen von OG-Lezithin-Systemen in Wasser bei 70 °C.

In reinem Wasser wurden nur Phasendiagramme der elektroneutralen, zwitterionischen Phosphatidylcholone, auch Lezithine genannt, erstellt. Das effektive Molverhältnis R_e^{sat} , die Steigung der Sättigungsgrenze, zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Kettenlänge des solubilierten Lipids. Je länger die Acylketten der synthetischen Lipide, desto leichter läßt sich die lamellare Struktur L_α der Vesikel durch den Einbau von OG destabilisieren. Das aus Sojabohnen extrahierte Lezithin P90g ist ein Phosphatidylcholingemisch mit verschiedenen langen Acylketten mit unterschiedlichem Sättigungsgrad. Dessen vesikuläre Membran ist viel flexibler als die, der eingesetzten synthetischen Lipide, und kann daher auch mehr OG bis zur Sättigung aufnehmen. Bei E200H, dem perhydrierten Sojabohnenlezithin, ist die lamellare Struktur durch das Gemisch nun gesättigter Acylketten verschiedener Länge inhomogener und labiler als die der synthetischen Lipide mit definierter einheitlicher, gesättigter Kettenlänge. Der Einbau von OG in E200H führt hierbei eher zur Destabilisierung der Vesikelmembranen, was sich durch einen kleineren R_e^{sat} -Wert ausdrückt. Die höheren R_e^{sol} -Werte der Lipide DAPC und DSPC gegenüber denen von DPPC und DMPC deuten darauf hin, daß die Form

und Größe der entstehenden gemischten Mizellen differieren, da die Molverhältnisse Detergens zu Lipid in den Aggregaten sich deutlich unterscheiden. Gleiches gilt auch für die Solubilisierung der Lezithine mit OG in pH 6 Phosphatpuffer (siehe die folgenden Abbildungen). Die Ionenstärke des Puffers bewirkt nur eine leichte Verringerung der Phasengrenzensteigung außer bei E200H und der Solubilisierungsgrenze von P90g. Die Werte der effektiven Molverhältnisse sind jeweils am Ende der Kapitel tabellarisch zusammengefaßt.

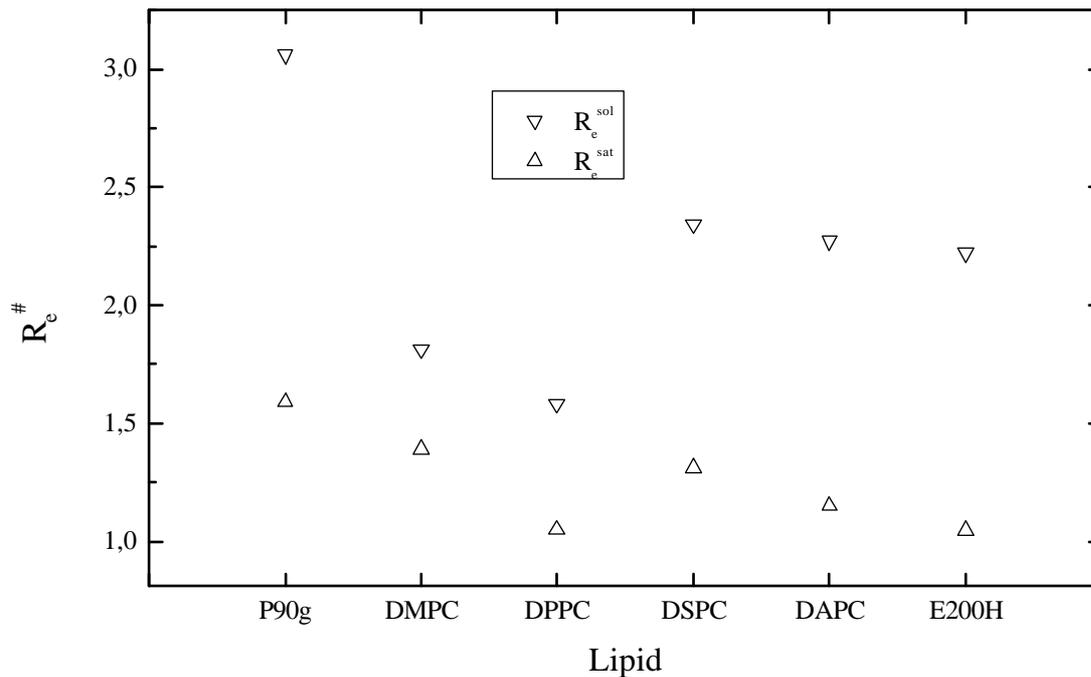


Abb. 29 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen von OG-Lezithin-Systemen in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C.

70 °C	H ₂ O				pH 6 Phosphatpuffer			
Lipid	D _W ^{sat}	R _e ^{sat}	D _W ^{sol}	R _e ^{sol}	D _W ^{sat}	R _e ^{sat}	D _W ^{sol}	R _e ^{sol}
P90g	19,3	1,7	21,5	2,6	18,8	1,6	19,2	3,1
DMPC	17,3	1,7	18,6	2,0	16,3	1,3	17,6	1,8
DPPE	17,6	1,5	19,9	1,9	17,6	1,1	18,7	1,6
DSPE	18,7	1,3	19,4	2,5	17,3	1,3	17,8	2,3
DAPC	20,2	1,2	20,8	2,4	17,9	1,2	18,8	2,3
E200H	16,4	0,9	17,0	2,0	17,2	1,1	17,9	2,2

Tab. 7 D_W[#]- und R_e[#]-Werte für die Solubilisierung der Lezithine mit OG bei 70 °C.

4.3.2 Kopfgruppenabhängigkeit von $R_e^\#$ für die Solubilisierung mit OG in Wasser und pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C

Die Stabilität der Membran ist unter anderem von den attraktiven Wechselwirkungen zwischen den Lipidkopfgruppen abhängig und nimmt in der Reihenfolge PA>PC>PG ab. Dies ist bedingt durch die in umgekehrter Richtung zunehmenden intramolekularen H-Brückenbindungen, die bei PG den labilsten Zusammenhalt der Membran bewirken [14]. Der Einbau von OG schwächt nun die lamellare Struktur und die dazu benötigte Menge an Tensid ist folglich bei PG geringer als bei PC und PA.

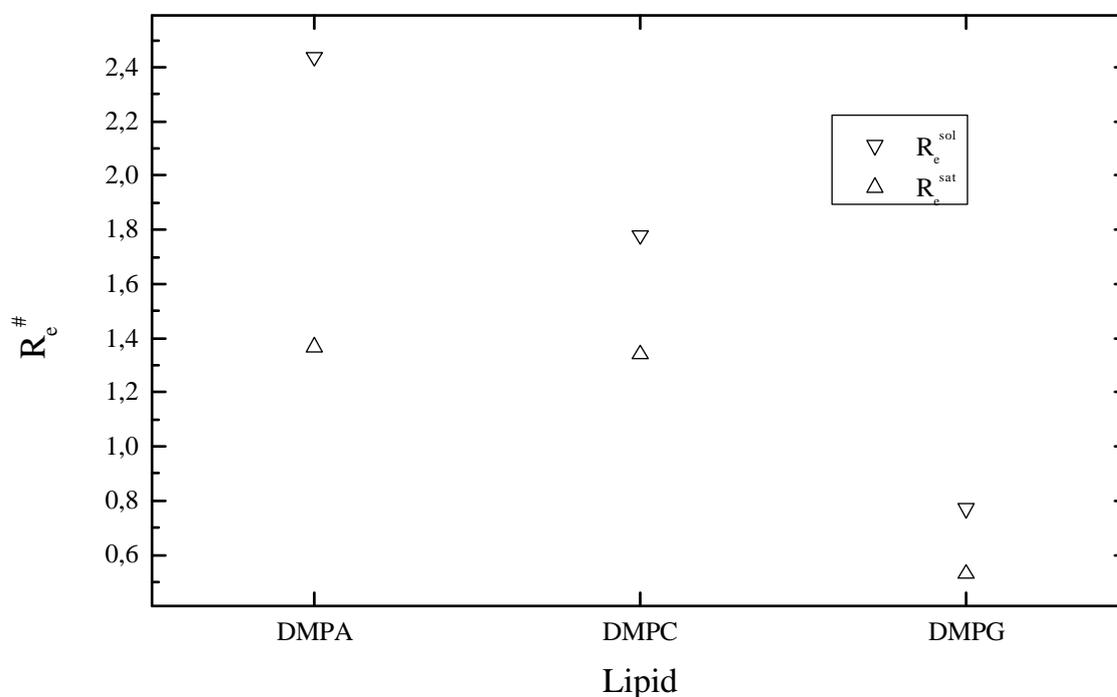


Abb. 30 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen der synthetischen Lipide mit C_{14} -Acylkette in Abhängigkeit der Kopfgruppe. Solubilisiert mit OG in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C.

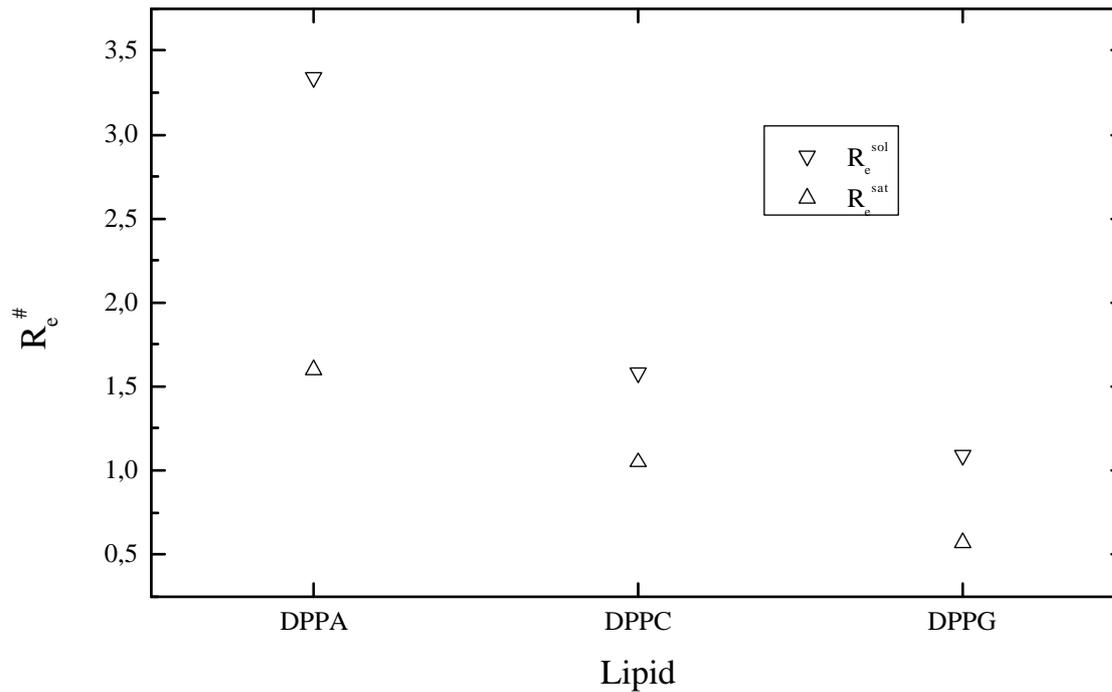


Abb. 31 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen der synthetischen Lipide mit C_{16} -Acylkette in Abhängigkeit der Kopfgruppe. Solubilisiert mit OG in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C.

70 °C	pH 6 Phosphatpuffer				70 °C	pH 6 Phosphatpuffer			
Lipid	D_w^{sat}	R_e^{sat}	D_w^{sol}	R_e^{sol}	Lipid	D_w^{sat}	R_e^{sat}	D_w^{sol}	R_e^{sol}
DMPA	14,6	1,4	17,6	2,4	DPPA	13,0	1,6	12,7	3,3
DMPC	16,3	1,3	17,2	1,8	DPPC	17,6	1,1	18,7	1,6
DMPG	6,1	0,5	7,2	0,8	DPPG	7,5	0,6	8,3	1,1

Tab. 8 Kopfgruppenabhängige $D_w^{\#}$ - und $R_e^{\#}$ -Werte für die Solubilisierung mit Octylglucosid in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C.

4.3.3 Kettenlängenabhängigkeit von $R_e^{\#}$ der Lezithine solubilisiert mit DM in Wasser und in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C

Die Solubilisierung der Lezithine mit Dodecylmaltosid zeigt bei den synthetischen Lipiden sowohl in Wasser als auch in pH 6 Phosphatpuffer eine geringe Kettenlängenabhängigkeit der Sättigungsgrenze. Das effektive Molverhältnis nimmt in Wasser von DAPC nach DMPC ab, also genau umgekehrt als bei Octylglucosid. Der Trend der Solubilisierungsgrenze zeigt ebenfalls eine Abnahme von DAPC nach DMPC.

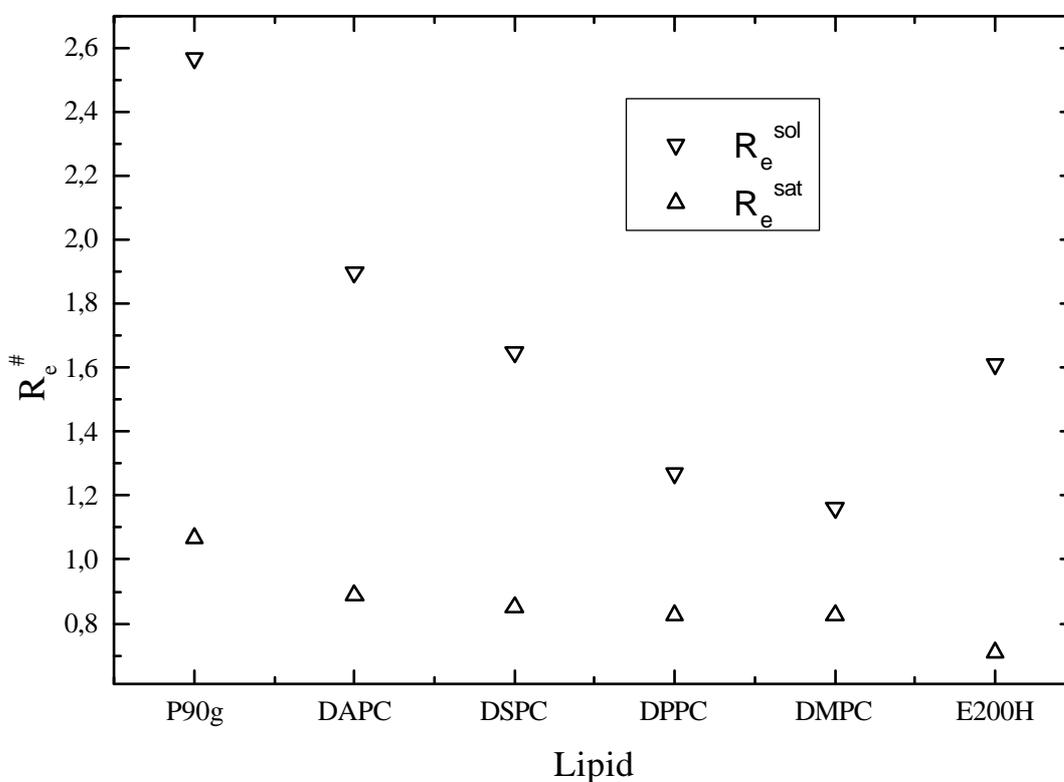


Abb. 32 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen von DM-Lezithin-Systemen in Wasser bei 70 °C.

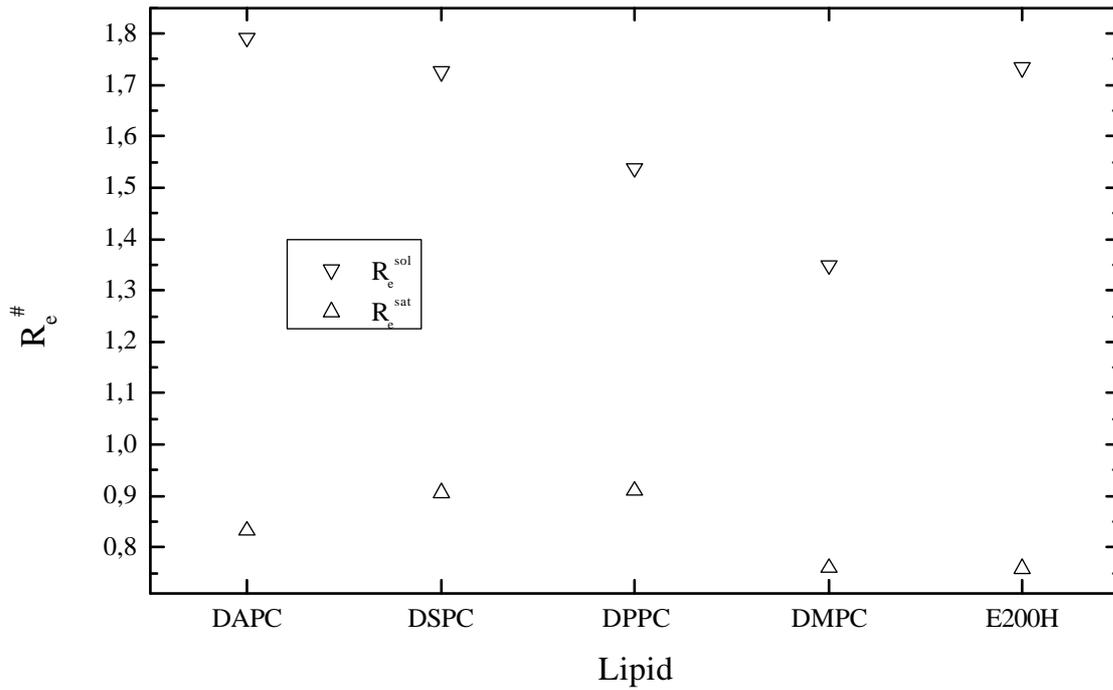


Abb. 33 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen von DM-Lezithin-Systemen in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 .

70 °C	H ₂ O				pH 6 Phosphatpuffer			
Lipid	D_W^{sat}	R_e^{sat}	D_W^{sol}	R_e^{sol}	D_W^{sat}	R_e^{sat}	D_W^{sol}	R_e^{sol}
P90g	0,4	1,1	-0,2 [§]	2,6	---	---	---	---
DAPC	0,5	0,9	0,5	1,9	0,4	0,8	-0,2 [§]	1,8
DSPC	0,4	0,9	0,5	1,7	0,3	0,9	0,5	1,7
DPPC	0,1	0,8	0,2	1,3	0,1	0,9	0,0	1,5
DMPC	-0,1 [§]	0,8	0,2	1,2	0,2	0,8	0,0	1,4
E200H	0,5	0,7	0,5	1,6	0,3	0,8	0,5	1,7

Tab. 9 $D_W^{\#}$ - und $R_e^{\#}$ -Werte für die Solubilisierung der Lezithine mit DM bei 70 °C in Wasser und pH 6 Phosphatpuffer. [§] Negative Werte sind bedingt durch den Fehler der linearen Regression.

4.3.4 Kopfgruppenabhängigkeit der Lipide solubilisiert mit DM in pH6 Phosphatpuffer

Für die Solubilisierung mit DM erkennt man den gleichen Trend der effektiven Molverhältnisse der Phasengrenzen in Abhängigkeit der Kopfgruppe wie für die Solubilisierung der Lipide mit OG. Die Werte jedoch liegen für DM deutlich niedriger.

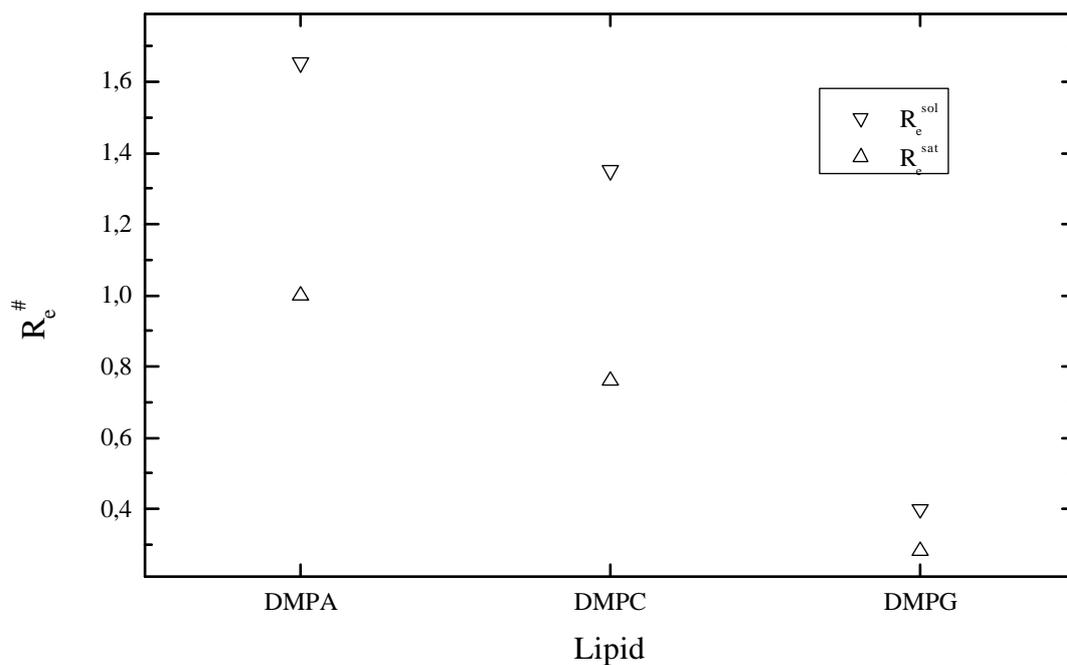


Abb. 34 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen der synthetischen Lipide mit C_{14} -Acylkette in Abhängigkeit der Kopfgruppe. Solubilisiert mit DM in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C.

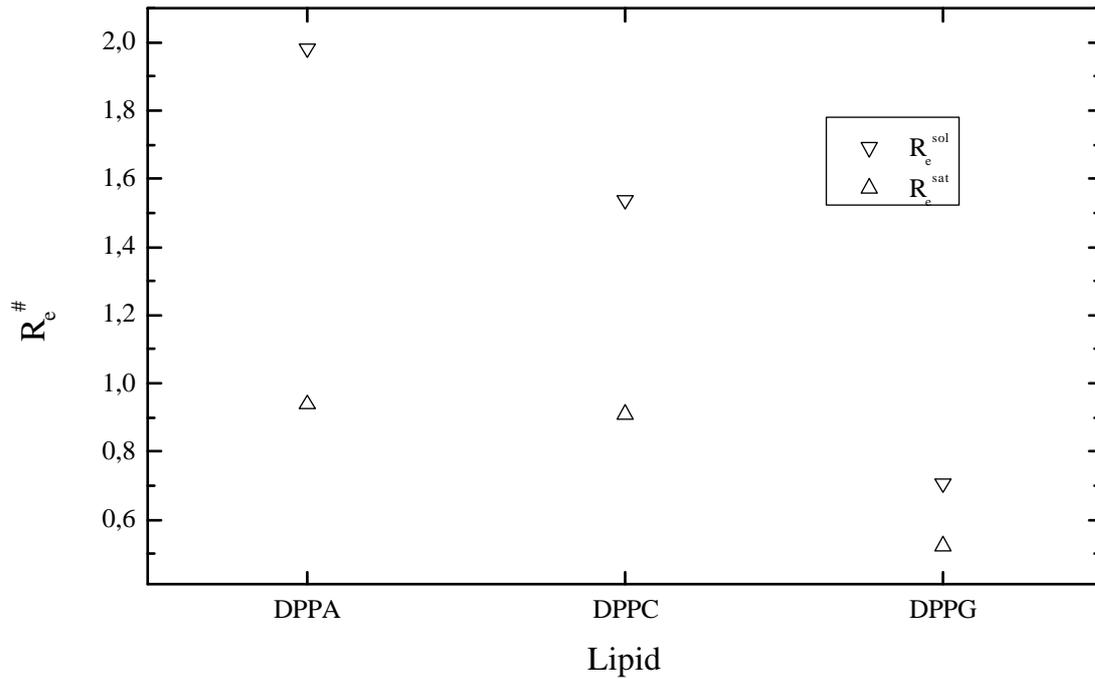


Abb. 35 Effektives Molverhältnis der Phasengrenzen der synthetischen Lipide mit C₁₆-Acylketten in Abhängigkeit der Kopfgruppe. Solubilisiert mit DM in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C.

70 °C	pH 6 Phosphatpuffer				70 °C	pH 6 Phosphatpuffer			
Lipid	D_w^{sat}	R_e^{sat}	D_w^{sol}	R_e^{sol}	Lipid	D_w^{sat}	R_e^{sat}	D_w^{sol}	R_e^{sol}
DMPA	0,3	1,0	0,6	1,7	DPPA	0,6	0,9	0,6	2,0
DMPC	0,2	0,8	0,0	1,4	DPPC	0,1	0,9	0,0	1,5
DMPG	0,4	0,3	0,6	0,4	DPPG	0,2	0,5	0,4	0,7

Tab. 10 Kopfgruppenabhängige $D_w^{\#}$ - und $R_e^{\#}$ -Werte für die Solubilisierung mit Dodecylmaltosid bei 70 °C in pH 6 Phosphatpuffer.

4.3.5 Temperaturabhängigkeit der Phasengrenzen und T_H -Bestimmung am Beispiel Octylglucosid / Phospholipon P90/90g

Die Phasengrenzen sind nur schwach temperaturabhängig. Gegen höhere Temperaturen erkennt man einen leichten Anstieg, der bei der Sättigungsgrenze deutlicher ausgeprägt ist als bei der Solubilisierungsgrenze.

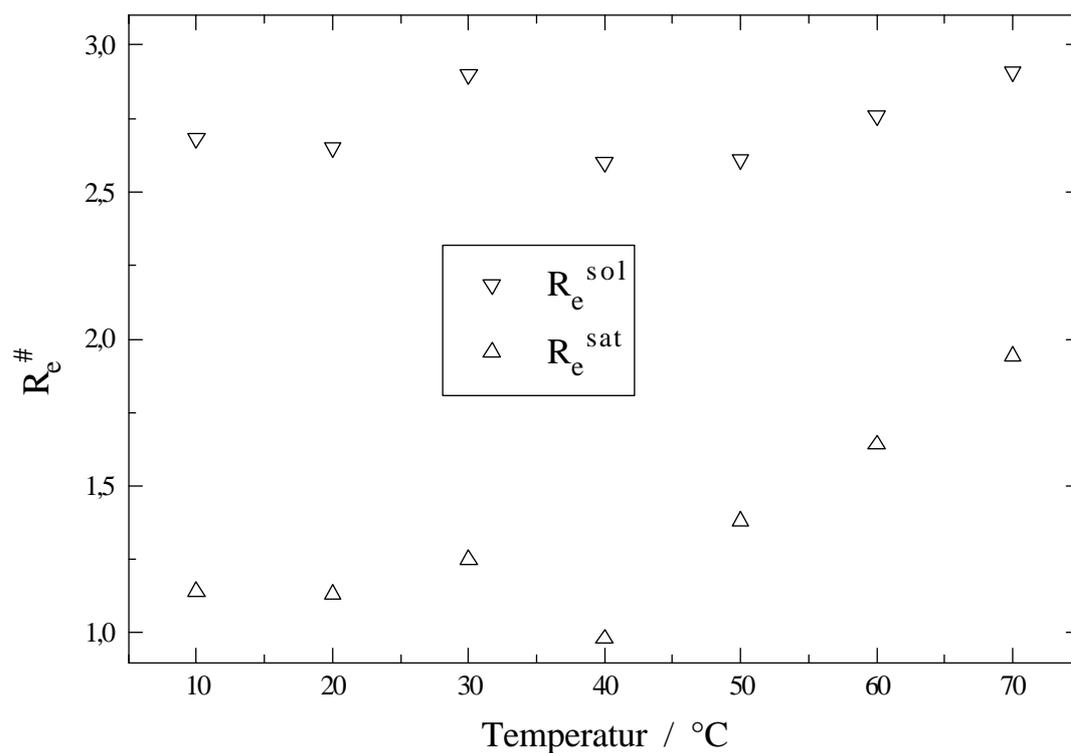


Abb. 36 Temperaturabhängigkeit der Phasengrenze am Beispiel P90/90g solubilisiert mit OG.

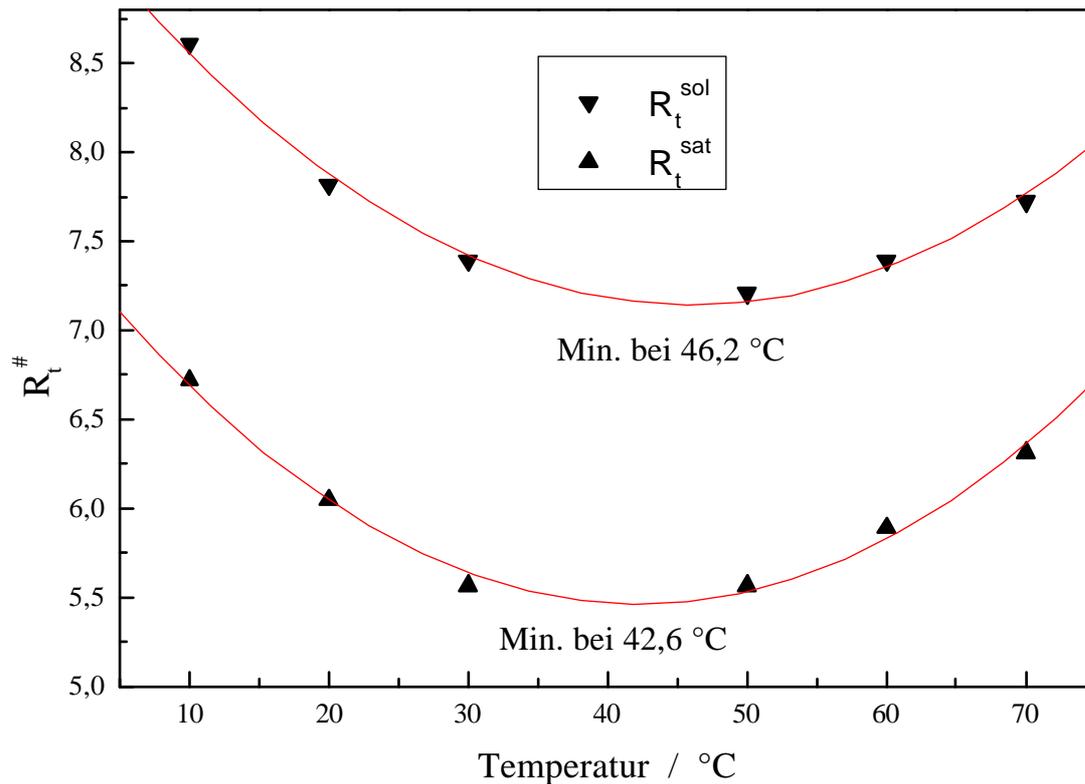


Abb. 37 Temperaturabhängigkeit des Gesamtverhältnisses $R_t^{\#}$ der Solubilisierung von P90g mit OG bei $L = 5 \text{ mM}$ in Wasser.

Dem hydrophoben Effekt entsprechend sind analog der Demizellisierung auch die Reaktionsenthalpien der Solubilisierung temperaturabhängig. In Abb. 38 sind die Kalorigramme der Solubilisierung von 2 mM P90g mit 250 mM OG in Wasser aufgetragen. Neben der Abnahme und Umkehr der Absolutwerte der Reaktionsenthalpie mit steigender Temperatur erkennt man auch eine leichte Verschiebung der Wendepunkte des intermediären Extremwertes.

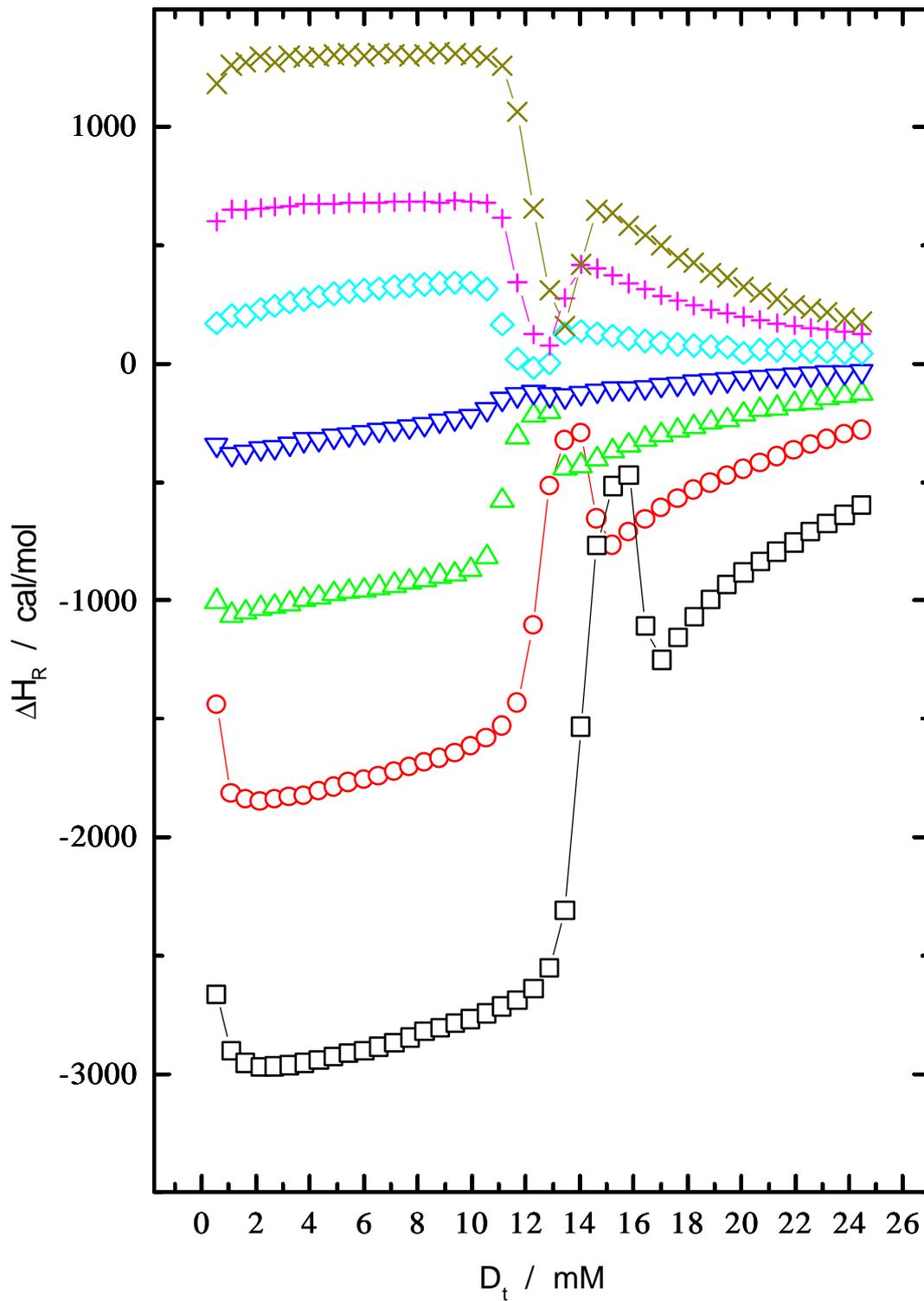


Abb. 38 Isotherme Solubilisierungskalorigramme von 2 mM Phospholipon 90/90g mit 250 mM Octylglucosid in Wasser mit steigender Temperatur von unten nach oben in 10 °C Schritten von 10 - 70 °C.

Zur T_H -Bestimmung des Sättigungsprozesses wurden der Nulldurchgang der Reaktionsenthalpie und das Minimum der R_t^{sat} -Werte herangezogen. Die Reaktionsenthalpie der Sättigung ist die Enthalpiedifferenz zwischen dem intermediären Extremwert und der linearen Regression des Anfangsbereichs der Solubilisierungskurve am Wendepunkt der Sättigung.

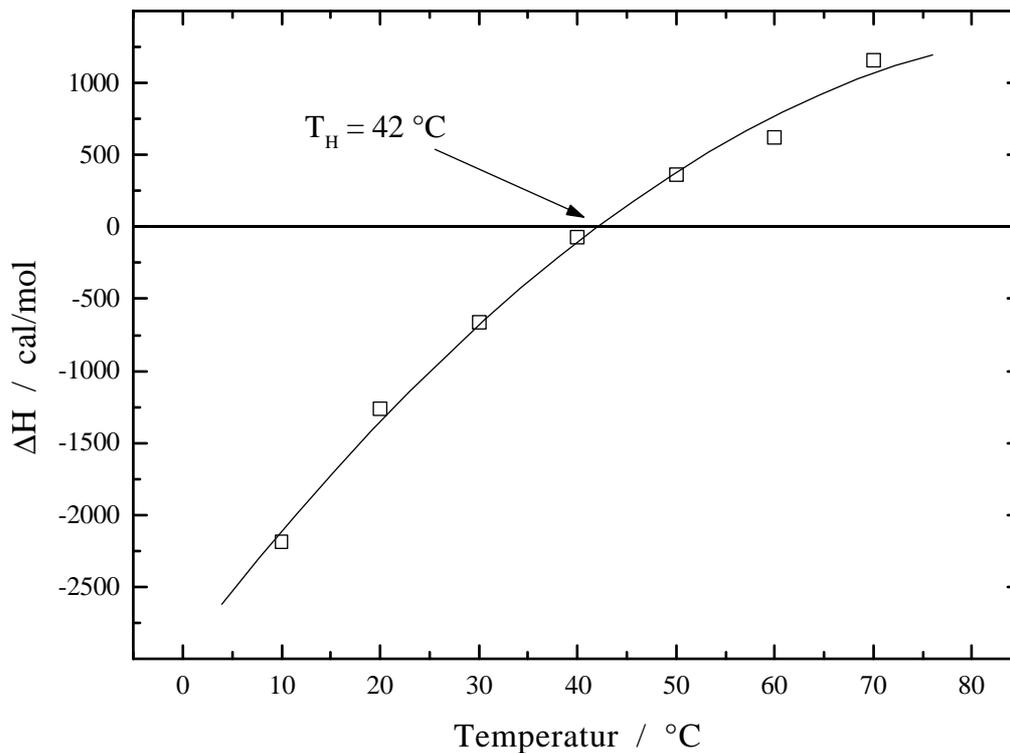


Abb. 39 T_H -Bestimmung durch polynomiale Anpassung 2. Grades der Enthalpie der Solubilisierung von 2 mM P90g mit OG in Wasser. T_H liegt bei 42 °C. Angepaßt durch Polynom 2. Grades $y = -2971 + 90x - 0,469x^2$.

4.3.6 Solubilisierung in Abhängigkeit der Vesikelgröße

Zur Untersuchung, ob die Vesikelgröße der eingesetzten Lipiddispersion einen Einfluß auf das Solubilisierungsverhalten aufweist, wurden drei Lipiddispersionen mit unterschiedlich großen Vesikeldurchmessern präpariert und die $D_t^\#$ - gegen die $L^\#$ -Werte aufgetragen. Außerdem wurden die Phasengrenzen der Solubilisierung resp. der Sättigung eingezeichnet. Es läßt sich kein Trend der Solubilisierungsgrenzen in Abhängigkeit der ursprünglich eingesetzten

Vesikelgröße aufzeigen. Die Phasengrenzen der Solubilisierung sind im Rahmen der Meßgenauigkeit nicht von der Vesikelgröße abhängig [110].

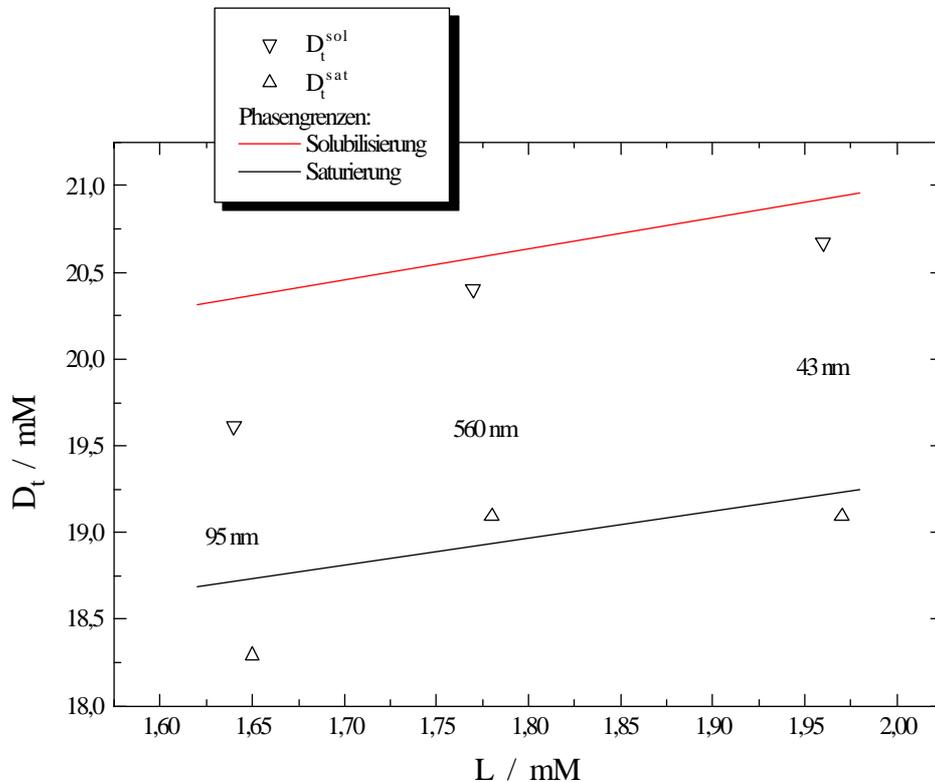


Abb. 40 Solubilisierung von DMPC-Dispersionen verschiedener Vesikeldurchmesser mit OG in Wasser bei 27 °C. Die eingezeichneten Linien sind die Grenzen aus dem Phasendiagramm Abb. 26 mit 100 nm Vesikeln.

4.3.7 Solubilisierung von DMPC / DMPG Gemischen mit OG in pH 6 Phosphatpuffer

Das Lipid DMPG läßt sich mit weniger Detergens solubilisieren als DMPC. Die Verteilungskoeffizienten von DMPG an den Phasengrenzen sind mit $P^{\text{sat}}=3072$ und $P^{\text{sol}}=3280$ deutlich höher als die von DMPC mit $P^{\text{sat}}=1909$ und $P^{\text{sol}}=2027$. Es wurde angenommen, daß sich die Verteilungskoeffizienten P linear als Funktion des Molenbruchs zwischen den Reinkomponenten verhalten. Somit kann man $D_t^{\#}$ als Funktion von X_{MC} auftragen. Die $D_t^{\#}$ -Werte liegen für die Solubilisierung der Gemische DMPC/DMPG zwischen denen der reinen Lipide. Das Solubilisierungsverhalten der Gemische ist nicht ideal, da die

Molenbruchabhängigkeit von $D_t^{\#}$ sich nicht linear zwischen den Werten der reinen Lipide verhält. Bei größerem Molenbruch X_{MC} wirkt der DMPG Anteil stabilisierend auf die Lipidmembran besonders wird jedoch die Solubilisierungsgrenze erhöht. Wohingegen bei kleinerem X_{MC} die Saturierung der Lipiddoppelschicht früher einsetzt, und somit die Vesikel destabilisiert werden.

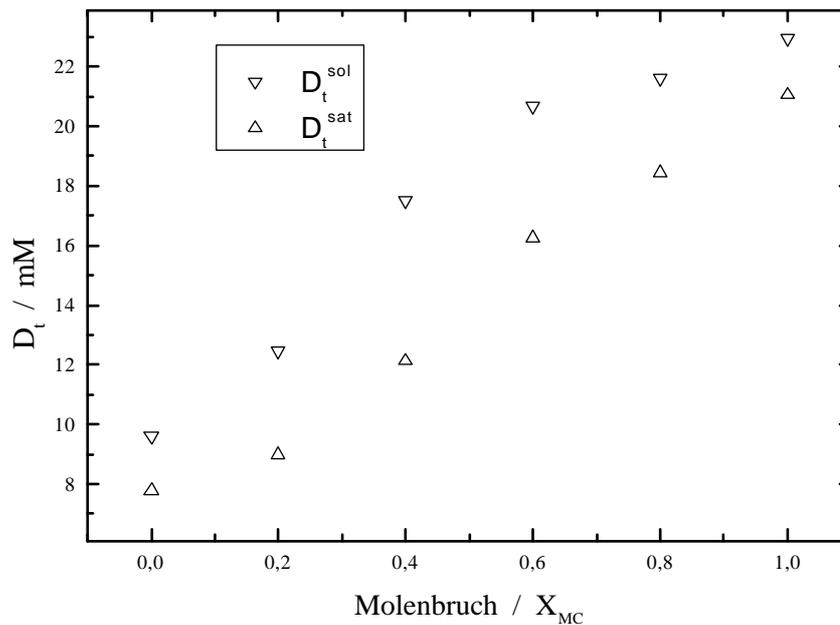
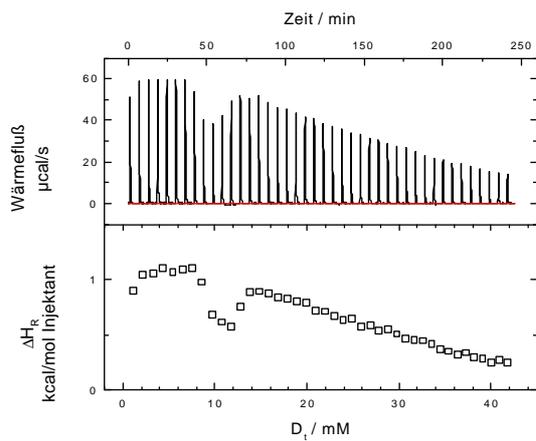
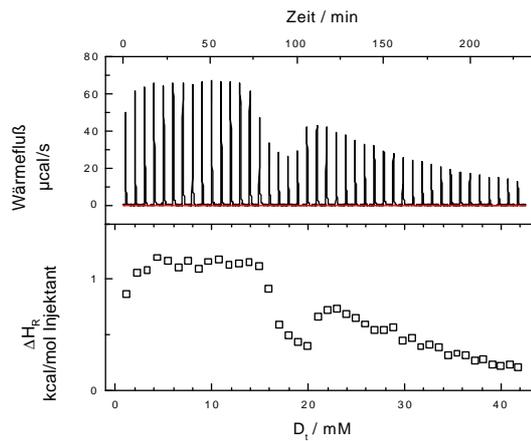
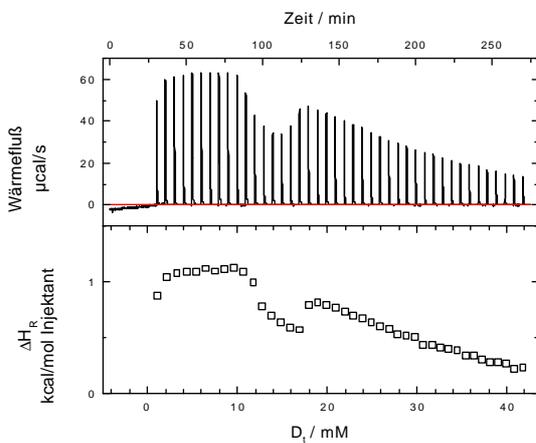
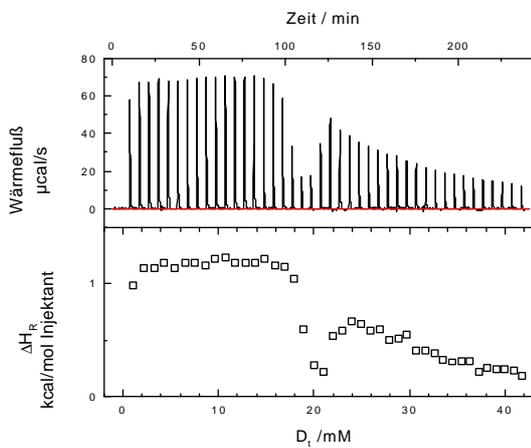


Abb. 41 Detergenskonzentration an den Phasengrenzen für die Lipidgemische DMPC/DMPG und deren Reinkomponenten solubilisiert mit OG in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C mit $L=3$ mM.

Die Phasengrenzen des Koexistenzbereichs wurden wie vorher an den Wendepunkten des intermediären Extremums bestimmt. Das bei der Reinkomponente DMPC auftretende Extremum verbreitert sich bei den Gemischen und bei DMPG zu einem 'Extremwertbereich'. Im Koexistenzbereich zeigt die letzte Injektion vor der Solubilisierungsgrenze nach der schnellen endothermen eine langsame exotherme Kinetik. Dies könnte ein Hinweis auf Veränderungen von Domänen sein, wie sie Schürholz beschreibt [75]. Der Koexistenzbereich konnte wegen der Empfindlichkeitsgrenze des ITC nicht weiter aufgelöst werden. Nachfolgend sind die Rohdaten der Gemische und deren Integrale aufgeführt.

Abb. 42 $X_{MC} = 0,2$ Abb. 44 $X_{MC} = 0,6$ Abb. 43 $X_{MC} = 0,4$ Abb. 45 $X_{MC} = 0,8$

Solubilisierung der Gemische DMPC / DMPG mit OG in pH 6 Phosphatpuffer bei 70°C. Die Gesamtlipidkonzentration L beträgt 3 mM.

4.3.8 Diskussion und Zusammenfassung

Die isotherme Titrationskalorimetrie hat sich in den letzten Jahren als leistungsstarke Methode zur Untersuchung des Solubilisierungsprozesses durch Detergenzzugabe etabliert. Als erste beschrieben Heerklotz et. al. den Einsatz der ITC im Zusammenhang mit dieser Problemstellung [66]. Als Detergens der Wahl entwickelte sich mehr und mehr das nichtionogene Octylglucosid, welches 1938 erstmals von Noller und Rockwell synthetisiert, und 1975 von Baron und Thompson wegen seiner leichten Dialysierbarkeit zur Rekonstitution von Proteinen in Lipidvesikeln genutzt wurde [67,68]. Das auszeichnende Merkmal von OG besteht in seiner Milde bezüglich der Denaturierung von Proteinen beim Vorgang der Solubilisierung [43,69]. Außerdem ist es wegen seiner relativ hohen CMC auch leicht wieder aus der Lösung zu entfernen, wodurch es sich zur Rekonstitution von Proteoliposomen besonders eignet [64,70-73]. Durch Derivatisierung von OG fand man für die Solubilisierung und Rekonstitution von Cytochrom-c-Oxidase das noch besser geeignete Dodecylmaltosid [52,64]. In Anbetracht ihrer guten Eigenschaften wurden diese Detergentien in dieser Arbeit zur Solubilisierung verwandt.

An den Wendepunkten der intermediären Extrema der Solubilisierungskalorigramme lassen sich die Detergens- und Lipidkonzentrationen der Phasengrenzen des Koexistenzbereichs bestimmen. Man erhält durch lineare Regression der so erhaltenen Wertepaare die Steigung der jeweiligen Phasengrenze $R_e^{\#}$ und die hypothetische CMC des Tensids in Anwesenheit von Lipid $D_w^{\#}$ (vgl. Gl. 23). R_e^{sat} ist das effektive Molverhältnis der an Detergens gesättigten, gemischten Vesikel. Je niedriger dieser Wert ist, desto leichter lassen sich die lamellaren Doppelschichten durch das eingebaute Detergens destabilisieren. Der R_e^{sol} -Wert gibt das effektive Molverhältnis der an Lipid gesättigten, gemischten Mizellen wieder. Je niedriger dieser Wert ist, desto größer ist die Solubilisierungskraft des Tensids für das jeweilige Lipid. Die Solubilisierungskraft von Dodecylmaltosid ist größer als die von Octylglucosid, wie auch durch die deutlich niedrigeren R_e^{sol} -Werte in dieser Arbeit zu sehen ist [74,75]. Die Steigungen der Phasengrenzen sowohl von R_e^{sat} als auch von R_e^{sol} , zeigen den gleichen Trend für die Solubilisierung mit OG und DM in Abhängigkeit der Kopfgruppe der untersuchten Lipide (vgl. Abb. 30, Abb. 31 und Abb. 34, Abb. 35). Beide Werte nehmen in der Reihenfolge PA>PC>PG ab. Die Ursache dieses Trends liegt in der Stabilität der Membran begründet. Neben dem hydrophoben Effekt und ionischen Wechselwirkungen - im Falle von DMPG sind

diese aufgrund der Kopfgruppenladung repulsiv - sind auch attraktive Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen, wie z.B. intermolekulare H-Brückenbindungen wirksam. Diese nehmen in der gleichen Reihenfolge wie oben ab. Für die Solubilisierung mit OG in Wasser und pH 6 Phosphatpuffer nehmen die R_e^{sat} -Werte mit steigender Acylkettenlänge des Lipids ab, was auch so zu erwarten gewesen ist, denn die C₈-Kette von OG ist dem hydrophoben Molekülteil des DMPC ähnlicher als dem des DAPC. Somit läßt es sich auch leichter in die DMPC Membran integrieren. Der diskontinuierliche Verlauf der R_e^{sol} -Werte deutet auf einen gravierenden Unterschied in Form und Größe der entstehenden gemischten Mizellen von DAPC und DSPC gegenüber DPPC und DMPC hin. Die Spanne des Koexistenzgebietes jedoch nimmt mit längerwerdenden Acylketten der Lipide zu. Es bedarf eines größeren Detergens Lipid Verhältnisses, um die längerkettigen Lipide in mizellarer Form zu stabilisieren.

In Wasser und pH 6 Phosphatpuffer ist die Sättigungsgrenze mit DM nahezu unabhängig von der Kettenlänge des Lipids. Die Solubilisierungsgrenze nimmt von DAPC nach DMPC, also entgegen dem Trend bei OG ab. Es wurden bei den Untersuchungen mit dem Tensid DM gleich zwei Parameter verändert, nämlich die Größe der Kopfgruppe und die Alkylkettenlänge. Somit läßt sich nicht eindeutig feststellen welches der beiden Änderungen den größeren Einfluß zeigt. Eine eindeutige Klärung bedarf noch weiterer Untersuchungen mit noch weiteren Tensiden.

Der Puffereinfluß bewirkt bei der Solubilisierung der synthetischen Lipide mit OG eine Erniedrigung der $R_e^{\#}$ -Werte, d.h. die mizellare Form wird durch die Salzkonzentration favorisiert. Bei DM ist der Effekt zu klein um einen eindeutigen Trend zu beobachten.

Für das System OG/P90g/H₂O wurde im Temperaturintervall von 10-70 °C nur eine schwache Temperaturabhängigkeit der Phasengrenzen festgestellt. Die R_e^{sat} -Werte steigen bei höheren Temperaturen etwas stärker an als die R_e^{sol} -Werte.

Am System OG/DMPC wurde der Einfluß der Größe der eingesetzten Lipidvesikel auf das Solubilisierungsverhalten untersucht. Es zeigten sich keine Unterschiede im Rahmen der Meßgenauigkeit.

Bei der Solubilisierung der Lezithine mit OG wurde im Koexistenzgebiet eine makroskopische Phasenseparation festgestellt [47,75,76]. Der Phasenseparationsbereich wurde mit Hilfe optischer Methoden wie z.B. der Lichtstreuung beobachtet (vgl. Kapitel Lichtstreuung). Bei Lipidgemischen mit mehr als 10 % an geladenen Lipiden tritt diese Separation nicht auf [75]. Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen mit OG ergaben eine makroskopische Phasenseparation bei P90g und DMPC nicht jedoch bei DMPG. Bei dem Soja PC liegt die

Grenze der makroskopischen Phasenseparation parallel und leicht tiefer als die kalorimetrisch bestimmte Solubilisierungsgrenze. Bei DMPC liegt die makroskopische Phasenseparation deutlich oberhalb der Solubilisierungsgrenze. Bei DMPG taucht keine makroskopische Phasenseparation auf, was auch nach den Beobachtungen von Schürholz zu erwarten gewesen ist, denn PG ist unter den hier angewandten Bedingungen ein negativ geladenes Lipid.

Während des Solubilisierungsexperiments mit OG/DMPG beobachtet man bei 30 °C eine starke Basislinienverschiebung im Bereich des Koexistenzgebietes. Die Ursache dieser Verschiebung ist eine starke Viskositätsänderung, die im Verlauf der Titration zu einem erhöhten Wärmeeintrag in die Probe führt (vgl. Kapitel. Rheologie). Die Viskosität ist eine Funktion der Temperatur, die mit steigender Temperatur abnimmt. Ihr Einfluß ist bei 70 °C fast nicht mehr zu erkennen.

Bei den Gemischen DMPC/DMPG mit $L = 3 \text{ mM}$ bei 30 °C verschwindet schon bei kleinem Molenbruch von DMPC X_{MC} die Basislinienverschiebung. Bei $= 0,2$ ist sie fast unbedeutend geworden.

4.4 Verteilungsexperimente

Die in dieser Arbeit durchgeführten Verteilungsexperimente werden durch die Pfeile II und III im allgemeinen Phasendiagramm Abb. 12 schematisch beschrieben. Bei II legt man monomere Detergenslösung in der Probenzelle vor und titriert dazu eine vesikuläre Lipiddispersion. Für die Experimente gemäß Pfeil III wird dagegen Lipiddispersion in der Probenzelle vorgelegt und monomere Detergenslösung zutitriert. Bei Zugabe von Detergens zu Lipidvesikeln wird angenommen, daß sich das Tensid zwischen der wäßrigen Phase und der Lipidmembran verteilt. Für diese Verteilung läßt sich ein Verteilungskoeffizient P aufstellen, der definiert ist als Quotient der Molenbrüche des Detergens in der wäßrigen und in der Lipidphase Gl. 28 [19,44,79,80,111].

$$P = \frac{X_e}{X_w} \quad \text{Gl. 24}$$

mit X_e = Molenbruch des Detergens in der Doppelschicht, und X_w = Molenbruch des Detergens in Wasser.

$$X_e = \frac{D_e}{D_e + L} \quad \text{Gl. 25}$$

$$X_w = \frac{D_w}{D_w + W} \quad \text{Gl. 26}$$

D_e ist die Detergenskonzentration in der Doppelschicht und D_w diejenige in Wasser. L ist die Lipidkonzentration und W die Wasserkonzentration. Die Konzentrationen beziehen sich auf das gesamte Probenvolumen. Setzt man Gl. 25 und Gl. 26 in Gl. 24 ein, so ergibt sich der Verteilungskoeffizient P zu:

$$P = \frac{D_e \cdot (D_w + W)}{(D_e + L) \cdot D_w} \quad \text{Gl. 27}$$

4.4.1 Titration von Lipidvesikeln zu Detergensmonomeren

Ausgehend von der Gleichung für den Verteilungskoeffizient Gl. 27 erhält man durch einsetzen von Gl. 21 $D_w = D_t - D_e$ (D_t ist die Gesamtdetergenskonzentration) mit der Näherung $D_w + W \approx W$, da $W \gg D_w$, die Detergenskonzentration im Aggregat D_e [79,81].

$$D_e = \frac{1}{2P} \left[P(D_t - L) - W + \sqrt{P^2 (D_t + L)^2 - 2 \cdot P \cdot W(D_t - L) + W^2} \right] \quad \text{Gl. 28}$$

Zur Bestimmung der Änderung von D_e nach Zugabe von ΔL Mol Lipid zu den Detergensmonomeren, wie bei Experimenten nach Pfeil II, muß nach ΔL abgeleitet werden.

$$\frac{\Delta D_e}{\Delta L} = -\frac{1}{2} + \frac{P \cdot (D_t + L) + W}{2 \cdot \sqrt{P^2 \cdot (D_t + L)^2 + 2 \cdot P \cdot W \cdot (L - D_t) + W^2}} \quad \text{Gl. 29}$$

Berücksichtigt man als enthalpische Beiträge bei diesen Verteilungsexperimenten die Transferenthalpie des Detergens und die Verdünnungsenthalpie der Lipidvesikel, so läßt sich die Reaktionswärme Q wie folgt darstellen [79,81].

$$Q = \frac{\Delta D_e}{\Delta L} \cdot \Delta H^T + \Delta H_{\text{dil}} \quad \text{Gl. 30}$$

Darin sind enthalten ΔH^T als Transferwärme für den Übergang des Detergensmoleküls aus der Wasserphase in die Aggregate und ΔH_{dil} als Verdünnungswärme der Lipidvesikel bei der Injektion. Die experimentellen Daten der Reaktionswärme werden durch eine nichtlineare Regression nach dem kleinsten Fehlerquadrat mit ΔH^T und P als Parameter angepaßt. Die Verdünnungswärme ΔH_{dil} wird separat bestimmt. Es zeigt sich, daß deren Beitrag sehr gering ist. Bereits bekannt sind die Werte für die Titration von hochkonzentrierter DMPC-Dispersion zu OG-Monomeren bei 27 °C und 70 °C. Bei der Anpassung wurde D_t als konstant angenommen. Die dazugehörigen Enthalpogramme und die thermodynamischen Werte sind in folgender Graphik und Tabelle dargestellt.

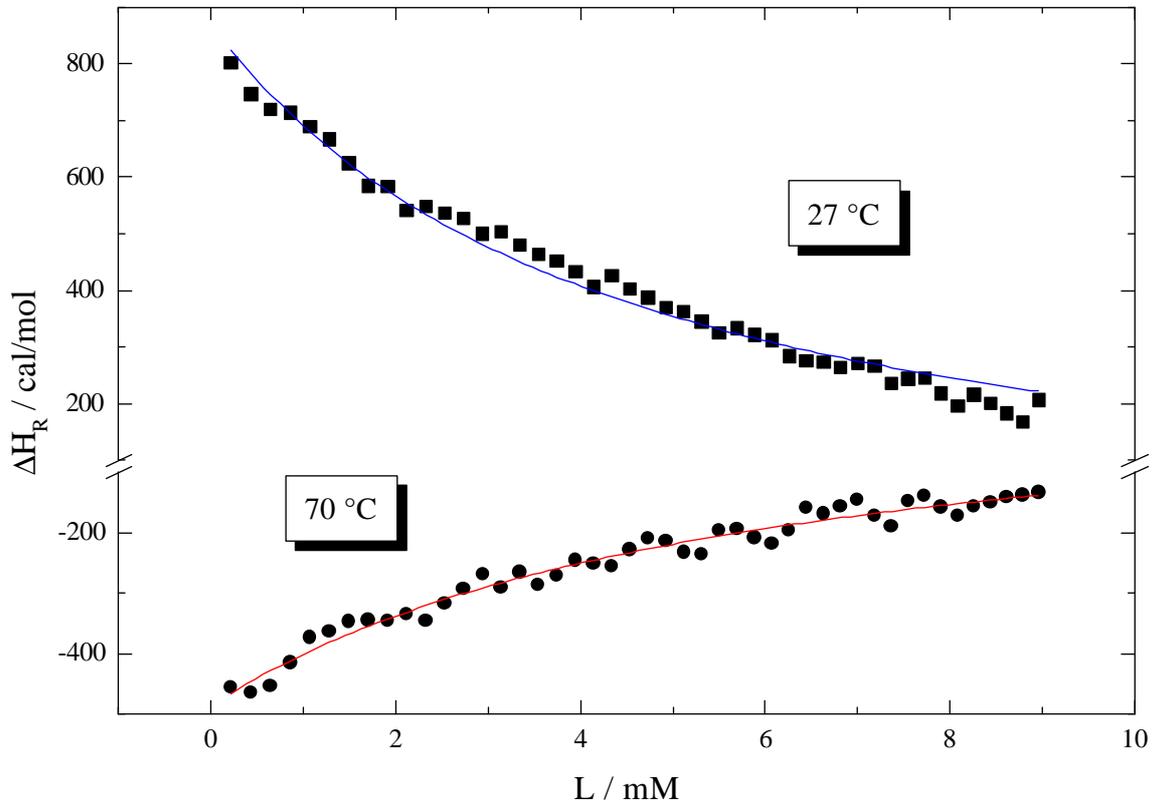


Abb. 46 Verteilungsexperiment mit 49,4 mM DMPC in der Spritze und 3 mM OG-Lösung in der Probenzelle in Wasser bei 27 °C und 70 °C. Zugabemenge à 6 µl [82] Die molare Reaktionswärme ΔH entspricht der Größe Q im Text.

T °C	Spritze mM	Zelle mM	P	K 1/mM	ΔH^T cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol
27	49,4	3	3573	0,065	3613	-13
70	49,4	3	2826	0,052	-2711	26

Tab. 11 Verteilungsexperiment mit 49,4 mM DMPC in der Spritze und 3 mM OG-Lösung in der Zelle bei 27 °C und 70 °C in Wasser [82].

Im Laufe der Titration wird aus technischen Gründen Lösung aus der Probenzelle verdrängt und die Konzentration der vorgelegten Detergenslösung nimmt dadurch leicht ab. Dieser Tatsache wurde bei den weiteren Anpassungen Rechnung getragen, indem die Detergenskonzentration als lineare Funktion der Lipidkonzentration angesetzt wurde.

Zur Berechnung des dimensionsbehafteten Verteilungskoeffizienten K wurde P durch die Wasserkonzentration bei der jeweiligen Temperatur dividiert.

Spritze mM	Zelle mM	P	K 1/mM	ΔH^T cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol
15	4,8	2525	0,046	3486	-43
15	8,0	1829	0,033	3379	-43
15	11,0	1884	0,034	3443	-43
15	14,0	1667	0,030	3085	-43

Tab. 12 Verteilungsexperiment mit DMPC in der Spritze und OG in der Zelle bei 30 °C in Wasser [83].

Während des Experiments nimmt die Lipidkonzentration von 0 bis ca. 3 mM zu. Die Detergengkonzentration ist so gewählt, daß keine Demizellisierungseffekte, die ja wesentlich größer sind als die Reaktionswärme der Verteilung, die Messung beeinflussen. Die Größe der injizierten Lipidvesikel variierte im Bereich von 70-110 nm. Bei den Experimenten bei 30 °C nimmt der Verteilungskoeffizient mit steigender Detergengkonzentration der Vorlage in der Probenzelle ab. Das heißt, daß für den ersten Einbau von Detergensmonomeren der Verteilungskoeffizient am größten ist. Ebenso verhält es sich mit der Transferenthalpie, die mit zunehmendem Detergenseinbau abnimmt.

Die Messungen bei 70 °C in pH6 Phosphatpuffer zeigen ebenso eine Abnahme des Verteilungskoeffizienten mit steigender Detergengkonzentration in der Zelle. Jedoch die Absolutwerte der Transferenthalpie steigen leicht an.

Spritze mM	Zelle mM	P	K 1/mM	ΔH^T cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol
14,9	4	3001	0,055	-3005	62
14,9	7	2283	0,042	-3324	62

Tab. 13 Verteilungsexperiment mit DMPC in der Spritze und OG in der Zelle bei 70 °C in pH6 Phosphatpuffer [83].

Betrachtet man nun die thermodynamischen Größen der Verteilung für Lipide mit verschiedenen Kopfgruppen, so findet man eine Abnahme des Verteilungskoeffizienten in Abhängigkeit der Kopfgruppe von PG über PC nach PA. Die Werte hierfür sind in Tab. 14 dargestellt.

Lipid	Spritze mM	Zelle mM	P	K 1/mM	ΔH^T cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol
DPPA	15	7	2786	0,051	-1767	772
DPPC	15	7	3329	0,061	-1387	11
DPPG	15	7	3889	0,072	-1722	-28

Tab. 14 Verteilungsexperiment mit OG in der Zelle und den jeweiligen Lipiden in der Spritze bei 70 °C in pH6 Phosphatpuffer [83].

4.4.2 Titration von Detergensmonomeren zu Lipidvesikeln

In dem zweiten Verteilungsexperiment, beschrieben durch Pfeil III im allgemeinen Phasendiagramm Abb. 12, wird in eine vorgelegte Lipiddispersion monomere Detergensenlösung eintitriert. Diese experimentellen Werte lassen sich im Gegensatz zu den vorigen nicht mit einem konstanten Verteilungskoeffizienten P anpassen [79]. Die Ursache hierfür ist das nichtideale Mischungsverhalten von Detergens und Lipid in den Aggregaten. Zur Anpassung dieses Verhaltens wurde das „athermische Mischungsmodell“ von Guggenheim verwandt, bei welchem sich die Gibbs'sche freie Mischungsenthalpie ΔG_{mix} wie folgt aus einem idealen und einem Exzeßterm zusammensetzt [80,84].

$$\Delta G_{mix} = \Delta G^{id} + \Delta G^E \quad \text{Gl. 31}$$

Mit dem Exzeßterm:

$$\Delta G^E = \rho \cdot X_e \cdot (1 - X_e) \quad \text{Gl. 32}$$

darin ist ρ der nicht Idealitätsparameter. Die Nichtidealität der Mischung wird in diesem Modell ausschließlich durch die Exzeßmischungsentropie verursacht. Der Verteilungskoeffizient P läßt sich dann wie folgt ausdrücken [80]:

$$P = P_{(X_e=1)} \cdot e^{\frac{-\rho(1-X_e)^2}{R \cdot T}} \quad \text{Gl. 33}$$

$P_{(X_e=1)}$ ist der Verteilungskoeffizient für die hypothetische Verteilung von Detergens in reine Detergensdoppelschichten. Die eingebaute Detergenskonzentration D_e ist durch Gl. 28 gegeben. Zur Bestimmung der eingebauten Detergenskonzentration nach jeder Detergensinjektion muß D_e nach D_t differenziert werden. Dies kann nicht ohne weiteres durchgeführt werden, da Gl. 28 im Bezug auf D_e eine implizite Gleichung ist. In der Definition des Verteilungskoeffizienten P ist D_e auch im Molenbruch enthalten. Zur Lösung dieses Problems benutzt man eine Hilfsfunktion F mit der man die Ableitung durchführen kann [79].

$$F = 0 = -D_e - \frac{1}{2} \cdot \left(L + \frac{W}{P} - D_t \right) + \frac{1}{2} \cdot \sqrt{\left(L + \frac{W}{P} - D_t \right)^2 + 4 \cdot D_t \cdot L} \quad \text{Gl. 34}$$

Die gewünschte Ableitung läßt sich nun aus dem totalen Differential der Funktion F bestimmen.

$$\frac{\Delta D_e}{\Delta D_t} = - \frac{\left(\frac{\delta F}{\delta D_t} \right)_{D_e}}{\left(\frac{\delta F}{\delta D_e} \right)_{D_t}} \quad \text{Gl. 35}$$

Die Reaktionsenthalpie dieses Verteilungsexperiments ergibt sich nun wie folgt:

$$Q = \frac{\Delta D_e}{\Delta D_t} \cdot \Delta H^T + \Delta H_{\text{Dil}} \quad \text{Gl. 36}$$

darin sind ΔH^T die Transferenthalpie des Detergens in die Lipidvesikel und ΔH_{Dil} die Verdünnungsenthalpie der Detergensmonomere bei der Injektion.

Die experimentellen Daten werden in diesem Fall mit drei Parametern, nämlich $P_{(X_e=1)}$ (im weiteren mit P_0 bezeichnet), ΔH^T und ρ angepasst.

4.4.2.1 Abhängigkeit von der Vesikelgröße

Lipid mM	Detergens mM	P_0	ΔH^T cal/mol	ρ cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol	\varnothing nm
3,83	19,7	864	4794	-418	-50	400
3,87	19,7	1761	3393	-518	-50	250

Tab. 15 Thermodynamische Größen in Abhängigkeit des Vesikeldurchmessers. Daten der Verteilungsexperimente mit OG in der Spritze und DMPC-Dispersion in der Probenzelle bei 30 °C in Wasser. Die Schrittweite der Anpassung war jeweils 5.

Der Vesikeldurchmesser besitzt einen deutlichen Einfluß auf die thermodynamischen Größen. Je stärker die Krümmung der Doppelschicht desto größer wird der Verteilungskoeffizient P_0 . Die Transferenthalpie nimmt dabei ab.

4.4.2.2 Konzentrationsabhängigkeit

Lipid mM	Detergens mM	P_0	ΔH^T cal/mol	ρ cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol	\varnothing nm
4	8	5400	2239	164	-80	46
6	8	4135	3174	193	-80	94
10	8	6703	1898	217	-80	62

Tab. 17 Thermodynamische Größen in Abhängigkeit der Konzentration. Daten der Verteilungsexperimente mit OG in der Spritze und DMPC-Dispersion in der Probenzelle bei 30 °C in Wasser. Die Schrittweite betrug jeweils 1. Die Lipiddispersion wurde durch Beschallung hergestellt.

Berücksichtigt man den Vesikeldurchmesser von 94 nm, welcher im Vergleich zu den anderen der Größte ist und eine Verringerung des Verteilungskoeffizienten mit sich bringt, so kann man sich den oben genannten Trend von P_0 vorstellen, daß der Verteilungskoeffizient bei niedrigen Werten für D_e am größten ist.

Lipid mM	Detergens mM	P_0	ΔH^T cal/mol	ρ cal/mol	ΔH_{Dil} cal/mol	\varnothing nm
6	5	3994	3343	170	-50	127
6	8	4135	3174	193	-80	94
6	11	3757	3117	201	-80	103

Tab. 18 Thermodynamische Größen in Abhängigkeit der Konzentration. Daten der Verteilungsexperimente mit OG in der Spritze und DMPC-Dispersion in der Probenzelle bei 30 °C in Wasser. Die Schrittweite betrug jeweils 1. Die Lipiddispersion wurde durch Beschallung hergestellt.

4.4.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die Verteilung der Detergensmoleküle zwischen der wässrigen Phase und den Lipidaggregaten läßt sich mit Hilfe des Verteilungskoeffizienten P beschreiben. Dieser ist definiert als Quotient der Molenbrüche des Detergens in den jeweiligen Phasen. Die Reaktionsenthalpie der Verteilungsexperimente mit parallelem Verlauf zur Abszisse des allgemeinen Phasendiagramms Abb. 12 konnte mit konstantem Verteilungskoeffizienten P angepasst werden. Der Verteilungskoeffizient nimmt mit steigender Konzentration der Detergensvorlage ab. Eine Erklärung hierfür wäre, daß trotz der fluiden flüssigkristallinen Phase L_α , in der sich das Lipid bei den Experimenten bei 30 °C befindet, gewisse anfängliche ‘Fehlstellen’ oder ‘Defekte’ in der Lipidmembran vorhanden sind, die durch den Einbau von Detergensmonomeren behoben werden können. Durch den Detergenseinbau in diese ‘Fehlstellen’ wird Wasser verdrängt und aufgrund des hydrophoben Effektes resultiert die hohe Transferenthalpie. Mit Absättigung der ‘anfänglichen Fehlstellen’ nimmt die Transferenthalpie ab.

Die Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten von der Kopfgruppe des eingesetzten Lipids zeigt einen eindeutigen Trend. Die Abnahme des Verteilungskoeffizienten von DPPG > DPPC > DPPA läßt sich durch die in dieser Richtung zunehmenden intermolekularen H-Brückenbindungen erklären, die dem Einbau der Detergensmoleküle entgegenstehen.

Die Problematik dieser Art von Experimenten war neben dem niedrigen Signal / Rausch Verhältnisses die Instabilität der hochkonzentrierten Lipiddispersion in der Spritze über die Zeit des Experiments.

Zur Anpassung der Reaktionsenthalpie der Verteilungsexperimente, welche parallel zur Ordinate des allgemeinen Phasendiagramms Abb. 12 verlaufen, wurde das athermische Mischungsmodell von Guggenheim herangezogen. Die darin enthaltene Nichtidealität der Mischung wird durch einen entropischen Exzeßterm berücksichtigt.

Bei den Experimenten in Abhängigkeit der Vesikelgröße zeigt sich wie oben bereits diskutiert, daß P_0 mit steigendem Vesikeldurchmesser abnimmt. Die Krümmung der Lipidvesikel ist somit eine wichtige Größe bei der Bestimmung von Verteilungskoeffizienten [85].

Ebenso nicht zu vernachlässigen ist die mathematische Methode zur Ermittlung des Verteilungskoeffizienten. So ließ sich das Intervall für die Schrittweite zur Bestimmung des kleinsten Fehlerquadrates in der mathematischen Software einstellen. Als Resultat erhielt man leider Werte mit recht großer Streuung. Die Ursache hierfür liegt an der Qualität der experimentellen Werte. Bei der in dieser Arbeit durchgeführten Verteilungsexperimenten ist das Signal / Rausch Verhältnis recht klein und am Rande der Auflösung des Kalorimeters. Es ergeben sich somit schon bei der Integration und Basislinienkorrektur grobe Toleranzen. Für die mathematische Anpassung stehen desweiteren nur eine relativ geringe Datenmenge von ca. 20 - 40 Meßpunkten zur Verfügung. Es lassen sich somit bei Experimenten in diesem meßtechnischen Grenzbereich eher nur eine Abschätzung als genaue Absolutwerte bestimmen. Die Signale dieser Art von Experimenten sind deshalb so gering weil zu der geringen Verdünnungsenthalpie nur noch die Transferenthalpie weniger Detergensmoleküle beiträgt.

Die Schwankungen des Vesikeldurchmessers sind auf die Präparation durch Beschallung zurückzuführen. Eine genauere Durchmesser-Verteilung wurde durch Extrusion der Lipiddispersion erreicht, also indem man die Lipiddispersion durch eine Membran mit definierter Porengröße drückt. Der Nachteil des Extrusionsverfahrens liegt in einer gewissen Konzentrationsunschärfe, da Lipid am Zelluloseazetatfilter physisorbiert wird. Zur Bestimmung der Konzentrationsunschärfe könnte man das Filter nach dem Trocknen nochmals wiegen, um den Lipidgehalt zu bestimmen und die Dispersionskonzentration zurückzurechnen. Dieses Verfahren wurde hier jedoch nicht angewandt.

4.5 Differenz Scanning Kalorimetrie DSC

Die Differenz Scanning Kalorimetrie DSC ist eine Standardmethode zur Untersuchung thermisch induzierter Phasenübergänge von biologischen Membranen sowie Modellmembranen [77,78]. Diese Methode ermöglicht die Bestimmung thermodynamischer Parameter der untersuchten Lipide wie der Umwandlungstemperatur T_m , der mit der Umwandlung verknüpften Änderung der Enthalpie ΔH und Entropie ΔS . Das Meßprinzip des DSC-Gerätes ist dem des ITC-Gerätes identisch. So besteht das DSC ebenfalls aus zwei gleichen Zellen, einer Probenzelle und einer Referenzzelle, welche sich innerhalb eines adiabatischen Mantels befinden. In die Probenzelle wird eine Lipiddispersion eingefüllt und die Referenzzelle wird mit dem Dispersionsmittel befüllt. Die Zellen werden verschlossen und es wird mit Preßluft ein Luftpolster von ca. 0,8 Bar Überdruck aufgebaut, zur Vermeidung von Blasenbildung während der Messung. Beide Zellen werden auf die Starttemperatur thermostatisiert mit $\Delta T = 0$ zwischen beiden Zellen. Diese werden nun mit einer konstanten Heizrate und einem konstanten ΔT aufgeheizt. Findet in der Probenzelle eine endotherme Phasenumwandlung statt so wird bei konstanter Heizrate ein sich änderndes ΔT zwischen den Zellen detektiert. Diese Differenz wird durch eine Zusatzheizleistung resp. Differenzheizleistung P_{diff} kompensiert. Aus der Definition der Wärmekapazität

$$c_p = P \cdot \frac{\int t}{\int T} \quad \text{Gl. 37}$$

folgt für die Differenz der Wärmekapazitäten der Zellen c_{diff}

$$c_{\text{diff}} = c_{\text{Probe}} - c_{\text{Ref}} = P_{\text{diff}} \cdot \frac{\int t}{\int T} \quad \text{Gl. 38}$$

Durch Integration erhält man die Umwandlungsenthalpie ΔH_{cal} .

$$\Delta H_{\text{cal}} = \int_{T_a}^{T_c} c_{\text{diff}} \cdot dT = \int_{t_a}^{t_c} P_{\text{diff}} \cdot dt \quad \text{Gl. 39}$$

In den Gleichungen sind enthalten die elektrische Leistung P , die Zeit t , die Temperatur T , und die Wärmekapazität der Probenzelle c_{probe} resp. der Referenzzelle c_{Ref} . Die Integrale gehen von T_a bis T_e . Dies sind die Anfangs- und die Endtemperatur der Phasenumwandlung zur Zeit t_a resp. t_e .

Aus der Gibbs'schen Gleichung Gl. 5 erhält man im Gleichgewicht bei $\Delta G = 0$ den Entropiebetrag der Phasenumwandlung.

$$\Delta S = \frac{\Delta H_{\text{cal}}}{T_m} \quad \text{Gl. 40}$$

4.5.1 Phasenübergangstemperaturen in Abhängigkeit der Detergenskonzentration am Beispiel OG / DPPC

Das Phospholipid DPPC zeigt in wäßriger Dispersion, bei sehr hohem Wasseranteil, ein mehrphasiges, thermotropes Verhalten (Abb. 4). Dieses Verhalten, wird durch den Einbau des kürzerkettigen amphiphils OG stark beeinflusst. Fügt man der Lipiddispersion Detergens hinzu bis über die Solubilisierung hinaus, so verschiebt sich die thermotrope Phasenumwandlung schon bei kleinen Detergensmengen zu niedrigeren Temperaturen und der Peak der Umwandlung verbreitert sich stark. Diese Verschiebung und Verbreiterung der Phasenumwandlung ist reversibel. Verdünnt man die mizellare Detergens / Lipid-Lösung mit Dispersionsmittel, so gewinnt die Umwandlung wieder an Schärfe und wird zu höheren Temperaturen hin verschoben, wie in Abb. 48 und Abb. 49 zu sehen ist. In Abb. 47 ist für OG / DPPC das Phasendiagramm der Solubilisierung bei 50 °C in Wasser aufgetragen. Die darin eingezeichneten, offenen Kreise sind die Detergens / Lipid-Mischungen, die mit der DSC untersucht wurden. Die dazugehörigen DSC-Kurven sind in Abb. 48 dargestellt. Jede Messung wurde zweimal durchgeführt. Die gute Reproduzierbarkeit der Messungen zeigt, daß sich die Mischungen vor der Messung im Gleichgewicht befanden. Die Phasenumwandlungstemperatur und die Form der DSC-Kurve der reinen Lipiddispersion ist stark von der Präparationsmethode abhängig [36,37]. Aus diesem Grund wurde die reine Lipiddispersion so schonend wie möglich nur durch leichtes Beschallen und starkes Rütteln hergestellt. Die

sorgfältige Vermischung, nach Zugabe weiterer Detergenzlösung resp. Dispersionsmittel, wurde durch ca. 10 s langes Rütteln sichergestellt.

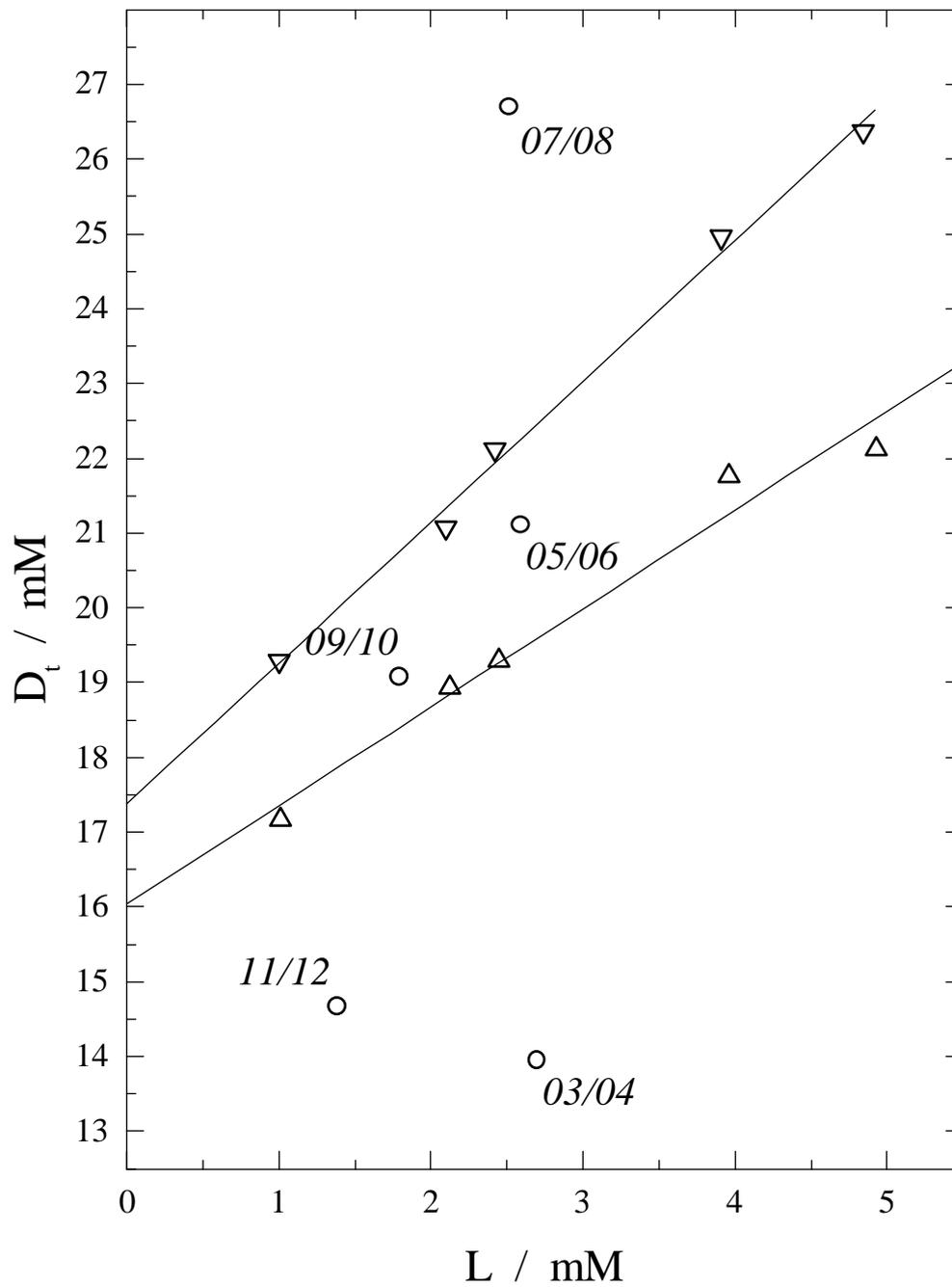


Abb. 47 Phasendiagramm der Solubilisierung von OG/DPPC in Wasser bei 50 °C. Die eingezeichneten Kreise sind die Detergens / Lipid Gemische, welche mit der DSC untersucht wurden.

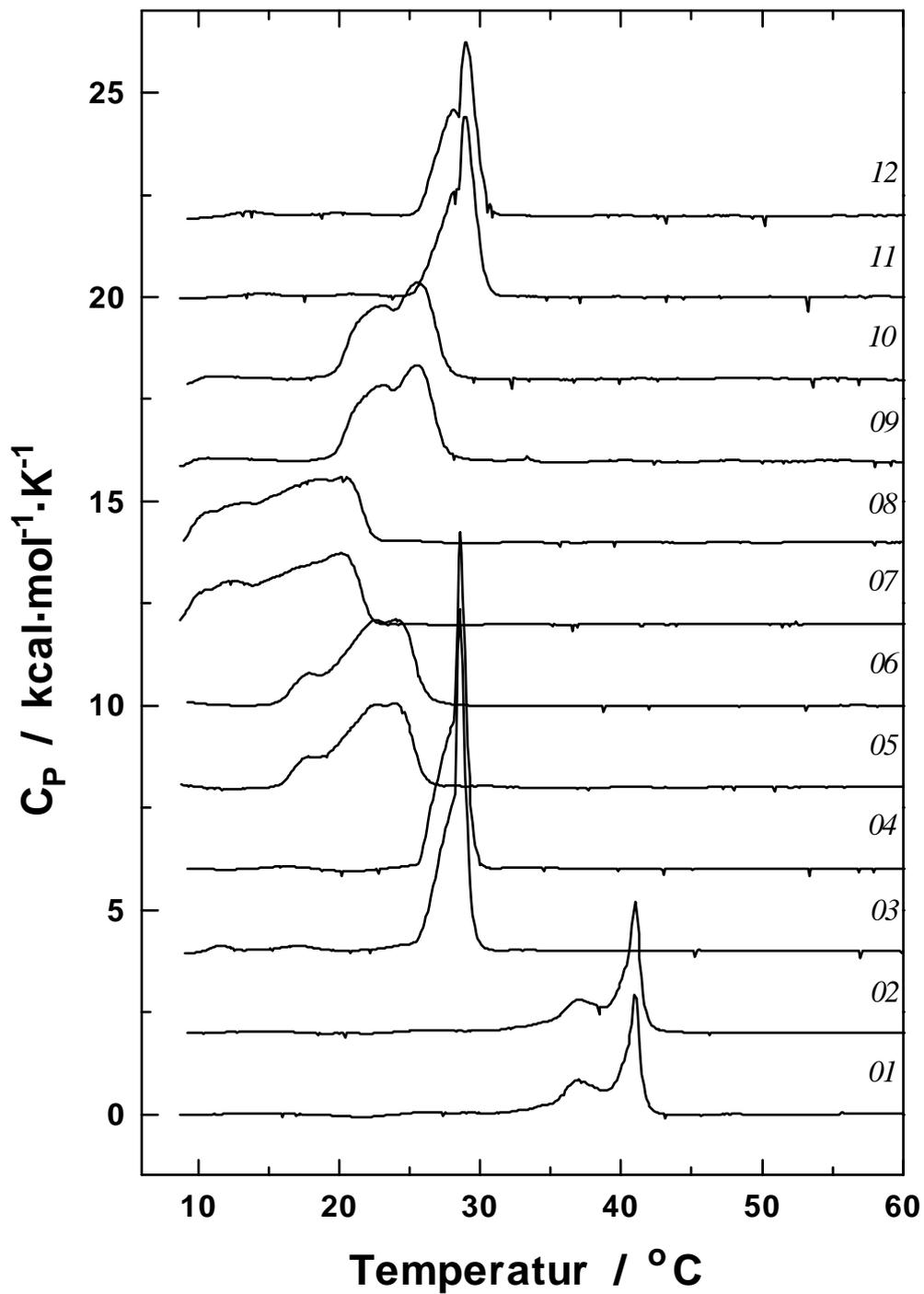


Abb. 48 DSC-Kurven von DPPC mit variierendem OG-Anteil in Wasser . Es sind jeweils zwei Messungen bei gleicher Konzentration durchgeführt worden (*01,02* $L = 2,9$ $D = 0$; *03,04* $L = 2,7$ $D = 14,0$; *05,06* $L = 2,6$ $D = 21,1$; *07,08* $L = 2,5$ $D = 26,7$; *09,10* $L = 1,8$ $D = 19,1$; *11,12* $L = 1,4$ $D = 14,7$). Die Konzentrationsangaben sind in mM.

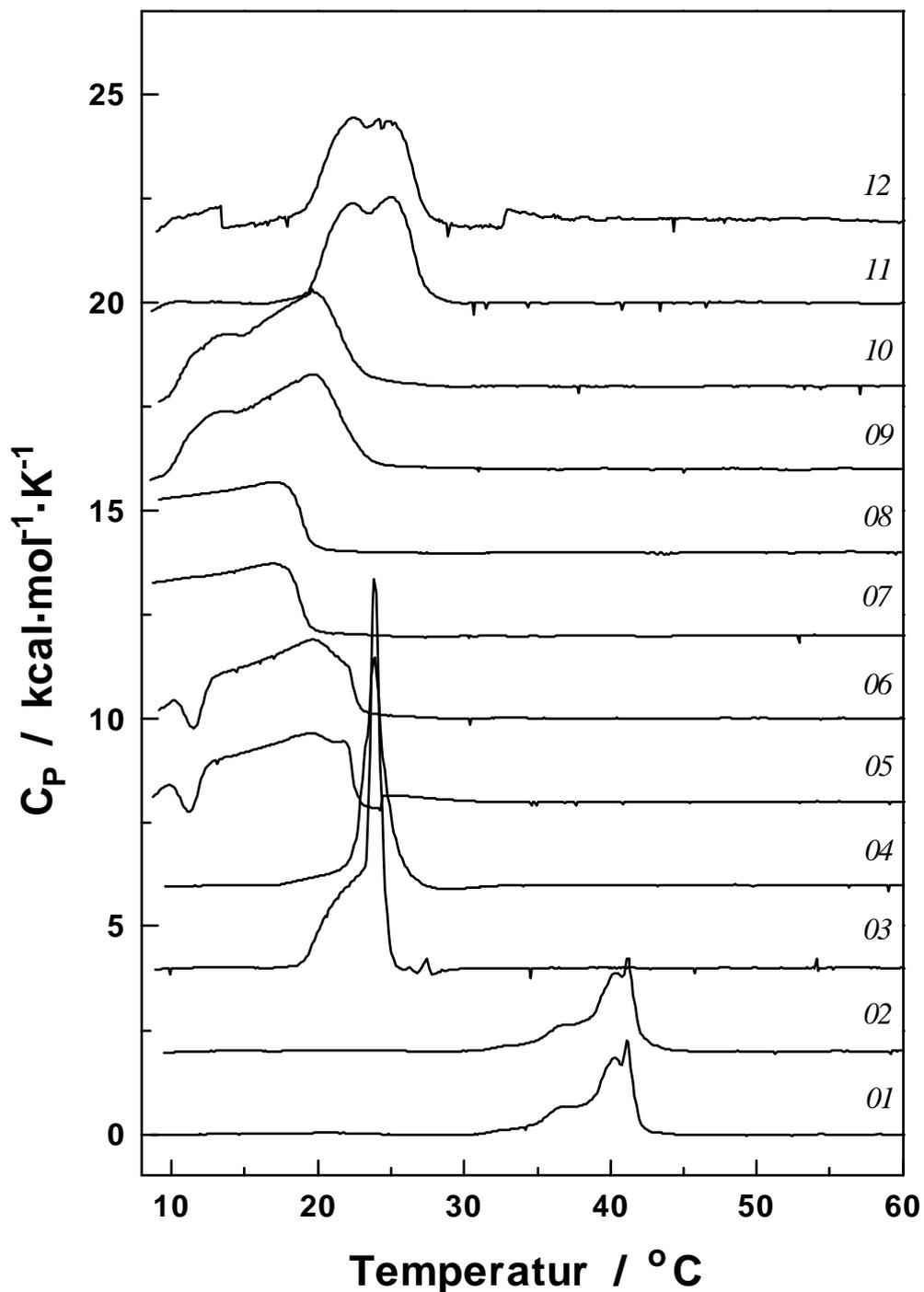


Abb. 49 DSC-Kurven von DPPC mit variierendem OG-Anteil in 149,8 mM NaCl-Puffer. Es sind jeweils zwei Messungen bei gleicher Konzentration durchgeführt worden (*01,02* L = 3,0 D = 0; *03,04* L = 2,8 D = 13,8; *05,06* L = 2,7 D = 21,1; *07,08* L = 2,6 D = 26,8; *09,10* L = 1,9 D = 19,1; *11,12* L = 1,3 D = 13,7). Die Konzentrationsangaben sind in mM.

Messung	DPPC in Wasser $T_m; T_s / ^\circ\text{C}$	DPPC in 150 mM NaCl-Puffer $T_m, T_s / ^\circ\text{C}$
01,02	41,0 ; 36,9	41,1 ; 36,8
03,04	28,5	23,9
05,06	22,3-24,2	19,1-19,6
07,08	≈ 20	≈ 17
09,10	25,5 ; 23,1	19,7 ; 13,4
11,12	29,0 ; 28,1	25,0 ; 22,5

Tab. 19 Vergleich der Phasenumwandlungstemperaturen von DPPC in Wasser und in 150 mM NaCl-Puffer. Hauptumwandlung = T_m ; Vorumwandlung = T_s .

4.5.2 Diskussion und Zusammenfassung

Die Zugabe eines zweiten Amphiphils wie OG zu DPPC führt zum Einbau des Detergens in die Lipiddoppelschicht. Die thermotrope Phasenumwandlung des Lipids wird dadurch stark beeinflusst. Schon bei geringen Zugaben von OG verschwindet die Vorumwandlung ($L_{\beta'} \rightarrow P_{\beta'}$). Gleichzeitig wird die Hauptphasenumwandlung ($L_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$) zu niedrigeren Temperaturen hin verschoben analog der kolligativen Eigenschaften bei der Gefrierpunktniedrigung. Beim Überschreiten der Sättigungsphasengrenze findet außerdem eine starke Verbreiterung der Phasenumwandlung statt. Die Kooperativität der Umwandlung wird somit im Koexistenzbereich geringer. Angesichts des Vorhandenseins eines thermischen Effektes scheint immernoch eine Phasenumwandlung statt zu finden. Dies könnte ein Hinweis auf noch vorhandene 'Doppelschichtfragmente' im Koexistenzbereich und sogar etwa im mizellaren Bereich sein, da für eine reine mizellare Detergenslösung keine Phasenumwandlung stattfindet. Diese Erkenntnis bekräftigt die Annahme, daß die beiden Amphiphile sich nicht ideal mischen sondern eher Domänen ausbilden bis hin in den gemischt mizellaren Bereich.

Bei den Messungen mit Elektrolyt zeigt sich prinzipiell das gleiche Verhalten. Man beobachtet lediglich bei den Detergens / Lipid-Gemischen eine Verschiebung der Phasenumwandlungstemperaturen um ca. 5 °C zu kleineren Werten. Der Grund hierfür liegt sicherlich in der veränderten Hydratation der Kopfgruppen.

4.6 Lichtstreuung und visuelle Bestimmung des Koexistenzbereichs

4.6.1 OG/DMPC in Wasser bei 27 °C

Zur besseren Charakterisierung der Phasengrenzen des Koexistenzbereiches wurde die Solubilisierung mit Hilfe der dynamischen und statischen Lichtstreuung sowie visuell näher untersucht. Aus der dynamischen Lichtstreuung erhält man Angaben über den Partikeldurchmesser und die Streuintensität des Laserlichtes. Das monochromatische Streulicht der statischen Lichtstreuung entstammt einer leistungsstarken Glühlampe. Hierbei wird das Streulicht im Verhältnis zu einer Referenz vor der Probenzelle angegeben, um Leistungsschwankungen der Glühlampe zu kompensieren. Bei der visuellen Bestimmung wurde das Überschreiten der Phasengrenze als schlagartiges Aufklaren der milchig trüben Dispersion wahrgenommen. Der Konzentrationsverlauf eines Titrationsexperimentes der dynamischen Lichtstreuung ist in Abb. 50 dargestellt.

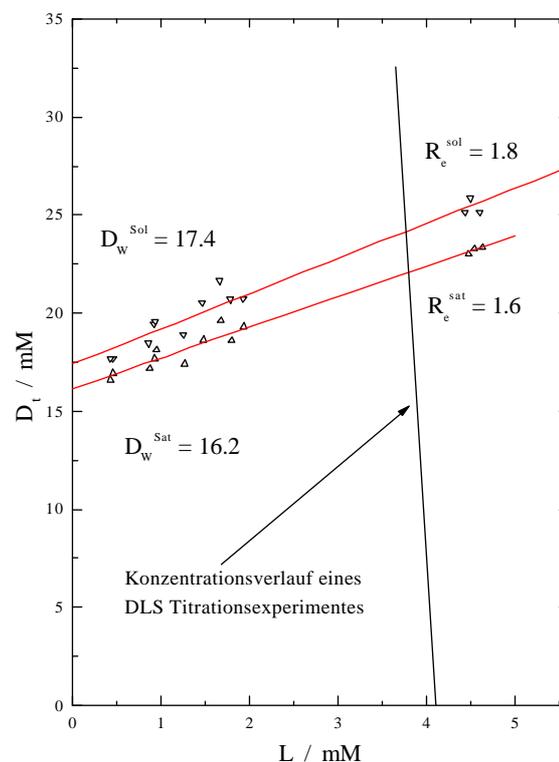


Abb. 50 Phasendiagramm der Solubilisierung von DMPC mit OG in Wasser bei 27 °C mit dem als Linie eingezeichneten Konzentrationsverlauf eines typischen DLS-Titrationsexperimentes.

In der folgenden Darstellung ist der Partikeldurchmesser und die Streuintensität des DLS-Titrationsexperimentes gegen die Detergenzkonzentration aufgetragen. Zudem sind die Schnittpunkte mit den Phasengrenzen der Solubilisierung R_e^{sat} und R_e^{sol} , sowie der visuell bestimmbaren Phasengrenze R_e^* , eingezeichnet.

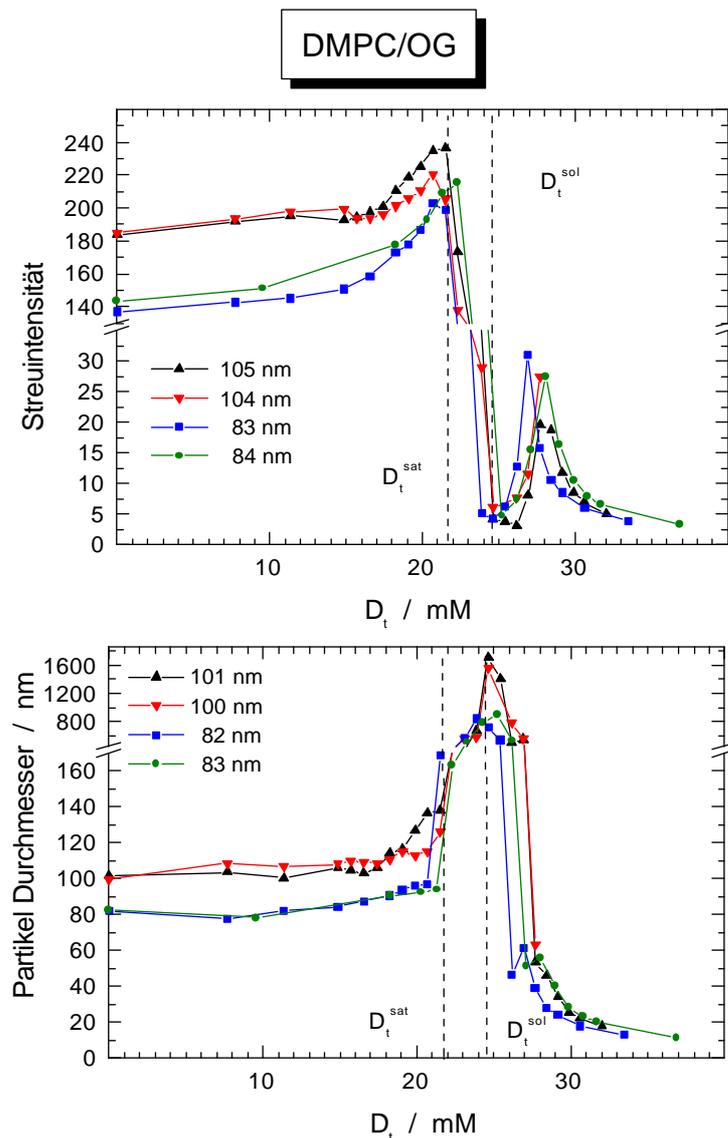


Abb. 51 DLS-Titrationsexperiment der Solubilisierung von 4,4 mM DMPC mit 200 mM OG-Lösung. Die senkrechten Linien markieren die kalorimetrisch bestimmten Phasengrenzen des Koexistenzbereichs [79].

Im vesikulären Bereich nimmt der Partikeldurchmesser, bedingt durch den Einbau von Detergenzmolekülen, leicht zu [42,47,74,86-90,110]. Die Absolutwerte der Partikeldurchmesser im Koexistenzbereich sind nicht ganz korrekt, da die

Partikeldurchmesserberechnung von sphärischen Teilchen ausgeht. Im Koexistenzbereich jedoch koexistieren Aggregate unterschiedlichster Formen mit den ursprünglich sphärischen gemischten Vesikeln [43,47,76,91-93]. Außerdem findet bei OG/PC Gemischen im Koexistenzbereich eine makroskopische Phasenseparation statt [47,75,76]. Somit tragen zu dem exorbitanten Anstieg des Partikeldurchmessers einerseits das Wachsen gemischter Vesikel unterschiedlichster Formen wie z.B. sphärische, würmchenähnliche und andere bei und andererseits die Tröpfchenbildung der Phasenseparation.

Der exakte Anfangspunkt der Phasenseparation läßt sich optisch nicht genau bestimmen, da nicht zwischen Vesikeln und entstandenen Tröpfchen der zweiten Phase unterschieden werden kann. Erst wenn die Tröpfchen deutlich größer als die Vesikel werden und sich schließlich abseparieren kann zwischen den beiden Phasen unterschieden werden. Das Ende dieser Mischungslücke läßt sich dagegen mit der dynamischen und statischen Lichtstreuung sowie visuell mit exzellenter Übereinstimmung bestimmen. Dabei korreliert das visuell bestimmte Ende der makroskopischen Phasenseparation mit dem letzten lokalen Maximum der statischen und dynamischen Lichtstreuung.

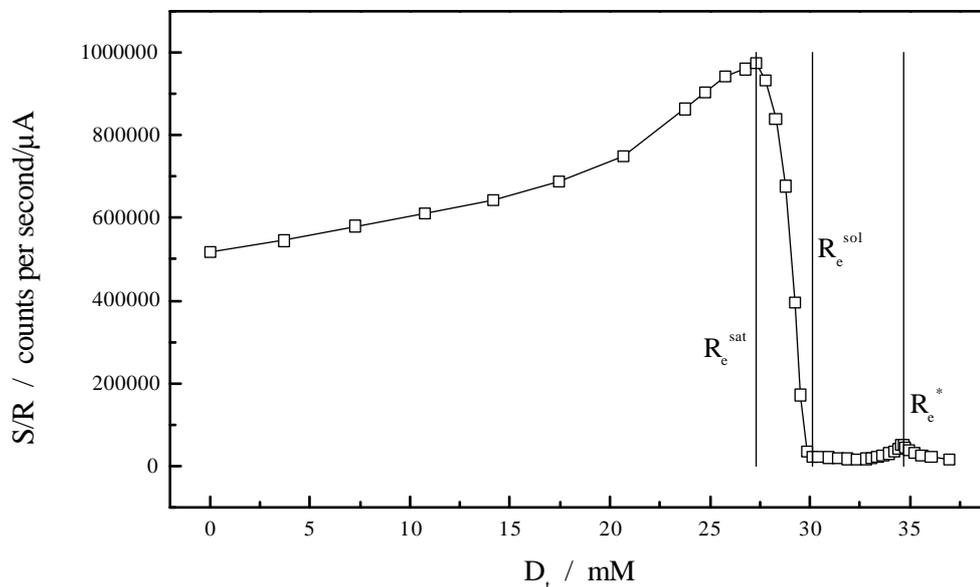


Abb. 52 Statisches Lichtstreuexperiment mit DMPC = 8 mM; OG = 250 mM; $T = 30^\circ\text{C}$ in Wasser. Die senkrechten Linien markieren die Phasengrenzen der Saturierung und der Solubilisierung sowie das Ende der makroskopischen Phasenseparation.

Dieses Ende der makroskopischen Phasenseparation läßt sich auch mittels der Titrationskalorimetrie beobachten, wie folgendes Kalorigramm zeigt.

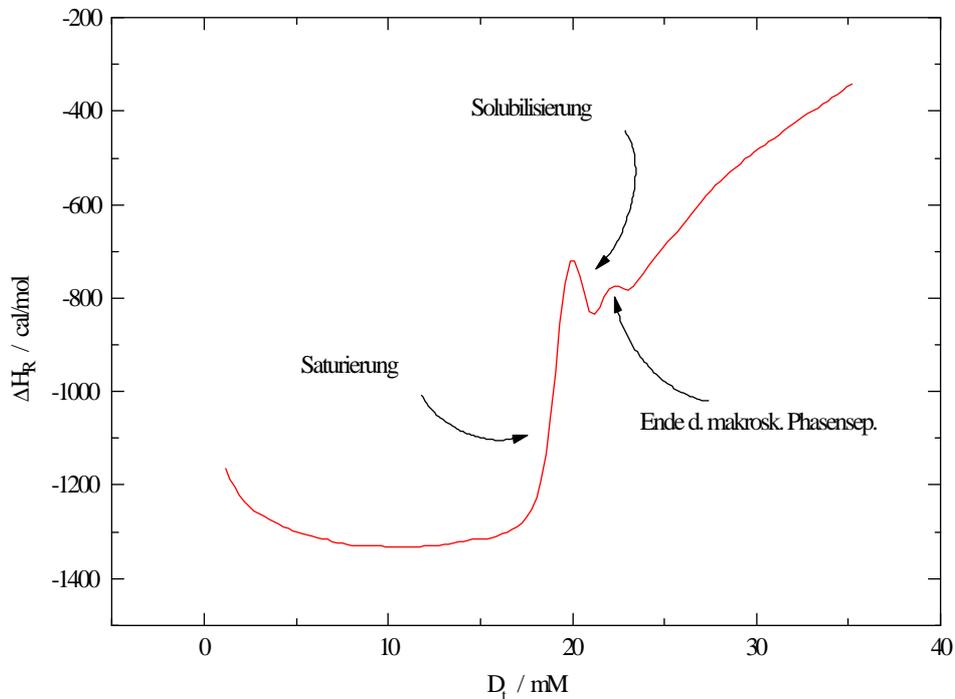


Abb. 53 ITC-Solubilisierungsexperiment: Zugabe von 262 mM OG-Lösung zu 2,1 mM DMPC-Dispersion in Wasser bei 26,4 °C. Angedeutet sind die Punkte der Saturierung und Solubilisierung und das Ende der makroskopischen Phasenseparation.

Die Auftragung der Phasengrenzen aus den kalorimetrischen und optischen Experimenten ergibt für das System OG/DMPC bei 27 °C in Wasser folgendes Phasendiagramm.

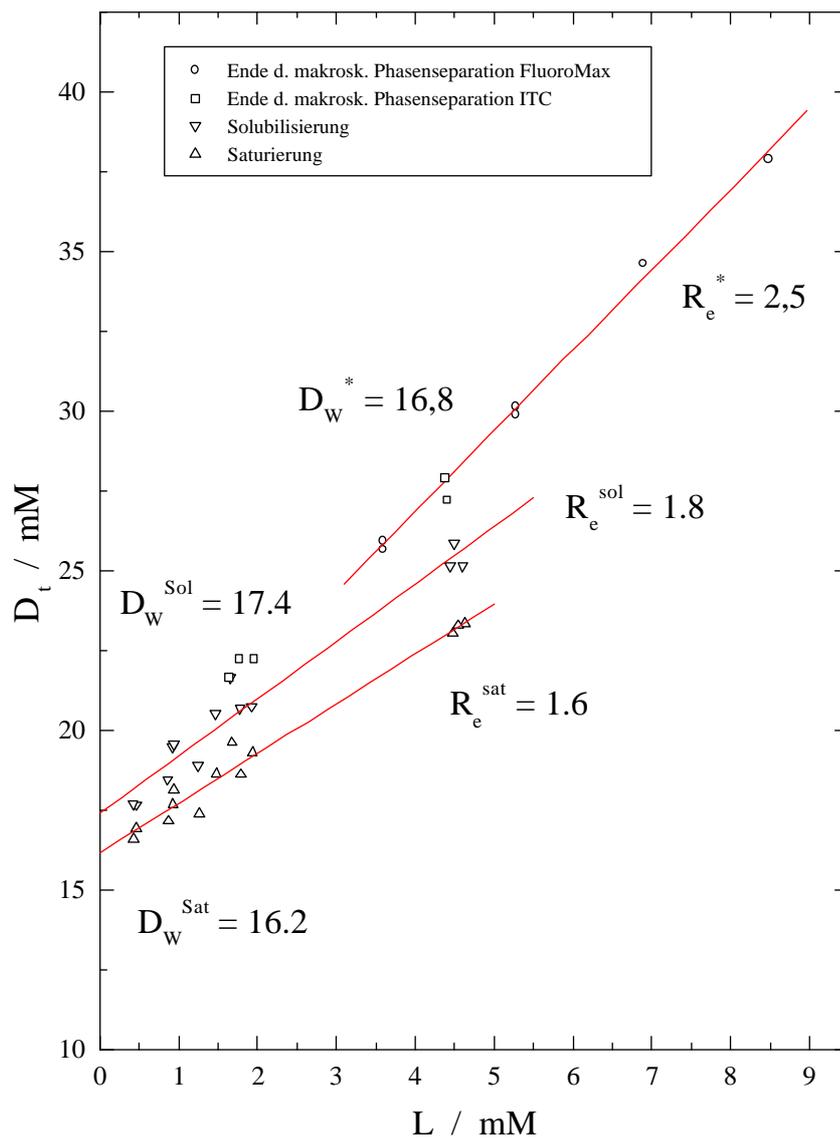


Abb. 54 Auftragung der Saturierungs- und Solubilisierungsphasengrenze sowie das Ende der makroskopischen Phasenseparation aus FluoroMax und ITC Experimenten.

4.6.2 OG/P90g in Wasser bei 27 °C

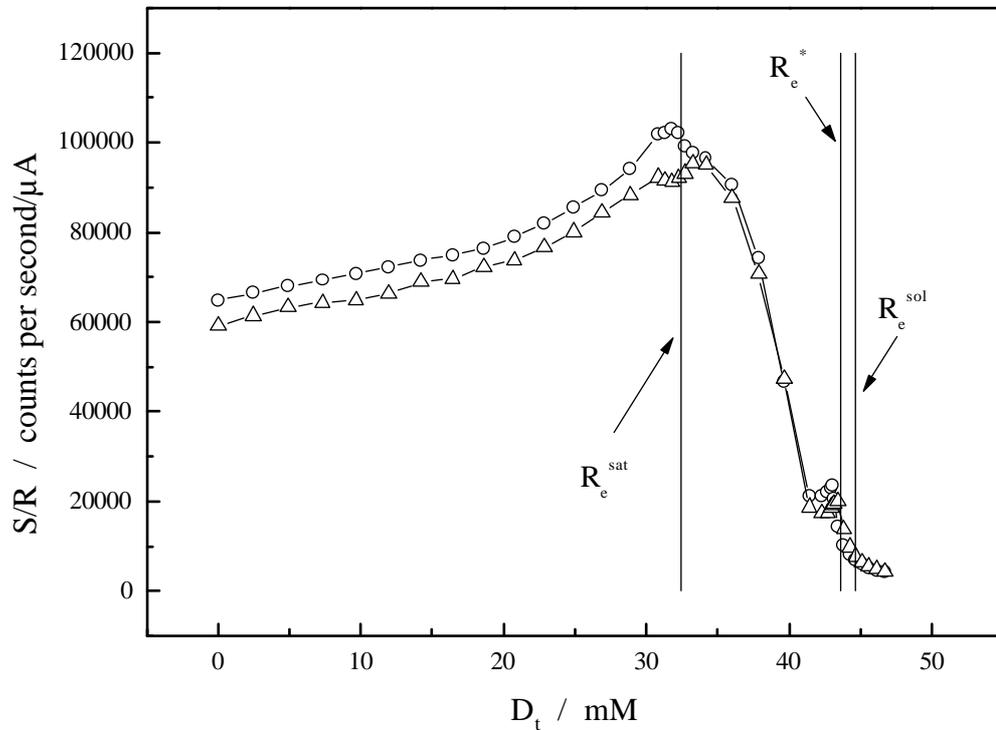


Abb. 55 Statische Lichtstreuexperimente mit je P90g = 10 mM; OG = 251 mM; $T = 25$ °C in Wasser.

Die Mischungslücke liegt im Falle von OG/SojaPC innerhalb des kalorimetrisch bestimmten Koexistenzbereichs.

Im folgenden Diagramm sind die Phasengrenzen der kalorimetrischen und optischen Experimente für das System OG/P90g in Wasser bei 27 °C aufgetragen.

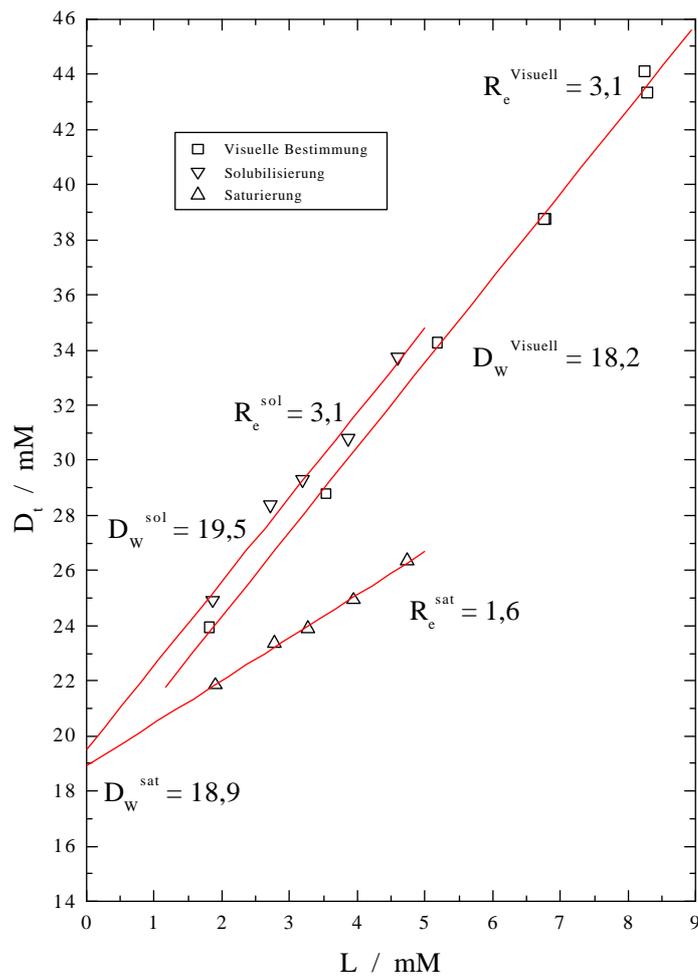


Abb. 56 Auftragung der Sättigungs- und Solubilisierungsphasengrenze sowie das Ende der makroskopischen Phasenseparation aus visuellen Experimenten.

4.6.3 OG/DMPG in pH 6 Phosphatpuffer bei 27 °C

Das anionische Phospholipid DMPG zeigt bei der Solubilisierung mit OG keine makroskopische Phasenseparation [75].

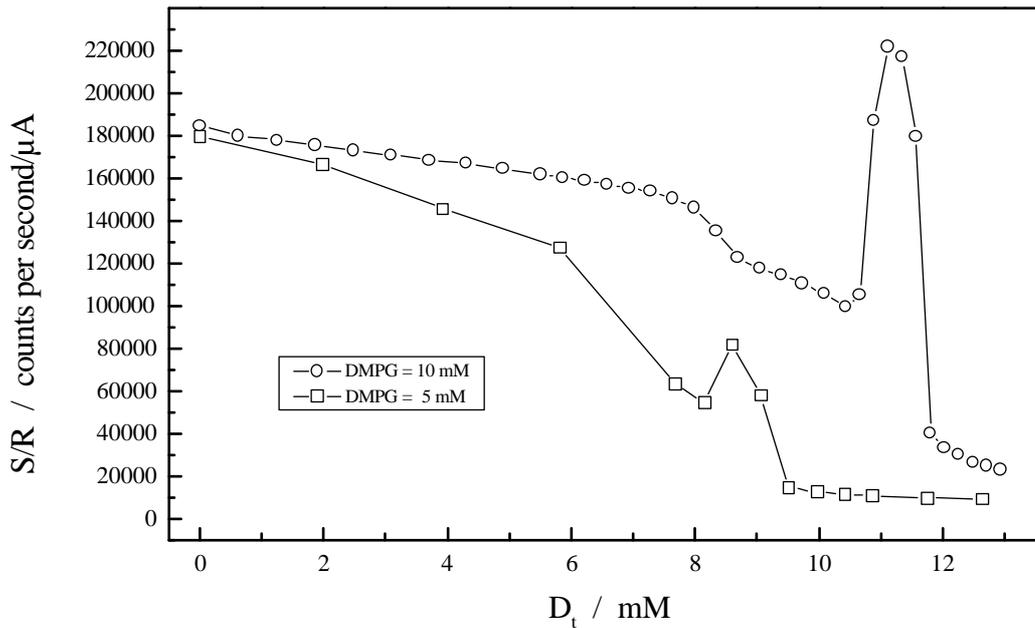


Abb. 57 Statisches Lichtstreuexperiment mit DMPG = 5 und 10 mM; OG = 200 und 250 mM; T = 26 und 27 °C in pH 6 Phosphatpuffer. Nach jeder Detergenzugabe wurde 5 min lang magnetisch gerührt.

4.6.4 Diskussion und Zusammenfassung

Die optischen Methoden der dynamischen und statischen Lichtstreuung bestätigen die kalorimetrisch bestimmten Phasengrenzen. Außerdem erklären Sie das lokale Maximum dicht hinter der Solubilisierungsgrenze des Systems OG/DMPC als Ende einer makroskopischen Phasenseparation. Bei dem natürlich vorkommenden SojaPC liegt diese Mischungslücke innerhalb des kalorimetrisch bestimmten Koexistenzbereichs. Anionische Lipide wie z.B. DMPG zeigen keine Mischungslücke [75]. Die Bestimmung der Grenzen des Koexistenzbereichs mittels optischer Methoden gestaltet sich relativ schwierig, da die Fehlertoleranzen bei graphischer Auswertung recht groß sind. Dagegen läßt sich das Ende der Mischungslücke optisch genauer feststellen als mit Hilfe der Kalorimetrie, da man bei der ITC nicht genügend Meßpunkte hat resp. innerhalb des Koexistenzgebietes dieser Effekt überdeckt wird.

4.7 Rheologie

4.7.1 Allgemeines

Die Rheologie ist die Lehre vom Fließen der Stoffe. Sie befaßt sich mit dem Fließ- und Deformationsverhalten von Materie. Ziel ist es Stoffgesetze aufzustellen, welche das mechanische Verhalten von Fluiden beschreiben [1,94,95]. Es lassen sich aus physikalischer Sicht die Stoffe in zwei ideale Grundklassen einteilen [96].

- ideal elastischer Körper
- ideal viskose Flüssigkeit

Der ideal elastische Körper besitzt reversibles Speichervermögen für die in ihn gesteckte Arbeit. Die in die ideal viskose Flüssigkeit gesteckte Arbeit führt zu einer irreversiblen Formveränderung und wandelt sich unmittelbar in Wärme um (vollkommene Dissipation) [96]. Die in der Realität vorkommenden Stoffe zeigen ein mehr oder weniger komplexes rheologisches Verhalten, welches sich irgendwo zwischen diesen beiden Idealen befindet.

Desweiteren wird zwischen Newtonschen und nicht-Newtonschen Flüssigkeiten unterschieden. In den folgenden Kapiteln wird mit ausgewählten Beispielen näher darauf eingegangen. Die in der Rheologie verwandten Terme der Schubspannung, Deformation und Scherrate werden anhand des Kartenblattmodells verdeutlicht. Die einzelnen Karten des Kartenstapels sollen die Schichten einer Flüssigkeit schematisch darstellen [97].

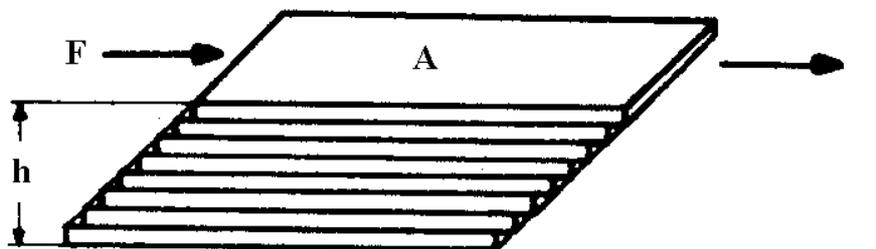


Abb. 58 Kartenblattmodell zur Verdeutlichung der Schubspannung, Deformation und Scherrate (siehe Text) [97].

Wirkt auf die oberste Karte mit der Fläche (A) eine Kraft (F), so verschiebt sich diese in Richtung der Krafteinwirkung mit einer Geschwindigkeit (v). Die darunterliegenden Karten

werden sich, bedingt durch den Reibungswiderstand, mit geringerer Geschwindigkeit bewegen. Der Quotient aus F/A wird Schubspannung genannt. Der Quotient aus Auslenkung l zur Höhe h ist die Scherverformung oder Deformation. Die Deformationsänderung mit der Zeit ist die Scherrate.

4.7.1.1 Newton'sches Verhalten

Substanzen, die sich idealviskos verhalten, nennt man Newton'sche Flüssigkeiten. Bei ihnen ist $\sigma = f(\dot{\gamma})$ eine lineare Ursprungsfunktion. Die Proportionalitätskonstante ist die Viskosität (η). Sie ist ein Maß für die Zähigkeit resp. die innere Reibung der Substanz. Diese dynamische Viskosität berechnet sich nach dem Newton'schen Viskositätsgesetz aus dem Quotienten aus Schubspannung und Scherrate Gl. 41.

Newton'sches Viskositätsgesetz:
$$\eta = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \quad \text{Gl. 41}$$

In diesem Fall ist die Viskosität also eine echte Materialkonstante bei gegebenem Druck und Temperatur. Dabei ist die Druckabhängigkeit gegenüber der Temperaturabhängigkeit vernachlässigbar gering. Substanzen, die Newton'sches Verhalten zeigen, sind z.B. Wasser, Benzin, Schmieröle und Hydraulikflüssigkeiten [1]. In allen anderen Fällen, bei denen die Viskosität eine Funktion der Schubspannung resp. der Scherrate ist, spricht man von Strukturviskosen oder nicht-Newton'schen Fluiden, deren Viskositätswert Quasiviskosität oder scheinbare Viskosität genannt wird.

4.7.1.2 Nicht-Newton'sches Verhalten

In den allermeisten Fällen zeigen Substanzen ein Fließverhalten, welches eine nicht lineare Funktionalität der Viskosität von der Schubspannung aufweist. Diese Funktionalität nimmt oftmals sehr komplizierte Formen an. Man ist nun bestrebt dieses Verhalten mit möglichst

einfachen idealisierten mathematischen Modellen zu beschreiben. In Abb. 59 sind einige idealisierte Fließverhalten dargestellt. In Tab. 20 sind die mathematischen Modelle zu den Kurven wieder gegeben.

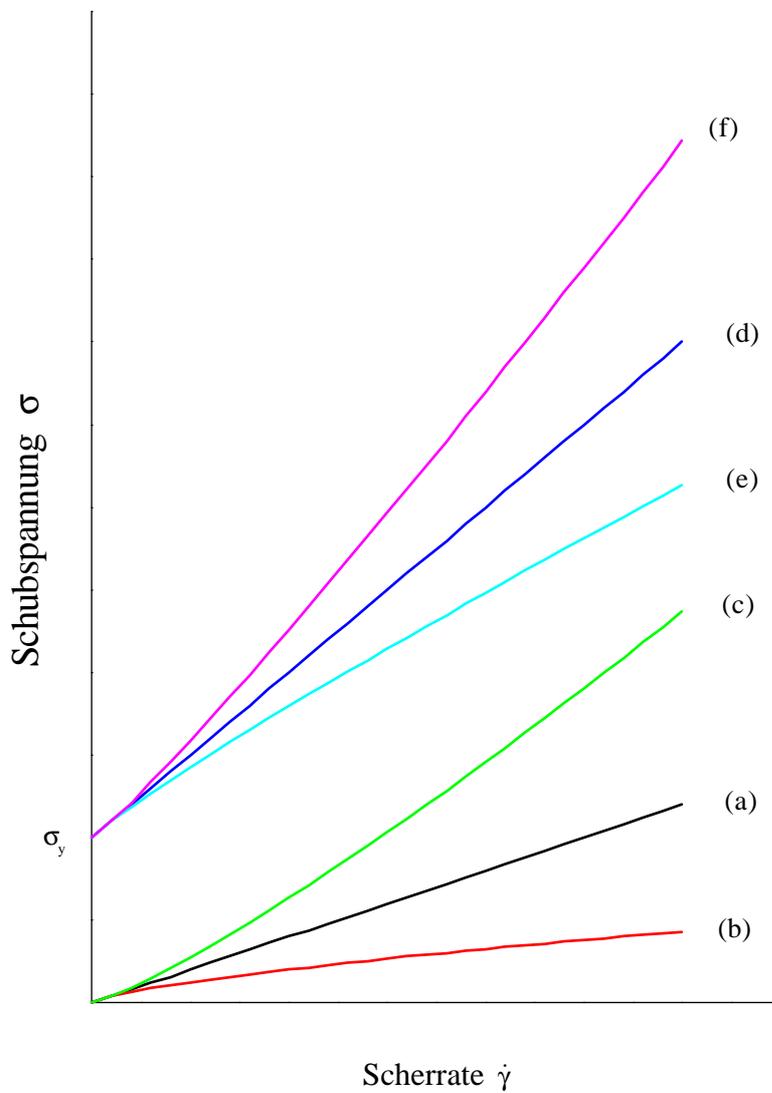


Abb. 59 Fließdiagramm mit idealisierten Fließverhalten

Kurve	Verhalten	Modell	Formel
a)	Newton	Viskositätsgesetz	$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma}$
b)	scherverdünnend (pseudoplastisch)	Ostwald-de Waele	$\sigma = k \cdot \dot{\gamma}^n$ $n < 1$
c)	scherverdickend (dilatant)	Ostwald-de Waele	$\sigma = k \cdot \dot{\gamma}^n$ $n > 1$
d)	Bingham (viskoplastisch)	Bingham	$\sigma = \sigma_y + \eta_p \cdot \dot{\gamma}$
e)	Nicht-Bingham	Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_y + k \cdot \dot{\gamma}^n$ $n < 1$
f)	Nicht-Bingham	Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_y + k \cdot \dot{\gamma}^n$ $n > 1$

Tab. 20 Idealisierte Fließverhalten und deren Modelle [98].

Aus dem Newton'schen Viskositätsgesetz entwickelte sich, durch Erweiterung um den Exponenten n , das Ostwald-de Waele Gesetz. Damit läßt sich das Verhalten von reinviskosen Fluiden ohne Fließgrenze simulieren. Diese Systeme fangen bei Anlegung einer Schubspannung sofort an zu fließen. Bei größer werdenden Scherraten weicht ihr Verhalten von der Idealviskosität ab, und zeigt Scherverdünnung ($n < 1$) oder Scherverdickung ($n > 1$). Führt man die Fließgrenze σ_y in Gl. 41 erhält man das Modell von Bingham für viskoplastische Fluide. Das Potenzgesetz von Herschel-Bulkley beinhaltet alle oben erwähnten Modelle als Sonderform.

4.7.1.3 Strömungsanomalien

Der Spannungszustand in einem Punkt eines Körpers kann mittels des Spannungstensors vollständig beschrieben werden. Dieser Tensor ist ein symmetrischer dreidimensionaler kartesischer Tensor 2. Stufe (σ_{ij}). Der erste Index seiner Komponenten steht dabei für die bezogene Fläche und der zweite für die Krafrichtung. Die Diagonalelemente sind die Normalspannungen auf drei orthogonalen Flächenelementen [94]. Bei nicht-Newtonschen Fluiden, bei denen also mehr als eine Hauptspannung ungleich Null ist, kommt es zu Stömungsanomalien. In der folgenden Graphik sind einige Beispiele dieser Anomalien viskoelastischer Fluide dargestellt.

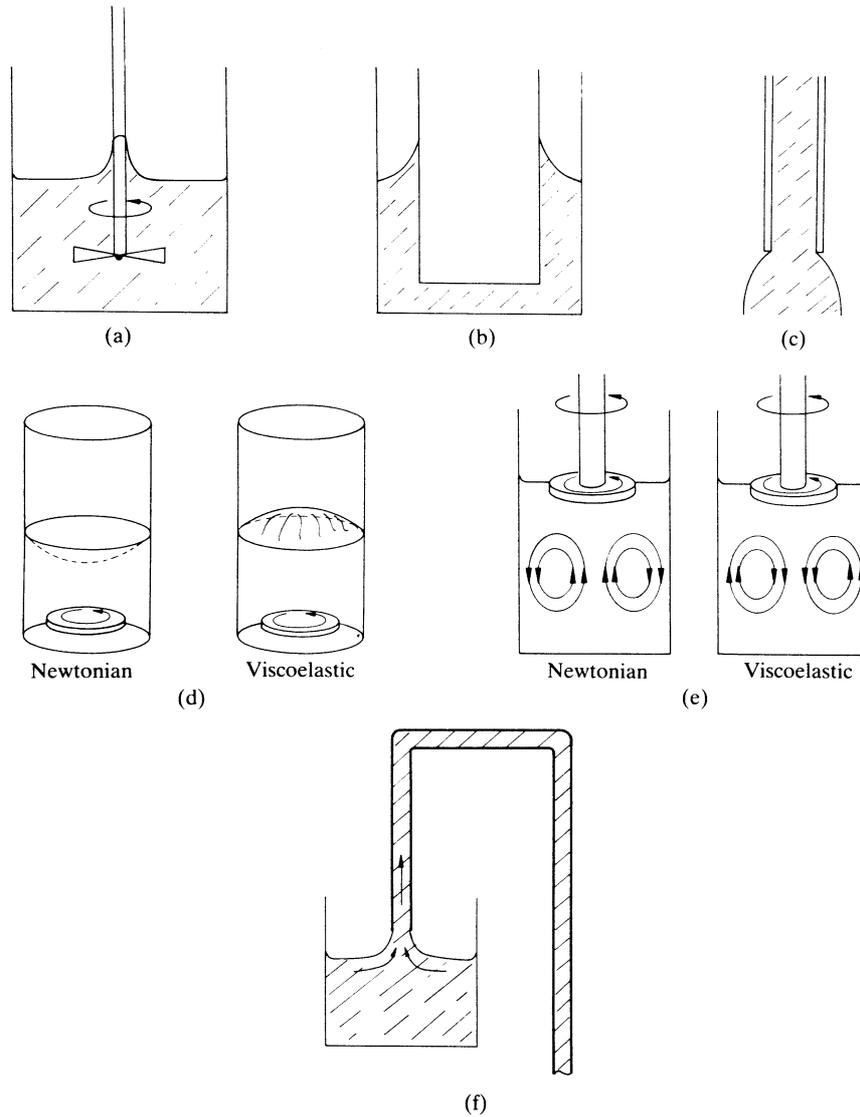


Abb. 60 Fließverhalten viskoelastischer Fluide. a) Weissenberg Effekt; b) Couette Fluß (der äußere Zylinder ist angetrieben; der innere Zylinder ist stationär); c) Strangaufweitung; d,e) Einfluß einer drehenden Scheibe auf das Strömungsverhalten; f) open channel syphon [99].

4.7.1.4 Viskositätsmessungen

Neben den altbekannten Kugelfall- und Kapillarviskosimetern werden in den Laboratorien heutzutage auch sogenannte Rotationsviskosimeter eingesetzt. Der Vorteil der Rotationsviskosimeter besteht unter anderem darin, daß man Proben mit sehr unterschiedlichen Verhalten charakterisieren kann. Es ist möglich die ein und dieselbe Probe über sehr lange Zeit zu scheren, was bei den beiden erstgenannten Geräten nur sehr bedingt möglich ist. Außerdem lassen sich viskoelastische Stoffeigenschaften gut bestimmen. Je nach Zweck, besteht bei einem Rotationsviskosimeter die Möglichkeit zwischen verschiedenen Meßvorrichtungen zu wählen. Bei denen in dieser Arbeit durchgeführten Messungen standen folgende Meßvorrichtungen für das Bohlin Rotationsviskosimeter zur Verfügung:

- CP 1°/40 Kegel-Platte System mit 1° Neigung und 40 mm Durchmesser
- CP 4°/40 Kegel-Platte System mit 4° Neigung und 40 mm Durchmesser
- PP 40 Planparallele Platte mit 40 mm Durchmesser
- koaxiales Meßbecher-Zylinder System nach Mooney

Das Kegel-Platte System 1°/40 wurde bevorzugt genutzt, denn es erwies sich bezüglich der Meßgenauigkeit und des geringen Bedarfs an Probenvolumen als vorteilhaft.

4.7.2 Viskositätsmessungen am System OG / DMPG

4.7.2.1 Ergebnisse

Das Kalorigramm der Solubilisierung von DMPG Vesikeln mit Octylglucosidlösung bei 30 °C weist eine ungewöhnlich starke Basislinienverschiebung auf, wie Abb. 61 zeigt. Diese Basislinienverschiebung wird verursacht durch eine Viskositätsänderung während der Titration.

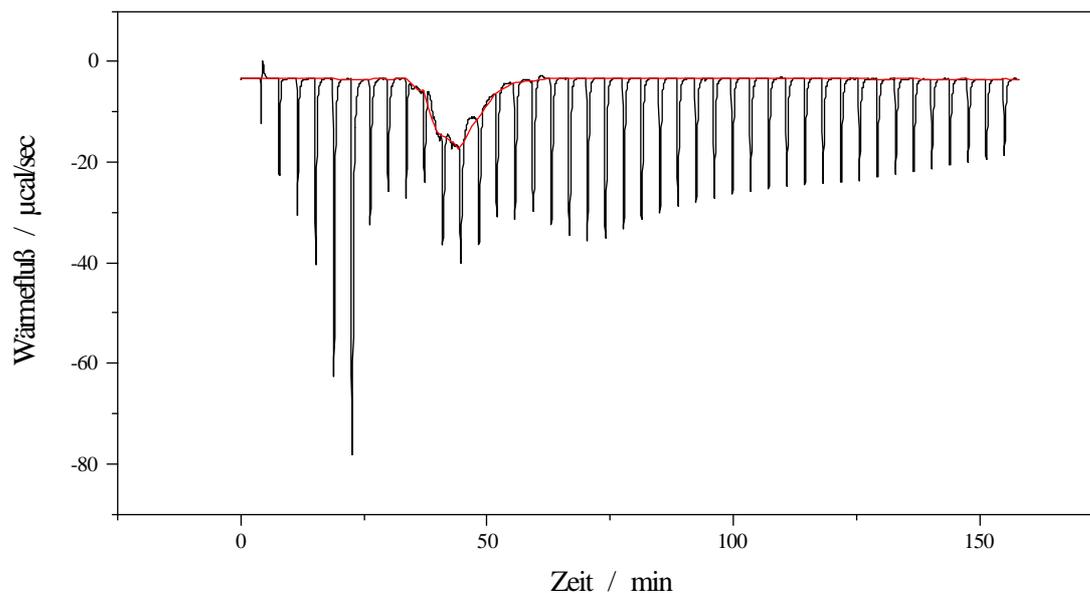


Abb. 61 Titrationskalorimetrische Rohdaten: Zugabe von 42,6 µl einer 250 mM OG Lösung zu einer 5 mM DMPG Dispersion in Zeitabständen von 220 s bei 30 °C in pH 6 Phosphatpuffer.

Zuerst wurde die Viskosität von bidestillierten Wasser bei 25 °C bestimmt. Der Mittelwert aus acht Messungen ergab 1,25 mPa·s \pm 0,08. Der Grund für die Abweichung vom literaturbekannten Wert von 0,8904 mPa·s bei 25 °C ist durch eine Verschiebung der Kalibrierung des Gerätes zu erklären [100]. Es wurden nach den Messungen für reines Wasser die Viskositäten von DMPG resp. OG/DMPG Gemischen in pH 6 Phosphatpuffer gemessen. Die Viskositätswerte der Dispersionen wurden mit dem kalorimetrisch erhaltenen Phasendiagramm bei 70 °C verglichen. Der qualitative Vergleich der Rheologiedaten bei 25 °C und dem Phasendiagramm bei 70 °C ist insofern möglich, als daß die Phasengrenzen nur schwach temperaturabhängig sind (vgl. Kapitel 4.3.5). An dieser Stelle soll diese Korrelation erstmal nur auf ihre qualitativen Eigenschaften hin überprüft werden. Die Auftragung der Phasengrenzen in das Viskositätsdiagramm ist in Abb. 62 dargestellt. Man erkennt einen stärkeren Anstieg der Viskosität im Bereich der Saturierungsphasengrenze. Das Maximum der Viskosität liegt grob im Bereich der Solubilisierungsgrenze. Es zeigt sich, daß die kalorimetrisch bestimmte Saturierungsphasengrenzen des Systems OG/DMPG mit den Mitteln der Rheologie nachzuvollziehen ist. Die Umwandlung in andere Aggregatformen bringt einen enormen Zuwachs der Viskosität mit sich, der selbst noch weit über die Grenze der Solubilisierung hinausreicht.

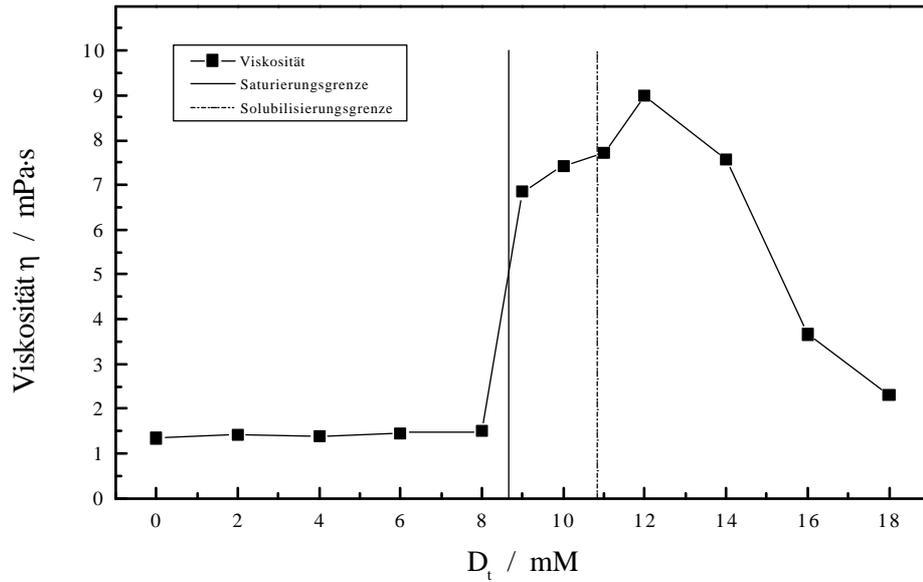


Abb. 62 Viskositätsverlauf einer 5 mM DMPG Dispersion als Funktion der Detergenkonzentration bei 25 °C. Die senkrechten Linien markieren die kalorimetrisch bestimmten Saturierungs- und Solubilisierungsgrenzen bei 70 °C. Jeweils in pH 6 Phosphatpuffer.

Die in dieser Arbeit angewandte Rotationsviskosimetrie bietet gegenüber herkömmlichen Verfahren einige Vorteile. So erlaubt diese Methode eine Schubspannungsrampe an die Probe anzulegen. Es wird also nach einem vorher genau festgelegten Schema die angelegte Schubspannung variiert. Ein so erhaltenes Fließdiagramm zeigt Abb. 63.

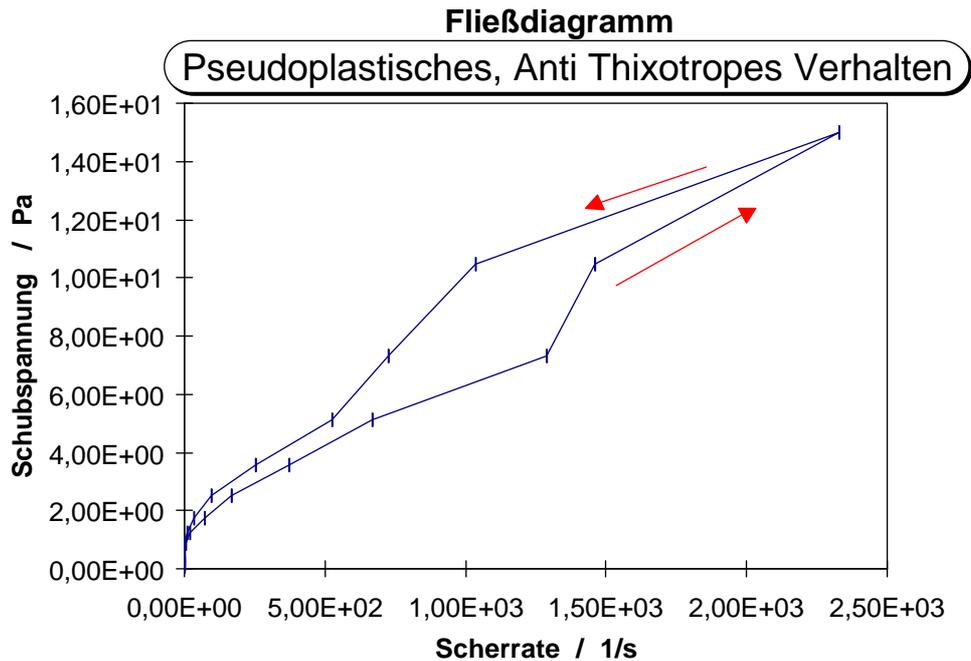


Abb. 63 Fließkurve des Gemisches OG = 15 mM und DMPG = 9,4 mM bei 25 °C ohne Vorscherung.

Die Konzentration war so gewählt, daß man im Bereich von Re^{sol} , der höchsten Viskosität, sich befindet. Die Schubspannung wurde logarithmisch von 0,1 bis 15 Pa gesteigert und wieder reduziert. Aus der Rechtskrümmung des Anfangsbereichs ist zu entnehmen, daß es sich um ein pseudoplastisches, scherverdünnendes Medium handelt. Das System beginnt also schon bei Anlegung einer geringen Schubspannung zu fließen und $\eta(\dot{\gamma})$ ist eine abnehmende Funktion. Aus der Richtung der erhaltenen Hysteresis ergibt sich anti-thixotropes Verhalten für das System von OG/DMPG in diesem Konzentrationsbereich. Solches Verhalten trifft man z.B. auch bei Polymerschmelzen an, bei denen lange Polymerketten ineinander verhaken können [99]. Man erklärt dieses Phänomen mit dem Vorhandensein von Würmchenmizellen [101]. Würmchenmizellen sind lange fadenförmige Aggregate aus amphiphilen Molekülen. Im Falle von OG/DMPG tragen diese elektrische Ladungen in der Kopfgruppe des Phospholipids. Vor Beginn der Scherung sind die Würmchenmizellen durch die Brown'sche Molekularbewegung völlig ungeordnet. Mit eintretender Scherung findet eine Orientierung der Mizellfäden statt. Durch besseres aneinander Vorbeigleiten tritt eine Viskositätserniedrigung ein. Bei weiterer Erhöhung von $\dot{\gamma}$ kommt es verstärkt zu Rheodestruktion und die Moleküle müssen sich neu assoziieren. Erniedrigt man die Scherrate wieder, kommt es durch die Reassoziaton zu verstärkten Wechselwirkungen zwischen den fadenförmigen Mizellen. Dadurch ist die

Viskosität beim Reduzieren der Scherrate höher und die Kurve verläuft linksherum (anti thixotrop).

4.7.3 Diskussion und Zusammenfassung

Natürlich vorkommende Fluide zeigen meist ein sehr kompliziertes Fließverhalten. Es ist nur näherungsweise möglich, dieses Fließverhalten mit mathematischen Modellen zu beschreiben. Strömungsanomalitäten treten meist bei langkettigen Fluiden auf. Eine solche Anomalität wurde titrationskalorimetrisch auch für die Mischung des Detergens Octylglucosid und des Lipids Dimyristoylphosphatidylglyzerin festgestellt. Das Aufeinandertreffen von Vesikelbildner (DMPG) und Mizellbildner (OG) einerseits, von elektrischen Wechselwirkungen der Kopfgruppen des Phospholipids andererseits, führt bei Variation des Molenbruchs des Systems OG/DMPG zur Änderung der Viskosität und in einem gewissen Bereich zur Bildung von Würmchenmizellen, die pseudoplastisches, scherverdünnendes und anti-thixotropes Verhalten zeigen. Das kalorimetrisch erhaltene Phasendiagramm des Systems OG/DMPG läßt sich mittels der Viskositätsmessung für die Saturierungsphasengrenze nachvollziehen. Es findet an dieser Grenze eine starke Viskositätsänderung statt, die bis weit über die Solubilisierungsphasengrenze hinaus reicht. Die Bildung anderer Aggregatsformen wie etwa würmchenähnlicher Mizellen im Koexistenzbereich führt zu einer drastischen Änderung der Viskosität und zu einem komplexen rheologischen Verhalten.

5 Zusammenfassung

Demizellisierung

Die isotherme Titrationskalorimetrie ist eine leistungsfähige, schnelle und einfache Methode, die den großen Vorteil bietet, aus ein und demselben Experiment die CMC und die Demizellisierungsenthalpie eines Tensids in einem weiten Temperaturbereich zu bestimmen [48,51,102,103]. Die in dieser Arbeit verwandten Detergentien Octylglucosid und Dodecylmaltosid zeichnen sich durch ihre milden Eigenschaften beim Herauslösen von Proteinen aus bakteriellen Membranen und bei deren Rekonstitution in definierten Lipidmatrizen aus [104-106]. Diese nichtionischen Tenside besitzen eine relativ hohe Aggregationszahl, woraufhin die Näherungen des Phasenseparationsmodells gemacht werden können. Die CMC ist eine Funktion der Temperatur, der Neutralsalzkonzentration und der Alkylkettenlänge. Bei Prozessen, die durch den hydrophoben Effekt bedingt sind kehrt sich mit steigender Temperatur das Vorzeichen der Enthalpie um; dort besitzt ΔH_{Demiz} eine Nullstelle. Die entsprechende Temperatur wird T_H genannt. Ebenso weist die Entropie eine Nullstelle bei T_S auf. Im Bereich von T_H ist es schwierig wenn nicht sogar unmöglich die CMC und die Demizellisierungsenthalpie auf titrationskalorimetrischem Wege genau zu bestimmen. Mit Hilfe der van't Hoff'schen Reaktionsisobare lassen sich ΔH_{Demiz} und die CMC aus den experimentell zugänglichen Werten mathematisch anpassen [51,55]. Die starke Temperaturabhängigkeit der Enthalpie und Entropie kompensieren sich weitgehend und es resultiert nach Gibbs-Helmholtz eine nur schwache Temperaturabhängigkeit der freien Enthalpie. Die Ableitung der Enthalpie nach der Temperatur ergibt die Wärmekapazität. Diese ist ein Maß inwieweit hydrophobe Oberfläche durch die Mizellbildung vom Einfluß des Wassers abgeschirmt wird.

Solubilisierung

Mit Hilfe der ITC lassen sich, für den Prozeß der Solubilisierung, die Phasengrenzen des Koexistenzbereichs einfach bestimmen. Sie sind aus den Kalorigrammen zugänglich als Wendepunkte des intermediären Extremwertes. Als Erste setzten Heerklotz et al. die Titrationkalorimetrie im Zusammenhang mit dieser Problemstellung ein [66]. Desweiteren läßt sich aus dieser Art von Experiment die Solubilisierungskraft verschiedener Tenside bestimmen. So besitzt Dodecylmaltosid eine deutlich höhere Solubilisierungskraft als Octylglucosid. Dies ist zu ersehen aus den für DM niedrigeren R_e^{sol} -Werten. Die

Solubilisierung der synthetischen Lezithine in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C zeigen einen linear ansteigenden Verlauf mit Zunahme der Acylkettenlänge des Lipids. Im Gegensatz dazu zeigt OG eine sprunghafte Änderung zwischen DPPC und DSPC. Dies deutet darauf hin, daß die Form und oder Größe der entstehenden Aggregate in der gemischt Mizellaren Phase differieren. Die Werte in Pufferlösung liegen leicht unter denen in reinem Wasser. Dies wird verursacht durch die Verringerung der Hydratation der Kopfgruppen in den Aggregaten. Die Reihenfolge der Solubilisierung in Abhängigkeit der Kopfgruppe des Lipids nimmt sowohl für DM als auch für OG in der Richtung PA>PC>PG ab. Ursache hierfür sind die in dieser Richtung abnehmenden intermolekularen H-Brückenbindungen. Gleichzeitig nehmen in dieser Richtung die intramolekularen H-Brückenbindungen zu. Deshalb läßt sich PG leichter als die anderen Lipide solubilisieren. Die temperaturabhängigkeit des Gesamtverhältnisses $R_t^\#$ des Beispiels OG/P90g in Wasser zeigt analog der temperaturabhängigkeit der Demizellierung ein Minimum zwischen 42 und 46 °C (quadratisch angepaßt). Die typische, auf den hydrophoben Effekt basierende Umkehr der Reaktionsenthalpie findet hier bei 42 °C statt. Das effektive Molverhältnis $R_e^\#$ zeigt für die Solubilisierung einen leichten und für die Saturierung einen stärkeren Anstieg mit steigender Temperatur. Der Einfluß der Größe der ursprünglich eingesetzten Vesikel wurde bei dem System OG/DMPC in Wasser bei 27 °C untersucht. Es konnte kein Einfluß der Vesikelgröße festgestellt werden. Die Solubilisierung des Gemisches DMPC/DMPG mit OG wurde in pH 6 Phosphatpuffer bei 70 °C untersucht. Die Solubilisierungsgrenze der DMPC-Membran wird durch beimischung von DMPG bis zu einem Molenbruch $X_{MG} = 0,4$ erhöht. Die DMPG-Membran wird durch den DMPC-Anteil bis $X_{MC} = 0,2$ destabilisiert.

Verteilungsexperimente

Die Experimente, bei denen Lipid zu einer Detergenvorlage titriert wurde, wurden mit konstantem Verteilungskoeffizienten P angepaßt. Der Verteilungskoeffizient und die Transferenthalpie nehmen mit zunehmendem OG-Gehalt in der DMPC-Membran bei 30 °C ab. Es scheinen anfängliche 'Fehlstellen' abgesättigt zu werden. Gleiches Verhalten zeigt sich bei 70 °C. Lediglich die Transferenthalpie nimmt betragsmäßig leicht zu. Die Abhängigkeit von der Kopfgruppe des Lipids zeigt eine Zunahme des Verteilungskoeffizienten von DPPA<DPPC<DPPG bei 70 °C in pH 6 Phosphatpuffer. Dies läßt sich verstehen durch die bereits vorher erwähnte Abnahme der intermolekularen H-Brückenbindungen. Dadurch wird die Membran flexibler und der Detergenseinbau erleichtert. Die Konstanz des Verteilungskoeffizient P war zu erwarten, da der Vorgang sich innerhalb eines kleinen

Konzentrationsbereichs abgespielt hat und immer derselbe Prozeß stattgefunden hat, nämlich der Einbau von wenig Detergens in die reine Lipidmembran.

Die Experimente, bei denen Detergens zu einer Lipidvorlage titriert wurde, konnten, wegen des nichtidealen Mischungsverhaltens, nicht mehr mit einem konstanten Verteilungskoeffizienten P angepaßt werden. Die Anpassung wurde mit dem athermischen Mischungsmodell von Guggenheim realisiert. Dabei enthält die Gibbs'sche freie Mischungsenthalpie einen Exzeßterm. Der Verteilungskoeffizient P_0 nimmt mit steigendem Vesikeldurchmesser ab. Die Krümmung der Vesikel hat somit großen Einfluß auf die 'Fehlstellen' in der Membran. Die Werte der Fit-Parameter schwanken leider sehr stark mit dem Intervall der Schrittweite für die Anpassung. Die Ursache hierfür liegt an der Qualität der experimentellen Werte. Bei der in dieser Arbeit durchgeführten Verteilungsexperimenten ist das Signal/Rausch Verhältnis recht klein und am Rande der Auflösung des Kalorimeters. Es ergeben sich somit schon bei der Integration und Basislinienkorrektur grobe Toleranzen. Für die mathematische Anpassung stehen desweiteren nur eine relativ geringe Datenmenge von ca. 20 - 40 Meßpunkten zur Verfügung. Es lassen sich somit bei Experimenten in diesem meßtechnischen Grenzbereich eher nur eine Abschätzung als genaue Absolutwerte bestimmen. Die Signale dieser Art von Experimenten sind deshalb so gering weil zu der geringen Verdünnungsenthalpie nur noch die Transferenthalpie weniger Detergensmoleküle beiträgt. Das nichtideale Mischungsverhalten dieses Verteilungsexperimentes ist zu verstehen, aus der Unterschiedlichkeit beider Amphiphile hinsichtlich Ihrer Strukturformel und ihrem physikalischen Verhalten.

DSC

Die Solubilisierung wurde auch mit der DSC-Methode untersucht. Der Einbau von OG in DPPC zeigt schon bei geringen Detergensmengen ein Verschwinden der Vorumwandlung ($L_{\beta'} \rightarrow P_{\beta'}$). Die Hauptumwandlung verschiebt sich mit steigender Detergenskonzentration zu niedrigeren Temperaturen. Beim Überschreiten der Saturierungsphasengrenze geht die Kooperativität der Umwandlung zunehmend verloren und die anfänglichen Umwandlungspeaks werden zu Umwandlungsbereichen. Sogar noch in der mizellaren Phase sind Umwandlungsbereiche zu erkennen, was darauf hindeutet, daß selbst dort noch 'Domänen' mit kooperativem Umwandlungsverhalten existieren müssen, da in reinen OG-Mizellen keine Umwandlung detektiert werden konnte. Die Verschiebung der Umwandlung und die Schärfe der Bereiche ist reversibel. Der Einfluß von 150 mM NaCl-Puffer bewirkt lediglich eine Verschiebung der Umwandlungstemperaturen um ca. 5 °C zu niedrigeren

Werten, was sicherlich auf die Änderung der Hydratation im Kopfgruppenbereich der Aggregate zurückzuführen ist.

Lichtstreuung

Mit Hilfe der dynamischen und statischen Lichtstreuung lassen sich die Grenzen des kalorimetrisch bestimmten Koexistenzbereichs bestätigen. Außerdem konnte ein kleiner lokaler Extremwert im Titrationskalorigramm als Ende der makroskopischen Phasenseparation identifiziert werden. Beim synthetischen Lipid DMPC reicht diese Mischungslücke vom Koexistenzbereich bis in den mizellaren Bereich. Bei dem natürlich vorkommenden SojaPC liegt diese Mischungslücke innerhalb des kalorimetrisch bestimmten Koexistenzbereichs. Das anionische DMPG weist keine Mischungslücke auf.

Rheologie

Das Anionische Lipid DMPG weist beim titrieren mit OG in pH 6 Phosphatpuffer bei 30 °C eine starke Basislinienverschiebung auf. Die Ursache hierfür ist eine sprungartige Zunahme der Viskosität beim Überschreiten der Saturierungsphasengrenze. Diese Basislinienverschiebung nimmt mit steigender Temperatur ab bedingt durch die Zunahme der thermischen Energie. Die rheologischen Eigenschaften des Systems OG/DMPG wurden mit einem Rotationsviskosimeter näher untersucht. Im Koexistenzbereich zeigt sich scherverdünnendes, anti-thixotropes Verhalten. Dies läßt sich erklären durch die Bildung von würmchenähnlichen Mizellen. Vor Beginn der Scherung sind die Würmchenmizellen durch die Brown'sche Molekularbewegung völlig ungeordnet. Mit eintretender Scherung findet eine Orientierung der Mizellfäden statt. Durch besseres aneinander Vorbeigleiten tritt eine Viskositätserniedrigung ein. Bei weiterer Erhöhung von $\dot{\gamma}$ kommt es verstärkt zu Rheodestruktion und die Moleküle müssen sich neu assoziieren. Erniedrigt man die Scherrate wieder, kommt es durch die Reassoziaton zu verstärkten Wechselwirkungen zwischen den verzweigten, fadenförmigen Mizellen. Dadurch ist die Viskosität beim Reduzieren der Scherrate höher und die Kurve verläuft linksherum (anti-thixotrop).

6 Literaturverzeichnis

1. Falbe and M. Regitz (1995) Römpp Chemie Lexikon, 9th ed., Georg Thieme, Stuttgart - New York.
2. Hartley (1936) Aqueous Solutions of Paraffin-Chain Salts, (Hermann & Cie).
3. SMALL (1970) Fed.Proc. 29, 1320-26.
4. Israelachvili (1985) Intermolecular and Surface Forces, (Academic Press).
5. Stryer L. (1991) Biochemie, (Spektrum) 1st ed., Heidelberg.
6. SINGER S. J. AND NICHOLSON G. L. (1972) Science 175, 720.
7. KINNUNEN P. K. J. (1991) Chem. Phys. Lipids 57, 375.
8. Cevc and D. Marsh (1987) Phospholipid Bilayers Physical Principles and Models, (John Wiley & Sons), New York.
9. Metzler J. B. (1984) Linder Biologie, (J. B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung) 19th ed., Stuttgart.
10. WINTER R. (1990) Chem. unserer Zeit 24(2), 71-81.
11. STAPPER C. AND BASTIAN M. (1997) Forschungsarbeit Kaiserslautern.
12. GARIDEL (1997) Dissertation Kaiserslautern.
13. Luzzati V. (1968) X-ray diffraction studies of lipid-water in Biological Membranes, (Academic Press, ed.), Vol. 1, London, New York.
14. HOFFMANN S. (1997) Dissertation Kaiserslautern.
15. MCINTOSH T. J. (1980) Biochemistry 29, 237-45.
16. MÜLLER E. (1995) Dissertation Kaiserslautern.
17. DILL K. A. AND FLORY P. J. (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78(2), 676-80.
18. BLOKZIJL W. AND ENGBERTS J. B. F. N. (1993) Angew. Chem. 105, 1610-48.
19. Tanford C. (1973) The Hydrophobic Effect, (Wiley & Sons Inc.), New York.
20. SHARP K. A. (1991) Curr. Biol. 1, 171.
21. MCBAIN J. W. AND SALMON C.S. (1920) J. Am. Chem. Soc. 42, 426.
22. McBain J. W. (1950) Colloid Science, (D. C. Heath and Co), Boston.
23. DEBYE P. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51, 575.

24. FRANK H. S. AND EVANS M. W. (1945) J. Chem. Phys. 13, 507.
25. Berichte vom VI. Internationalen Kongreß für grenzflächenaktive Stoffe Zürich, von 11.-15. September 1972
Chemie, physikalische Chemie und Anwendungstechnik für grenzflächenaktive Stoffe Band II,2:
Sektion B: Physikalische Chemie für grenzflächenaktive Stoffe
Carl Hanser Verlag, München 1973
Shinoda K.; *Thermodynamics of Micelle Formation*, p. 891-98.
26. NEMETHY G. AND SCHARAGE H. A. (1962) J. Chem. Phys. 36/12, 3401-17.
27. MILLER K. W. AND HILDEBRAND J. H. (1968) J. Am. Chem. Soc. 90, 3001.
28. TURNER J., SOPER A. K. AND FINNEY J. L. (1990) Mol. Phys. 70, 679.
29. FINNEY J. L., SOPER A. K. AND TURNER J. Z. (1993) Pure & Appl. Chem. 65(12), 2521-6.
30. EVANS D. F. AND NINHAM B. W. (1986) J. Phys. Chem. 90/2, 226-34.
31. PAULA S. (1992) Diplomarbeit Kaiserslautern.
32. Moroi (1992) *Micelles Theoretical and Applied Aspects*, (Plenum Press), New York.
33. LINDMANN AND WENNERSTRÖM (1980) *Topics in Current Chemistry* 87.
34. JOLICOEUR C. AND PHILIP P. R. (1974) Can. J. Chem. 52, 1834-9.
35. PRIVALOV P. L. AND GILL S. J. (1989) Pure & Appl. Chem. 61(6), 1097-1104.
36. BLUME A. (1983) *Biochemistry* 22(23), 5436-42.
37. GRUENEWALD B., STANKOWSKI S. AND BLUME A. (1979) *FEBS Lett.* 102(2), 227-9.
38. KODAMA M., MIYATA T. AND TAKAICHI Y. (1993) *Biochim. Biophys. Acta* 1169, 90-7.
39. Tabellen für das Labor, Merck, Darmstadt.
40. *Betriebshandbuch ZetaSizer3*, Müttek-Laser und optische Geräte GmbH, D-Hersching.
41. LICHTENBERG D., ROBSON R. J. AND DENNIS E. A. (1983) *Biochim. Biophys. Acta* 737, 285-304.

42. SCHÖNFELDER E. AND HOFFMANN H. (1994) *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 98(6), 842-52.
43. JACKSON, M. L., SCHMIDT, C. F., LICHTENBERG, D., LITMAN, B. J. AND ALBERT, A. D. (1982) *Biochemistry* 21(19), 4576-4582.
44. Shinitzky M. (1993) *Biomembranes - Physical Aspects*, (VCH), Weinheim.
45. OPATOWSKI E., LICHTENBERG D. AND KOZLOV M. M. (1997) *Biophys. J.* 73, 1458-67.
46. OPATOWSKI E., KOZLOV M. M. AND LICHTENBERG D. (1997) *Biophys. J.* 73, 1448-57.
47. ALMOG, S., LITMAN, B. J., WIMLEY, W., COHEN, J., WACHTEL, E. J., BARENHOLZ, Y., BEN-SHAUL, A. AND LICHTENBERG, D. (1990) *Biochemistry* 29(19), 4582-4592.
48. BIRDI K.S. (1983) *Colloid & Polymer Sci.* 261, 45-8.
49. PAREDES S., TRIBOUT M., FERREIRA J. AND LEONIS J. (1976) *Colloid & Polymer Sci.* 254, 637-42.
50. PHILLIPS J. M. (1955) *Trans. Faraday Soc.* 51, 561.
51. PAULA S., SUJESS W., TUCHTENHAGEN J. AND BLUME A. (1995) *J. Phys. Chem.* 99(30), 11742-11751.
52. VANÅKEN T., FOXALL-VANÅKEN S., CASTLEMAN S. AND FERGUSON-MILLER S. (1986) *Meths. Enzymol.* 125, 27-35.
53. KAMEYAMA K. AND TAKAGI T. (1989) *J. Colloid Interface Sci.* 137(1), 1-10.
54. GILL S. J. AND WADSÖ I. (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73(9), 2955-8.
55. NUSSELDER J. J. H. AND ENGBERTS J. B. F. N. (1992) *J. Colloid Interface Sci.* 148(2), 353-61.
56. DE GRIP W. J. AND BOVEE-GEURTS P. H. M. (1979) *Chem. Phys. Lipids* 23, 321-5.
57. RIBOSA, I., SANCHEZ-LEAL, J., COMELLES, F. AND GARCIA, M. T. (1997) *J. Colloid Interface Sci.* 187(2), 443-446.
58. HUIBERS (1997) *J. Coll. Interf. Sci.*

59. LAMBERT O., LEVY D., RANCK J. L., LEBLANC G. AND RIGAUD J. L. (1998) *Biophys. J.* 74, 918-30.
60. MENGER F. M. (1979) *Acc. Chem. Res.* 12(4), 111-7.
61. ALPES H., ALLMANN K., PLATTNER H., REICHERT J., RIEK R. AND SCHULZ S. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 862, 294-302.
62. SHINODA K., YAMAGUCHI T., HORI R. (1961) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 34, 237.
63. BALZER D. (1993) *Langmuir* 9, 3375-84.
64. ROSEVEAR, PAUL, VANAKEN, TERRELL, BAXTER, JEFFREY AND FERGUSON-MILLER, SHELAGH (1980) *Biochemistry* 19(17), 4108-4115.
65. Stephen H. and Stephen T. (1963) *Solubilities of Inorganic and Organic Compounds*, (Pergamon) 1st ed., London.
66. HEERKLOTZ H., LANTZSCH G., BINDER H., KLOSE G. AND BLUME A. (1995) *Chem. Phys. Lett.* 235, 517-20.
67. NOLLER C. R. AND ROCKWELL W. C. (1938) *J. Am. Chem. Soc.* 60, 2076.
68. BARON C., THOMPSON T. E. (1975) *Biochim. Biophys Acta* 382,276-85.
69. STUBBS, GENE W. AND LITMAN, BURTON J. (1978) *Biochemistry* 17(2), 215-219.
70. Racker E. (1985) *Reconstitution of Transporters, Receptors and Photological States*, (Academic Press), Orlando, Florida.
71. Klausner R. D., v.Renswoude J., Blumenthal R., Rivnay B. *Molecular and Chemical Characterization of Membrane Receptors*, pp. 209-39.
72. WALTER A. (1990) *Molecular and Cellular Biochemistry* 97, 145-56.
73. SERAS, M., OLLIVON, M., EDWARDS, K. AND LESIEUR, S. (1993) *Chem. Phys. Lipids* 66(1-2), 93-109.
74. MAZA A. AND PARRA J. L. (1997) *Biophys. J.* 72, 1668-75.
75. SCHUERHOLZ, THEO, GIESELMANN, ANKE AND NEUMANN, EBERHARD (1989) *Biochim. Biophys. Acta* 986(2), 225-233.
76. OLLIVON, MICHEL, EIDELMAN, OFER, BLUMENTHAL, ROBERT AND WALTER, ANNE (1988) *Biochemistry* 27(5), 1695-1703.

77. Blume A. (1988) Applications of calorimetry to lipid model membranes. In: Physical properties of biological membranes and their functional implications, (Plenum Publishing Corporation), New York.
78. BLUME A. (1991) *Thermochim. Acta* 193, 299-347.
79. KELLER, M., KERTH, A. AND BLUME, A. (1997) *Biochim. Biophys. Acta* 1326(2), 178-192.
80. HEERKLOTZ H., LANTZSCH G., BINDER H. AND KLOSE G. (1994) *Biochim. Biophys. Acta* 1196, 114-22.
81. HEERKLOTZ H., LANTZSCH G., BINDER H., KLOSE G. AND BLUME A. (1996) *J. Phys. Chem.* 100, 6764-74.
82. KELLER M. (1995) Diplomarbeit, Kaiserslautern.
83. HUSSONG R., JESBERGER M. (1997) Forschungsarbeit, Kaiserslautern.
84. Kortüm G., Lachmann H. (1981) Einführung in die chemische Thermodynamik (VCH) 7. Auflage, Weinheim.
85. Lichtenberg D. persönliche Mitteilung.
86. LONG M. A., KALER E. W. AND LEE S. P. (1994) *Biophys. J.* 67, 1733-42.
87. ROTENBERG M. AND LICHTENBERG D. (1991) *J. Colloid Interface Sci.* 144(2), 591-4.
88. EIDELMAN, OFER, BLUMENTHAL, ROBERT AND WALTER, ANNE (1988) *Biochemistry* 27(8), 2839-2846.
89. MAZA A. AND PARRA J. L. (1996) *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 877-83.
90. KERTH A. (1997) Diplomarbeit Kaiserslautern.
91. MIGUEL, MARIA DA GRACA, EIDELMAN, OFER, OLLIVON, MICHEL AND WALTER, ANNE (1989) *Biochemistry* 28(22), 8921-8928.
92. UENO, MASAHARU (1989) *Biochemistry* 28(13), 5631-5634.
93. VINSON, PHILLIP K., TALMON, YESHAYAHU AND WALTER, ANNE (1989) *Biophys. J.* 56(4), 669-681.
94. Brockhaus-Enzyklopädie, (F. A. Brockhaus GmbH) 19th ed., Mannheim.
95. MILBRADT C. (1994) Studienarbeit Aachen.

96. Schümmer P. (1992) *Rheologie I Grundlagen und Anwendung*, Rheinisch Westfälische Technische Hochschule Aachen.
97. Voigt R. (1993) *Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf*, (Ullstein Mosby), Berlin.
98. Ferguson J. and Kemblowski Z. (1992) *Applied Fluid Rheology*, (Elsevier Applied Science), London, New York.
99. Hunter R. J. (1992) *Foundations of Colloid Science Volume II*, (Oxford Science Publications).
100. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, (CRC Press) 66th ed.
101. LEQUEUX F. (1996) *Current Opinion in Colloid & Interface Sci.* 1(3), 341-4.
102. OLOFSSON G. (1985) *J. Phys. Chem.* 89, 1473.
103. BLUME A. TUCHTENHAGEN J. PAULA S. (1993) *Proc. Colloid Polymer Sci.* 93, 118.
104. *AppliChem (1997/98) Biochemica Darmstadt.*
105. ZUMBUEHL O., WEDER H. G. (1981) *Biochim. Biophys. Acta* 640, 252.
106. NOZAKI Y., LASIC D. D. TANFORD C. REYNOLDS J. A. (1982) *Science* 217, 366.
107. Shinoda K., Nakagawa G. (1963) *Colloidal Surfactants* (Academic Press), New York.
108. Heritage A. (1995) *Einführung in die praktische Rheologie*, Bohlin Instruments LTD.
109. HEERKLOTZ H., EPAND R. M. (2001) *Biophys. J.* 80, 271-9.
110. LICHTENBERG D., OPATOWSKI E., KOZLOV M. M. (2000) *Biochim. Biophys. Acta* 1508, 1-19.
111. HEERKLOTZ H., SEELIG J. (2000) *Biochim. Biophys. Acta* 1508, 69-85.

7 Anhang

7.1 Abkürzungen

Lipide und Tenside

PC	Phosphatidylcholin
DMPC	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylcholin
DPPC	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylcholin
DSPC	1,2-Distearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylcholin
DAPC	1,2-Diarachidoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylcholin
DMPA	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidsäure
DPPA	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidsäure
DMPG	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylglycerol
DPPG	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylglycerol
DPPE	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphorylethanolamin
P90g	Phospholipon 90/90g
E200H	Epicuron 200H
OG	1-O-octyl- β -D-glucopyranosid
DM	1-O-dodecyl- β -D-maltosid
DTAB	Dodecyl trimethyl ammonium bromid
SDS	sodium dodecyl sulfat

Methoden

ITC	Isothermal Titration Calorimetry
DTC	Differential Titration Calorimetry
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DLS	Dynamische Lichtstreuung

Phasen

L_c	kristalline Phase
$L_{c'}$	kristalline Phase mit Tiltwinkel
L_β	Gelphase
$L_{\beta'}$	Gelphase mit Tiltwinkel

$L_{\beta I}$	interdigitierte Gelphase
P_{β}	„Ripple“-Phase
L_{α}	flüssigkristalline Phase
H_I	hexagonale Phase
H_{II}	invertierte hexagonale Phase

Demizellisierung

ΔH	Enthalpie
ΔG	freie Enthalpie
ΔS	Entropie
ΔC_P	Wärmekapazität
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration
T_H	Temperatur bei $\Delta H = 0$
T_S	Temperatur bei $\Delta S = 0$

Solubilisierung

L	Lipidkonzentration
D_{Miz}	Detergenskonzentration in der Mizelle
D_{Mon}	Detergenskonzentration der Monomere
D_t	Gesamtdetergenskonzentration
D_e	Detergenskonzentration in der Doppelschicht
D_w	Detergenskonzentration im Wasser
R_e	Detergens-Lipid-Verhältnis in der Doppelschicht
R_t	Gesamtdetergens-Lipid-Verhältnis
#	Platzhalter für die Phasengrenzen
sat	Saturierung
sol	Solubilisierung

Verteilung

P	Verteilungskoeffizient
K	Verteilungskoeffizient
X_e	Molenbruch Detergens im Aggregat
X_w	Molenbruch Detergens im Wasser

W	Wasserkonzentration
Q	Reaktionswärme
ρ	Nichtidealitätsparameter
F	Hilfsfunktion

DSC

T_m	Temperatur der Hauptumwandlung
T_s	Temperatur der Vorumwandlung

Rheologie

η	Viskosität
σ	Schubspannung
σ_y	Fließgrenze
$\dot{\gamma}$	Scherrate

Sonstige

P	Packungsparameter nach Israelachvili
V	Volumen des Amphiphils
a	Fläche der Kopfgruppe des Amphiphils
l	Länge des Amphiphils
R	Allgemeine Gaskonstante
T	Temperatur
f_w	Aktivitätskoeffizient
m	Aggregationszahl
X	Löslichkeitskonstante
CMC'	kritische Mizellbildungskonzentration als Molenbruch
M_r	relative Molmasse
μS	10^{-6} Siemens

8 Danksagung

Mein Dank gilt allen Mitarbeitern und Forschungspraktikanten des Arbeitskreises A. Blume, die dazu beigetragen haben, daß die Aufklärung der gestellten Problematik gelungen ist und es auch neben der Arbeit viel Spaß gegeben hat.

Mitarbeiter des AK Blume:

Dr. A. Elbert, Dr. P. Garidel, Dr. A. Giehl, Dr. S. Hoffmann, J. Holzhauser Dr. C. Johann, H. Janetzki, A. Kerth, Dr. A. Lange, Dr. E. Müller, Dr. H. Pax, Dr. M. Requero, B. Thierfelder.

Forschungspraktikanten:

A. Backschadt, M. Bastian, R. Hussong, M. Jesberger, C. Stapper, T. Stengel

Mein besonderer Dank gilt:

- Dr. O. Türk und Dr. P. Dern für die netten Wanderungen durch den Pfälzer Wald und die Unterstützung während des Studiums.
- Dr. A. Elbert und Dr. C. Johann für die Unterhaltung auf den langen Fahrten nach Halle a.d. Saale.
- Den hallenser Kollegen für deren Kollegialität.
- C. Schüler für das Korrekturlesen.
- H.H.P. O. Huwiler für die geistliche Unterstützung.

Vor allem möchte ich meinen Eltern danken, die mir dieses Studium ermöglichten.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Gattin danken, die während meines Studiums und meiner Abwesenheit in Halle treu zu mir gestanden hat.