

Physikochemische Charakterisierung homologer kationischer Tenside und deren Wechselwirkung mit Modellmembranen bestehend aus DMPC und DMPG

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II–Chemie und Physik
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Frau Diplompharmazeutin Katja Knauf
geb. am 24. März 1978 in Lutherstadt Eisleben

Gutachter:

1. Prof. Dr. rer. nat. habil. A. Blume (Halle, Saale)
2. Prof. Dr. rer. nat. habil. A. Fahr (Jena)

Halle (Saale), 19.07.2007

urn:nbn:de:gbv:3-000012274

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000012274>]

*I have often said that when you can measure
what you are speaking about and can express it in numbers
you know something about it;
when you can not express it in numbers,
your knowledge is in meager and unsatisfactory kind.*

Sir W.J. Thompson, Lord Kelvin (1834-1907)

Inhaltsverzeichnis

1	Zielsetzung	1
2	Einführung	3
2.1	Chemische Strukturen der verwendeten Substanzen	3
2.1.1	Tenside	3
2.1.2	Phospholipide	4
2.2	Selbstaggregation amphiphiler Moleküle	5
2.2.1	Tenside an der Wasser/Luft-Grenzfläche und Mizellbildung in der Volumenphase	8
2.2.2	Phospholipide an der W/L-Grenzfläche und in der Volumen- phase	13
2.2.3	Vesikel-Mizell-Phasenumwandlung	17
2.3	Membranelektrostatik	21
2.4	Messmethoden	24
2.4.1	Isotherme Titrationskalorimetrie	24
2.4.2	Differentialscanningkalorimetrie	26
2.4.3	Dynamische Lichtstreuung	26
2.4.4	IR-Spektroskopie an der Wasser/Luft-Grenzfläche	27
3	Ergebnisse und Diskussion	29
3.1	Untersuchungen in der Volumenphase	29
3.1.1	Demizellisierung der Alkyltrimethyl-ammoniumbromide	29
3.1.2	Verteilung der Alkyltrimethylammoniumbromide zwischen Bulk- und Vesikelphase	42
3.1.3	Solubilisierung der Lipidvesikel in Mischmizellen	58
3.2	Untersuchungen an der W/L-Grenzfläche	86
3.2.1	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie	86
3.2.2	Brewsterwinkelmikroskopie	106

4 Zusammenfassung	111
A Methoden und Materialien	117
A.1 Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC)	117
A.1.1 Methode	117
A.1.2 Probenpräparation	119
A.1.3 Versuchsdurchführung	119
A.2 Differentialscanningkalorimetrie (DSC)	121
A.2.1 Methode	121
A.2.2 Probenpräparation	122
A.2.3 Versuchsdurchführung	122
A.3 Dynamische Lichtstreuung (DLS)	122
A.3.1 Methode	122
A.3.2 Probenpräparation	123
A.3.3 Versuchsdurchführung	124
A.4 IRRAS	124
A.4.1 Methode	124
A.4.2 Probenpräparation	125
A.4.3 Versuchsdurchführung	126
A.4.4 Probenpräparation	126
A.5 Filmwaageexperimente mit Brewsterwinkelmikroskopie (BAM) . . .	127
A.5.1 Methode	127
A.5.2 Probenpräparation und Versuchsdurchführung	128
A.6 Weitere verwendete Geräte	129
A.7 Chemikalienverzeichnis	130
B Zusatzinformationen	131
B.1 Literaturwerte der Demizellisierung	131
B.2 ITC-Solubilisierung	132
B.3 DLS-Solubilisierung	134
B.4 DSC	137
B.5 IRRAS	139
Literaturverzeichnis	I

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

Abkürzungen

Abb.:	Abbildung
BAM:	Brewsterwinkelmikroskopie (BAM)
CFB:	“Cell feedback“
cryo-TEM:	cryo-Transmissionselektronenmikroskopie
CPK:	“Spacefilling“ Diagramm nach Corey, Pauling und Koltan
CTAB:	Cetyltrimethylammoniumbromid
CTAC:	Cetyltrimethylammoniumchlorid
DHPC:	1,2-Diheptanoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
DLS:	Dynamische Lichtstreuung
DDAB:	Didodecyldimethylammoniumbromid
DMPC:	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
DMPG:	1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylglycerol
DPPC:	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
DPPG:	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylglycerol
DSC:	Differentialscanningkalorimetrie
DTAB:	Dodecyltrimethylammoniumbromid
DTAC:	Dodecyltrimethylammoniumchlorid
EPC:	Ei-Phosphatidylcholin
FT-IR:	Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie
Gl.:	Gleichung
GS:	Gallensalz
HLB:	Hydrophile-Lipophile-Balance
IR:	Infrarot
IRRAS:	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie
ITC:	Isotherme Titrationskalorimetrie
JFB:	“Jacked Feedback“
ma:	“Massaction“
MCT:	Quecksilber-Cadmium-Tellur
MM:	Mischmizellen
MV:	Mischvesikel
NMR:	Kernresonanz-Spektroskopie
NaCl:	Natriumchlorid
NG:	Nonylglucosid
OG:	Octylglucosid
PL:	Phospholipid
POPC:	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylcholin
PS:	“Pseudophasen-Separations“-Modell
QELS:	Quasielastische Lichtstreuung
RO:	“Reference Offset“
SANS:	Neutronenkleinwinkelstreuung
SAXS:	Röntgenkleinwinkelstreuung

IV

SDS:	Natriumdodecylsulfat
SUV:	kleine unilamellare Vesikel
Tab.:	Tabelle
TTAB:	Tetradecyltrimethylammoniumbromid
W/L:	Wasser-Luft
weitere:	
aq:	wässrige Phase
b:	Vesikel („bilayer“)phase
demiz:	Demizellisierung
i:	Aggregat-Wasser-Grenzschicht („interface“)
L:	Lipid
m:	Mizellphase
T:	Tensid

Symbole

$A_{Molekuel}$:	molekulare Fläche
Abs :	Absorptionswerte (Extinktion) der IRRAS-Banden
a_0 :	Querschnittsfläche der hydrophilen Kopfgruppe
β :	Gegenionenbindungsgrad
β^* :	Heizrate
ΔC_p :	Änderung der molaren Wärmekapazität bei konstantem Druck
c_0 :	Molekülkonzentration an der Membranoberfläche
c_I :	Konzentration der Ionen in der Bulkphase
c_T^b :	Tensidkonzentration in der Vesikelphase
c_T^{aq} :	Tensidkonzentration in der wässrigen Bulkphase
c_W :	molare Wasserkonzentration
c_I^{aq} :	Ionenkonzentration in der Bulkphase
$c_T^{aq,0}$:	Tensidkonzentration in der wässrigen Phase am Ordinatenschnittpunkt der Phasengrenzen
$C(t)$:	Intensitätskorrelationsfunktion
cmc :	kritische Mizellbildungskonzentration
cmc' :	kritische Mizellbildungskonzentration in Molenbruecheinheiten
cmt :	kritische Mizellbildungstemperatur
cvc :	kritische Vesikelbildungskonzentration
c_T^{sat} :	Tensidkonzentration der Sättigungsphasengrenze
c_T^{sol} :	Tensidkonzentration der Solubilisierungsphasengrenze
$c_T^{aq,sat}$:	Tensidkonzentration am Ordinatenschnittpunkt der Sättigungsphasengrenze
$c_T^{aq,sol}$:	Tensidkonzentration am Ordinatenschnittpunkt der Solubilisierungsphasengrenze
D :	Diffusionskoeffizient
e :	Elementarladung

ϵ :	lokale Dielektrizitätskonstante
$\epsilon_{Molekuel}$:	Extinktionskoeffizient der Substanz in der W/L-Grenzfläche
ϵ_0 :	Dielektrizitätskonstante des freien Raumes
ϵ_r :	Dielektrizitätskonstante des Wassers
f_T :	Aktivitätskoeffizient des Tensides im Bulk
ϕ :	Bindungsenergie
$\Delta\varphi^{i/aq}$:	Oberflächenpotential der Membran
η :	Viskosität des Mediums
ΔG :	Änderung der Freien GIBBS-Enthalpie
G :	Gasphase
Γ :	Oberflächenkonzentration von Molekülen in der W/L-Grenzfläche
γ' :	„Zugänglichkeitsfaktor“ der Lipidmoleküle im Vesikel
γ :	Oberflächenspannung der filmbedeckten Oberfläche
γ_0 :	Oberflächenspannung der reinen Subphase
ΔH :	Reaktionsenthalpie
ΔH_{beob} :	„Brutto“-Reaktionsenthalpie
$\Delta H_{monverd}$:	Reaktionsenthalpie resultierend aus der Monomerverdünnung
$\Delta H_{mizverd}$:	Reaktionsenthalpie resultierend aus der Mizellverdünnung
$\Delta_U H$:	Hauptphasenumwandlungsenthalpie der PL
H_I :	normal hexagonale Phase
H_{II} :	invers hexagonale Phase
I :	mizellare Phase
I_S :	Streulichtintensität
k :	Kraftkonstante der Bindungsschwingung
k_B :	BOLTZMANN-Konstante
K :	Gleichgewichtskonstante
K^* :	Dissoziationskonstante
\acute{K} :	Adsorptionskonstante
λ :	Wellenlänge
LC :	flüssig-kondensierte Phase („liquid condensed“)
LE :	flüssig-expandierte Phase („liquid expanded“)
L_α :	flüssigkristalline Phase
L_β :	Gelphase
L_c :	kristalline Phase
l_c :	Moleküllänge des lipophilen Molekülteils im fluiden Zustand
l_{max} :	Moleküllänge des ausgestreckten lipophilen Molekülteils
m :	Anzahl der Gegenionen, gebunden an einer Mizelle
μ^* :	reduzierte Masse der gegeneinander schwingenden Atome
μ :	chemisches Potential
M :	monokline Phase
M_{agg} :	apparente mizellare Molmasse
ν :	Frequenz des IR-Strahles
ν_0 :	Eigenfrequenz des molekularen Oszillators
ν_{as} :	antisymmetrische Streckschwingung
ν_s :	symmetrische Streckschwingung

N :	Aggregationszahl
N_A :	AVOGADRO-Konstante
$N_{Molekuel}$:	molekulare Dichte in der W/L-Grenzschicht
N^* :	Bindungsstellenanzahl
N_c :	Molekülzahl in der Zelle
N_s :	Molekülzahl in der Spritze
n :	Anzahl der Methylengruppen
Δn_T^b :	Stoffmengenänderung an membrangebundenen Tensid
Δn_L :	Stoffmengenänderung des Lipids durch Titration
ψ :	elektrostatisches Oberflächenpotential an einer Grenzfläche
ΔP :	Heizleistung
p :	Druck
$P_T^{m/aq}$:	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen Bulkphase und Mizelle
$P_T^{m/b}$:	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen MV und MM
$P_L^{m/b}$:	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen MV und MM
$P_T^{b/i}$:	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen Phasengrenzfläche und MV
$P_T^{b/aq}$:	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen Bulkphase und MV
$P_T^{i/aq}$:	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen Grenzschicht und Bulkphase
P_T^{IRRAS} :	Tensid-Verteilungskoeffizient zwischen Monoschicht und Bulkphase
P_{kr} :	kritischer Packungsparameter
P_β :	“Ripple“- Phase
π :	lateraler Oberflächendruck
q :	Streuvektor
ΔQ :	Reaktionswärme
$Q_{L,verduen}$:	Verdünnungswärme der Lipidvesikel
Q :	kubische Phase
Θ :	Streuwinkel
θ :	Grenzflächenbedeckungsgrad
R :	universelle Gaskonstante
R :	Einkanal-Reflektionsspektrum des Monolayer
R_0 :	Einkanal-Reflektionsspektrum von der reinen Subphasenoberfläche
$R_{L/T}$:	molares Verhältnis von Lipid zu Tensid in der Reaktionszelle
$R_{T/L}^b$:	molares Verhältnis von Tensid zu Lipid in Mischvesikel
$R_T^{b,sat}$:	molares Tensid-Lipid Verhältnis an der Sättigungsphasengrenze
$R_T^{m,sol}$:	molares Tensid-Lipid-Verhältnis an der Solubilisierungsphasengrenze
R_h :	hydrodynamischer Radius
σ :	Oberflächenladungsdichte
ΔS :	Änderung der Entropie
S :	kristalline, feste Phase
τ :	“Delay“-Zeit
T :	absolute Temperatur
T_c :	Löslichkeitskurve
T_m :	Hauptphasenumwandlungstemperatur von P_β' zu L_α

T_p :	Vorumwandlungstemperatur von $L_{\beta'}$ zu $P_{\beta'}$
T_s :	Subumwandlungstemperatur von L_c zu $L_{\beta'}$
V :	Volumen der Kohlenwasserstoffkette
X_T^m :	Molenbruch des Tensids in der Zelle
X_T^b :	Molenbruch des vesikelgebundenen Tensids
X_T^{aq} :	Molenbruch des Tensids in der Bulkphase
X_T^i :	Molenbruch des Tensids in der Grenzphase
$X_T^{b,sat}$:	Molenbruch des Tensides an der Sättigungsphasengrenze
$X_T^{m,sol}$:	Molenbruch des Tensides an der Solubilisierungsphasengrenz
x :	Abstand von der Grenzfläche
z :	Ionenwertigkeit, Ladungszahl

Zielsetzung

1

Zu den bedeutenden Fortschritten in der Wissenschaft zählt das generelle Verständnis von Membraneigenschaften und deren Funktionen. Dies bildet die Grundlage für Untersuchungen von zahlreichen biochemischen Prozessen in pro- und eukaryotischen Zellen und ist die Grundvoraussetzung für innovative pharmakologische und galenische Entwicklungen.

Tenside als membranzerstörende Substanzen werden vielseitig zur Lyse von Zellen eingesetzt, um deren Zellinhalte zu untersuchen und Membranproteine zu isolieren. Für pharmazeutische Anwendungen bieten Tenside umfangreiche Einsatzmöglichkeiten, wie z. B. für Wirkstoffträgersysteme (Emulsionen, Mischmizellen) zur kosmetischen, dermatologischen, oralen und systemischen Anwendung.

Die verwendeten kationischen Alkyltrimethylammoniumbromide sind als mikrobi-zide Mittel Bestandteil in zahlreichen Desinfektionsmitteln und Spermiziden. Des Weiteren werden sie in geringen Konzentrationen in Kosmetikprodukten, wie z. B. Haarkonditionern und in Waschmitteln verwendet. Aufgrund der positiven Ladung der Tensidkopfgruppe binden sie stark an die Phosphatgruppe von DNA-Helices und werden deshalb zur DNA-Isolation und zusammen mit kationischen Phospholipiden für Transfektionsstudien genutzt. Diese Anwendungsvielfalt verstärkt das Interesse an intensiven Untersuchungen dieser Substanzen.

Als Modellmembransubstanzen wurden das zwitterionische Phospholipid DMPC, das als Hauptbestandteil von eukaryotische Zellwänden gilt, sowie das anionische Phospholipid DMPG, das vor allem in Zellwänden von Mikroorganismen und Chloroplasten vorkommt, verwendet. Als Modellmembranen dienten sowohl Lipiddoppelschichten in vesikulärer Form als auch Lipidmonolayer an der Wasser/Luft (W/L)-Grenzfläche.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die physikochemische Charakterisierung der homologen kationischen Tenside DTAB, TTAB und CTAB sowie deren Wechselwirkung mit Modellmembranen, bestehend aus DMPC und DMPG. Dabei sollten sowohl die Eigenschaften in der Volumenphase als auch an der Wasser/Luft-Grenzfläche durch die Kombination verschiedener Messmethoden untersucht und verglichen werden.

In der Volumenphase wurden zur Untersuchung der Thermodynamik der Mizellierungs-, Verteilungs- und Solubilisierungsprozesse die kalorimetrischen Methoden ITC und DSC angewendet. Des Weiteren diente die DLS der Untersuchung der kolloidalen Tensid-Lipid-Gemische hinsichtlich Art, Größe und Struktur der gebildeten Aggregate.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die Adsorption der Tenside und deren Wechselwirkung mit Phospholipidmonolayern an der W/L-Grenzschicht vor allem unter Verwendung der Filmwaagetechnik zusammen mit IRRAS untersucht.

Bei allen Experimenten stand die Abhängigkeit der beobachteten Eigenschaften von der Tensidkettenlänge und der Einfluss der Oberflächenladungsdichte der Membran im Mittelpunkt. Im Wesentlichen werden diese Ergebnisse hier vorgestellt. Auf die Ergebnisse mit der Referenzsubstanz DDAB und dem Phospholipidgemisch aus DMPC und DMPG im molaren Verhältnis von (1:1) sowie auf die Ergebnisse mit anderen Messmethoden wird verwiesen.

2.1 Chemische Strukturen der verwendeten Substanzen

2.1.1 Tenside

Tenside sind wasserlösliche Amphiphile (Abschnitt 2.2). Der Begriff Tensid stammt vom lateinischen Wort „tendere“, das übersetzt „spannen, straff anziehen“ bedeutet und auf die von der molekularen Struktur abgeleiteten Eigenschaft der Herabsetzung der Oberflächenspannung des Wassers bzw. der Lösungsvermittlung zweier nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten hinweist. Die Ladung der Kopfgruppe bildet die Grundlage für die Klassifizierung der Tenside in amphotere, nichtionische und kationische sowie anionische Tenside ^[1]. Die Eigenschaften und Anwendung eines Tensids hängen neben der Struktur des hydrophoben Teiles stark von der elektrischen Ladung der Kopfgruppe ab.

Die verwendeten homologen Alkyltrimethylammoniumbromide gehören zur Klasse der geradkettigen kationischen Tenside. Sie besitzen eine aliphatische Kohlenwasserstoffkette (C₁₂: DTAB; C₁₄: TTAB; C₁₆: CTAB), die mit einem quarternären Stickstoffatom verbunden ist. Die Trimethylammoniumstruktur bildet die hydrophile Kopfgruppe. Es wurden vor allem die Bromidsalze der kationischen Tenside verwendet, deren Strukturformeln in Abb. 2.1 dargestellt sind. Die Nomenklatur nach IUPAC lautet für DTAB *N*-Dodecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid, für TTAB *N*-Tetradecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid und für CTAB *N*-Hexadecyl-*N,N,N*-trimethylammoniumbromid.

Die triviale Nomenklatur der verwendeten Tenside richtet sich nach ihrer Abstammung von den entsprechenden Fettsäureaminen. So wird DTAB auch als Lauryl-, TTAB als Myristoyl- und CTAB als Palmityl- oder Cetyl-trimethylammoniumbromid in der Literatur bezeichnet. Nach JUNGERMANN ^[2] wurde für die halbsynthetische Herstellung von DTAB und TTAB als Rohmaterial Kokosöl verwendet,

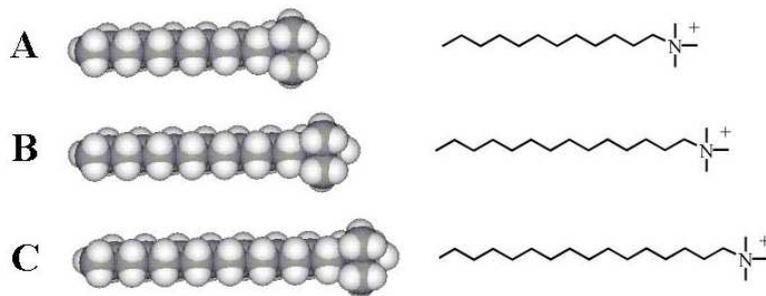


Abb. 2.1: Strukturformeln der Alkyltrimethylammoniumbromide: A: DTAB, B: TTAB, C: CTAB (rechts) mit CPK-Modellen (links)

welches vor allem C_{12} - und C_{14} -Amine („Cocoamine“) enthält, während für die Herstellung des CTAB Talg des Wales (latein: „cetacea“) zur Gewinnung der C_{16} Amine („Tallowamine“) diente.

Neben den einkettigen kationischen Tensiden wurde das zweikettige Amphiphil *N,N*-Didodecyl-*N,N*-dimethylammoniumbromid (DDAB) verwendet, dessen Struktur in Abb. 2.2 dargestellt ist. DDAB gehört wie die verwendeten homologen Alkyltrimethylammoniumsalze zur Gruppe der kationische quarternäre Ammoniumsalze.

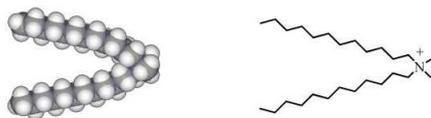


Abb. 2.2: Strukturformel von DDAB (rechts) mit CPK-Modell (links)

DDAB wird formal den Tensiden zugeordnet, obwohl es in wässriger Umgebung mit Erreichen der kritischen Vesikelbildungskonzentration (*cvc*) membranbildende statt mizellbildende Eigenschaften aufweist^[3-6].

Die für diese Arbeit verwendeten Tenside sind vollsynthetischen Ursprungs.

2.1.2 Phospholipide

Phospholipide (PL) sind Amphiphile, die in apolaren Lösungsmitteln wie z. B. Benzen oder Chloroform/Methanol aber kaum im Wasser löslich sind. Eine der Hauptklassen der PL, die in pro- und eukaryotischen Zellmembranen vorkommen, sind neben den Sphingolipiden die Glycerophospholipide. Das gemeinsame Strukturmerkmal der Glycerophospholipide ist die *sn*-Glycero-3-phosphorsäure. Die stereospezifische „*sn*“ Bezeichnung wird zur Unterscheidung der verschiedenen Enantiomere verwendet. In natürlich vorkommenden PL ist die Phosphatgruppe mit der *sn*-3 Hydroxylgruppe des Glycerols verestert und das Molekül liegt in L-Konfiguration vor. Die Phosphatgruppe liegt als Diester vor, weil sie meist an einer weiteren Position mit einem kurzkettigen Alkohol verknüpft ist. Dieses Gerüst zusammen bildet die hydrophile Kopfgruppe, die je nach dem verknüpften Alkoholrest die Klassifizierung in zwitterionische (Cholin, Ethanolamin) oder anionisch geladene PL erlaubt (Serin, Inositol, Glycerol)^[7, 8].

Den hydrophoben Molekülteil bilden meist aliphatische, gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, die mit dem Glycerol in Position *sn*-1 und *sn*-2 verestert sind.

In dieser Arbeit wurden die nach der formellen IUPAC Nomenklatur bezeichneten Diacylglycerophospholipide 1,2-Tetradecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin und 1,2-Tetradecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylglycerol verwendet, deren Trivialname auf die beiden veresterten, gesättigten C₁₄-Fettsäuren „Myristoyl“ bezogen ist und somit die Abkürzungen DMPC bzw. DMPG gebräuchlich sind.

Die Strukturen der verwendeten PL sind in Abb. 2.3 dargestellt. Das verwendete zwitterionische DMPC und unter physiologischen Bedingungen anionisch vorliegende DMPG sind synthetischen Ursprungs.

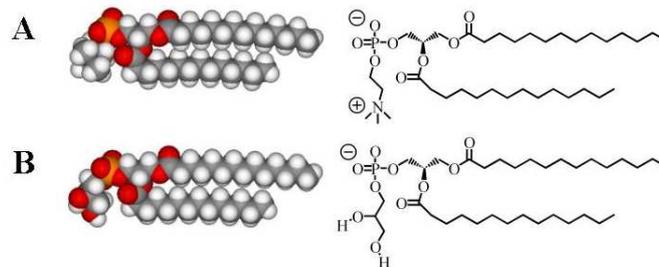


Abb. 2.3: Strukturformeln der Phospholipide (A) DMPC und (B) DMPG (rechts) mit CPK-Modell (links)

2.2 Selbstaggregation amphiphiler Moleküle

Nach SMALL ^[9–11] werden biologische Lipide auf der Grundlage ihres Verhaltens in wässrigen Systemen sowohl im Bulk als auch an der W/L-Grenzfläche klassifiziert. Der Begriff „Lipid“ bezieht sich nach SMALL auf eine heterogene Gruppe organischer Verbindungen mit aliphatischen oder aromatischen Molekülteilen. Die formale Einteilung (Abb. 2.4) erfolgt in unpolare und polare Lipide. Die polaren Lipide werden in wasserunlösliche und wasserlösliche Amphiphile unterteilt. „Amphiphil“, ein Wort griechischer Herkunft mit der Bedeutung „ampho=beide“ und „philos=Freund“, kennzeichnet die Haupteigenschaft dieser Moleküle, sowohl zu wässrigen als auch zu lipophilen Medien Kontakt aufnehmen zu können. Ermöglicht wird diese Eigenschaft durch den Molekülaufbau eines Amphiphiles, der nach HARTLEY ^[12] aus einer polaren hydrophilen Kopfgruppe (ionisch oder nichtionisch) gekoppelt an eine hydrophobe Kohlenwasserstoffstruktur besteht.

Zu den wasserunlöslichen, quellenden Amphiphilen gehören z. B. die Phospholipide und das verwendete DDAB, die an der W/L-Grenzfläche stabile Monolayer und in der Volumenphase verschiedene lyotrope und thermotrope flüssigkristalline Phasen ausbilden. Bei den wasserlöslichen Amphiphilen werden zwei Typen unterschieden: Typ A, zu dem Substanzen zählen, die eine Polaritätstrennung zwischen dem hydrophoben und hydrophilen Molekülteil aufweisen und flüssigkristalline Phasen oder Mizellen in wässriger Umgebung bilden, sowie Typ B Substanzen, die im Unterschied zu Typ A keine deutliche Polaritätstrennung zwischen den Molekülteilen besitzen und im Wasser ausschließlich Mizellen bilden. Die Alkyltrimethylammonium-

bromide als konventionelle Tenside werden den wasserlöslichen Amphiphilen des Typs A zugeordnet.

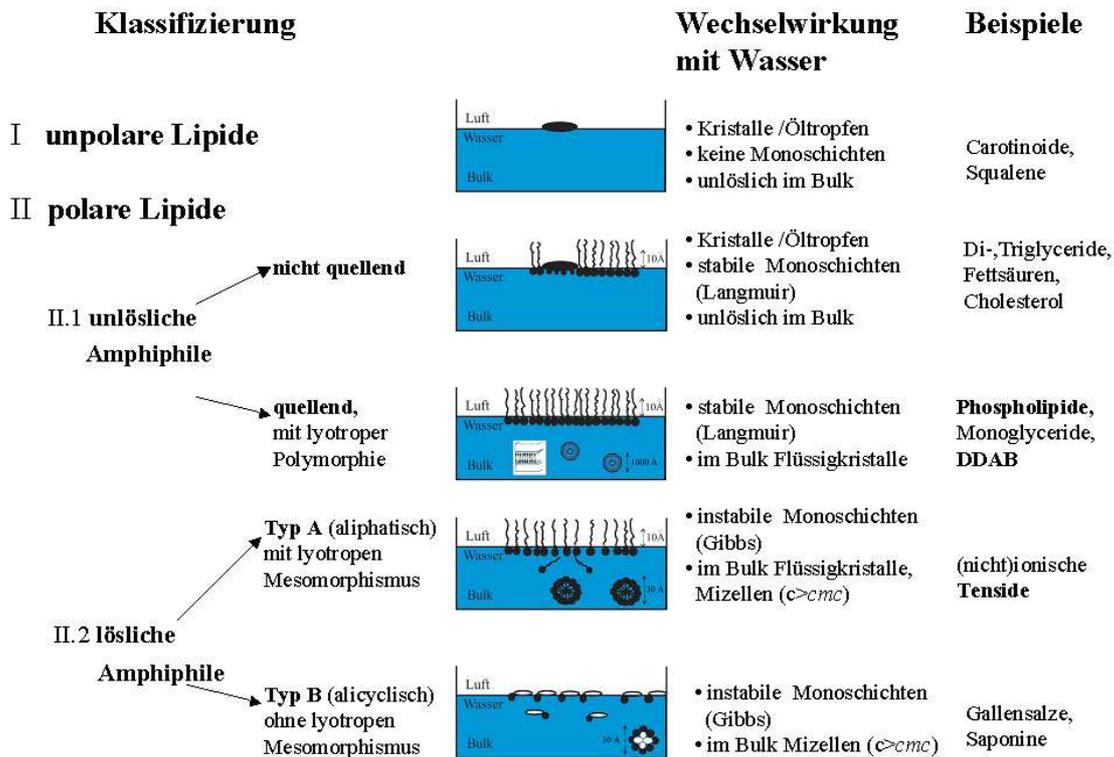


Abb. 2.4: Klassifizierung der Lipide nach SMALL [9–11]

GRIFFIN [13, 14] stellte für nichtionische grenzflächenaktive Verbindungen ein HLB-System (Hydrophilic-Lipophilic-Balance) auf, welches den Substanzen numerische, dimensionslose Zahlenwerte zwischen 0–20 entsprechend des Gewichtsverhältnisses des hydrophilen Molekülanteiles zum Gesamtmolekül zuordnet und somit Aussagen über die Wasserlöslichkeit des Stoffes zulässt. Später entwickelte DAVIES [15, 16] ein System zur Bestimmung des HLB-Wertes ionischer Verbindungen basierend auf der Polarität der Tenside. Im Unterschied zu GRIFFINs HLB-Bestimmung variieren die Werte nach DAVIES zwischen 0 – 40, wobei eine Kennzahl > 10 wasserlösliche hydrophile Amphiphile kennzeichnet.

Die charakteristische Eigenschaft von Lipiden ist ihre Fähigkeit, in wässriger Umgebung Aggregate nichtkovalenter Natur zu bilden. Schon 1891 entdeckte TRAUBE, dass sich Amphiphile aufgrund der Abstoßung zwischen dem Wasser und den Kohlenwasserstoffketten bevorzugt an der W/L-Grenzfläche konzentrieren. Er entwickelte eine quantitative Beschreibung der Oberflächenaktivität amphiphiler Moleküle [17] („Traubsche Regel“), die besagt, dass innerhalb einer homologen Reihe grenzflächenaktiver Stoffe für die gleiche Erniedrigung der Oberflächenspannung vom höherstehenden Homologen eine etwa dreimal geringere Konzentration als vom vorangehenden Homologen ausreicht. MCBAIN und SALMON [18] untersuch-

ten 1920 die reversible Bildung von Seifenaggregaten und postulierten als Ursache der Selbstaggregation die attraktiven Wechselwirkungen zwischen den unpolaren Kohlenwasserstoffketten. Auch die Modelle von PALMER und DEBYE beschrieben als treibende Kraft die apolar/apolaren Anziehungskräfte^[19, 20].

HARTLEY^[12] und KAUFMANN^[21] beschrieben 1939 bzw. 1954 erstmals als Ursache der Selbstaggregation amphiphiler Moleküle im Wasser die Veränderung der stark attraktiven Eigenschaften des Wassers durch die Solvatation der hydrophoben Molekülketten, den sogenannten „hydrophoben Effekt“. Durch die Zugabe eines apolaren Moleküls in Wasser wird das tetraedrische Wasserstoffbrückennetzwerk zur Umstrukturierung gezwungen, sodass eine geringstmögliche Einbuße an Wasserstoffbrückenbindungen resultiert^[22]. Es bildet sich ein Clathrathydratkäfig^[23–25] um die apolaren Moleküle („Eisbergmodell“ nach FRANK und EVANS^[26, 27]) aus, sodass dem „Gastmolekül“ auf der einen Seite Platz geschaffen wird und dadurch das Wasserstoffbrückennetzwerk auf der anderen Seite um das apolare Molekül gestärkt wird. Die Einschränkung der Orientierungsmöglichkeiten des Wassers in drei seiner Tetraederrichtungen tangential an der Oberfläche des besetzten Raumes führt zu einer thermodynamisch ungünstigen Entropieabnahme des Wassers, der Grundlage des „hydrophoben Effektes“. Durch die Umstrukturierung der Wassermoleküle im Kontakt mit hydrophoben Molekülgruppen ist der Entropiebeitrag negativ. Die Änderung der Enthalpie ist bei Raumtemperatur nahezu null, sodass sich für die Freie Enthalpie große positive Werte ergeben. Mit steigender Temperatur nimmt der absolute Wert der negativen Entropie ab („Wasserschmelzen“) und der zunehmende Enthalpieterm tritt ab circa 100 °C in den Vordergrund^[28]. Die Wärmekapazität beim Transfer einer unpolaren Substanz in Wasser ist positiv und führt zu einer starken Temperaturabhängigkeit des „hydrophoben Effektes“. Die Änderung der Wärmekapazität nimmt mit steigender Temperatur ab^[29–32].

Die treibende Kraft der Selbstaggregation amphiphiler Moleküle in Wasser ist die Abnahme des chemischen Potentials durch den kleineren Entropiebeitrag infolge der Verkleinerung der zum Wasser orientierten hydrophoben Oberfläche. Der Entropiegewinn ist proportional der zum Wasser exponierten hydrophoben Oberfläche.

Die Organisation amphiphiler Moleküle in der wässrigen Volumenphase zu flexiblen Assoziationskolloiden erfolgt im Wesentlichen in Abhängigkeit von der Struktur und der Ladung des Amphiphils sowie in Abhängigkeit von den Eigenschaften des Lösungsmittels, wie z. B. der Ionenstärke und dem pH-Wert. Vor allem die intermolekularen Wechselwirkungskräfte (Abschnitt 2.3) zwischen den Molekülen innerhalb eines Aggregates werden von den Lösungsmittleigenschaften beeinflusst. Ein Modell nach ISRAELACHVILI erlaubt Vorhersagen über die Form der Assoziate ungeladener Amphiphile als Funktion der molekularen Geometrie^[33].

$$P_{kr} = \frac{V}{a_0 \cdot l_c} \quad (2.1)$$

Nach Gl. 2.1 ist der kritische Packungsparameter P_{kr} von der Länge l_c und vom Volumen V des lipophilen Molekülteils sowie von der Querschnittsoberfläche a_0 der

hydrophilen Kopfgruppe abhängig. P_{kr} ist dimensionslos und charakteristisch für jedes Amphiphil. Die Länge der unpolaren Ketten l_c ist gemäß TANFORD^[22] im fluiden Zustand aufgrund von *gauche*-Konformeren um etwa einen Faktor von 0.7 kleiner als die Länge der voll ausgestreckten Kette l_{max} mit n Methylengruppen. Allgemein gilt^[33] :

$$l_c \leq l_{max} \approx (0.1265n + 0.154)\text{nm} \quad (2.2)$$

Beispiel-amphiphil	Packungsparameter P_{kr}	Packungsform	Aggregatstruktur
Tenside (einkettig, mit großen Kopfgruppen) z.B. SDS ohne Salzzusatz	$P_{kr} < 1/3$	Kegel 	sphärische Mizellen 
Tenside (einkettig, mit kleinen Kopfgruppen) z.B. CTAB mit Salzzusatz	$1/3 < P_{kr} < 1/2$	abgeschnittener Kegel 	zylindrische Mizellen 
doppelkettige Amphiphile (große Kopfgruppen) z.B. DDAB, DMPC, DMPG	$1/2 < P_{kr} < 1$	abgeschnittener Kegel 	flexible Bilayer 
doppelkettige Amphiphile (kleine Kopfgruppen)	$P_{kr} \approx 1$	Zylinder 	planare Bilayer 
doppelkettige Amphiphile (kleine Kopfgruppen)	$P_{kr} > 1$	umgekehrt abgeschnittener Kegel 	inverse Mizellen 

Abb. 2.5: Packungsparameter mit Packungsformen und resultierender Aggregatstrukturen^[33]

des Lösungsmittels beeinflusst.

Eine Erhöhung der Salzkonzentration im Wasser führt bei den verwendeten kationischen Alkyltrimethylammoniumbromiden durch die Reduktion der abstoßenden, elektrostatischen Kräfte zwischen den hydrophilen Kopfgruppen zur Bildung von zylindrischen Mizellen und analog für das anionische Lipid DMPG zur Formation größerer Vesikel mit geringeren Krümmungsradius (Abb. 2.5). Amphiphile, die in Lösung unter bestimmten Voraussetzungen zu physikalisch gebundenen Aggregaten assoziieren und deren Aggregatform sich vom Lösungsmittelgehalt abhängig ändert, sodass eine Zustandsänderung der Lösung die Folge ist, werden auch als „lyotrope Flüssigkristalle“ bezeichnet. Die entsprechenden Zustandsdiagramme werden in den folgenden Abschnitten diskutiert.

2.2.1 Tenside an der Wasser/Luft-Grenzfläche und Mizellbildung in der Volumenphase

Tenside sind eingeschränkt monomer wasserlöslich. Werden Tensidmonomere in eine wässrige Umgebung gebracht, lagern sie sich zum Teil an der W/L-Grenzfläche

In Abb. 2.5 sind die resultierenden Aggregatstrukturen nach ISRAELACHVILI dargestellt. Die sich aufgrund der unterschiedlichen Raumbedarfswerte der hydrophilen und hydrophoben Gruppen ergebenden unterschiedlichen Krümmungstendenzen an der hydrophil/hydrophoben Grenzfläche führen zu verschiedenen Systemüberstrukturen. Verallgemeinernd lässt sich zusammenfassen, dass sich mizellbildende Amphiphile durch eine voluminösere Kopfgruppe im Verhältnis zum lipophilen Molekülteil auszeichnen. Membranbildende Amphiphile weisen hingegen kleinere Kopfgruppen auf, wodurch sich Vesikel mit großen Krümmungsradien oder planaren Doppelschichten ausbilden. Die Aggregatform wird zusätzlich von der Temperatur, dem Sättigungsgrad der Kohlenwasserstoffketten und bei Amphiphilen mit ionischen Kopfgruppen von der Ionenstärke und dem pH-Wert

an, sodass sich die verschiedenen Molekülteile der jeweils günstigsten Umgebung zuwenden. Der hydrophobe Teil ist zur Luft und der hydrophile Teil zum Wasser orientiert. Die Verteilung der Tenside zwischen der Bulkphase und der W/L-Grenzfläche unterliegt einem dynamischen Gleichgewicht, wobei die treibende Kraft der Adsorptionsfilmbildung das Bestreben nach einer möglichst minimalen Kontaktzone zwischen Wasser und den hydrophoben Molekülteilen ist. Die Bildung von quasi-zweidimensionalen, selbstorganisierten Systemen („Monolayer“) durch lösliche Amphiphile führt zur Verminderung der Oberflächenspannung des Wassers γ (72.4 mN/m), die mit Hilfe der GIBBS Adsorptionsisotherme^[34] beschrieben werden kann:

$$d\gamma = -RT \sum_i \Gamma_i \cdot d\ln a_i \quad (2.3)$$

wobei Γ_i der Oberflächenkonzentration der i-ten Komponente und a_i der Aktivität der i-ten Komponente in der Volumenphase entspricht.

Aus der halblogarithmischen Auftragung von γ gegen die Konzentration kann am Knickpunkt der Kurve die kritische Mizellbildungskonzentration cmc bestimmt werden. Mit steigender Tensidkonzentration wird der Adsorptionsfilm bis zur cmc dichter gepackt. Mit dem Erreichen der cmc , die für jedes Tensid charakteristisch ist, ordnen sich die Moleküle schlagartig in der Volumenphase so um, dass die hydrophoben Molekülteile vom Wasser im Mizellkern abgeschirmt sind und die polaren Kopfgruppen zur wässrigen Phase orientiert sind (Abb. 2.6). Die Aggregation verläuft spontan, reversibel und relativ schnell mit einer Geschwindigkeitskonstante^[35] von 10 s^{-1} zu thermodynamisch stabilen Assoziationskolloiden, welche seit 1913 auch als „Mizellen“ bezeichnet werden. Der Begriff wurde erstmals von MC-BAIN geprägt^[36]. Mit dem Erreichen der cmc einer Tensidlösung verändern sich neben der Oberflächenspannung auch andere kolligativen Eigenschaften wie z. B. die Leitfähigkeit, der osmotische Druck und die Trübung der Lösung^[37].

Die Abhängigkeit der Mizellbildung von der Konzentration und der Temperatur ist in Abb. 2.7 dargestellt. Erst oberhalb der kritischen Mizellbildungstemperatur cmt können durch Konzentrationserhöhung aus monomeren Tensidsystemen Mizellen entstehen. Wird die Tensidkonzentration über die cmc hinaus erhöht, bleibt die Konzentration der mit den Mizellen im Gleichgewicht stehenden Monomeren bei ungeladenen Tensiden konstant. Lediglich die Mizellanzahl oder Mizellform verändern sich^[1].

Unterhalb der cmt -Kurve, die auch als Löslichkeitskurve bezeichnet wird, kristallisiert das Tensid in der wässrigen Phase als hydratisierte Suspension aus^[39]. Der Schnittpunkt der cmc -Kurve mit der cmt -Kurve ergibt den für das jeweilige Tensid charakteristischen „Krafft-Punkt“^[40], bei dem die mizellare Phase mit der monomeren Tensidphase sowie der kristallinen Tensidphase im Gleichgewicht stehen. Nach dem GIBBSschen Phasengesetz ist das Zweikomponentensystem Tensid-Wasser am Krafft-Punkt univariant, so dass bei einem vorgegebenen Druck der Krafft-Punkt

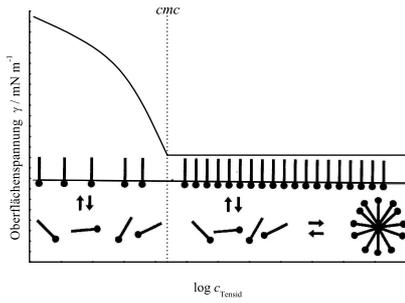


Abb. 2.6: Oberflächenspannung und kritische Mizellbildungskonzentration (cmc) von Tensiden^[38]

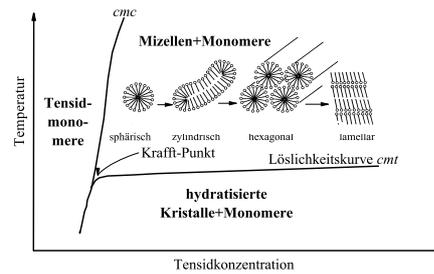


Abb. 2.7: Mizellbildung in Abhängigkeit von Temperatur und Konzentration^[39]

fixiert ist^[41]. In einer homologen Reihe ist die Krafft-Temperatur umso größer, je länger die hydrophobe Kette ist.

Die Struktur der Mizellen wurde in der Mitte des letzten Jahrhunderts verschieden diskutiert (Abb. 2.8). Während HARTLEY Mizellen ausschließlich als sphärische Aggregate beschrieb^[12], postulierte MCBAIN die Koexistenz von lamellaren und sphärischen Mizellen^[42]. Mit ANACKER und DEBYE wurden Mizellen 1951 erstmals als stäbchenförmige Aggregate beschrieben^[43].

Heute ist bekannt, dass die Mizellform von der chemischen Struktur des Tensids, der Konzentration und äußeren Parametern wie pH -Wert, Temperatur und Ionenstärke des Mediums bestimmt wird^[44, 45]. Neutronenkleinwinkelstreuexperimente an mizellaren Systemen ionischer Tensidmoleküle bestätigten HARTLEYS Modell der sphärischen Mizelle^[46, 47]. Wird die Ionenkonzentration im Medium oder die Konzentration des Tensids jedoch erhöht, verändert sich die Mizellform von sphärischen in größere, anisometrische zylindrische, hexagonale bis lamellare Strukturen (Abb. 2.7)^[48, 49]. Nach Untersuchungen von CATES^[50] et al. mittels DLS besteht eine mizellare CTAB Lösung mit KBr-Zusatz aus langen, flexiblen, wurmartigen Mizellen.

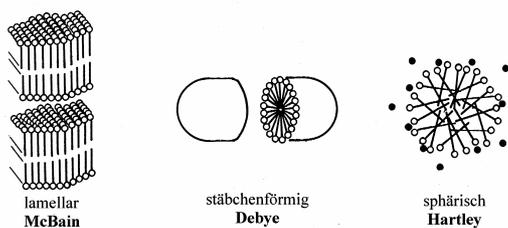


Abb. 2.8: Mizellstrukturmodelle von 1936 (HARTLEY), 1944 (MCBAIN) und 1951 (DEBYE)^[1]

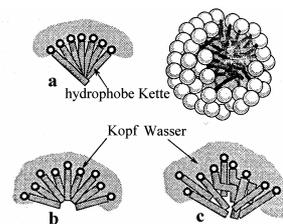


Abb. 2.9: Schematische Darstellung einer hydratisierten Mizelle^[51]

Die äußere Begrenzung einer Mizelle wird nach HIEMENZ und RAJAGOPALAN^[51], dargestellt in Abb. 2.9 C, als rauh mit herausragenden Kopfgruppen diskutiert. Dies stellt einen Kompromiss zwischen dem „Riff“-Modell mit dichtgepackten Kopfgruppen und daraus resultierenden, überlappenden Kettenenden (Abb. 2.9 A) sowie

dem „Fjord“-Modell mit einer großen Wassereindringtiefe in das Mizellinnere durch die nicht überlappende Anordnung der hydrophoben Ketten (Abb. 2.9 B) dar^[52]. Tatsächlich ist die Mizellstruktur hochdynamisch mit ständigem Austausch der Monomere. Die hydrophoben Molekülketten im Inneren der Mizelle sind flexibel, mit Verdrillungen und Krümmungen angeordnet, sodass das Mizellinnere in zwei Bereiche, einen wasserfreien Kern und einer teilweise hydratisierten Schale („Palisadenschicht“) zwischen der hydrophilen Oberfläche der Mizelle und dem hydrophoben Kern, eingeteilt werden kann.

Aus der Möglichkeit der Mizellbildung resultiert eine fast lückenlose Mischbarkeit des betreffenden Amphiphils mit seinem Lösungsmittel^[55]. Bei sehr hohen Konzentrationen treten durch die Wechselwirkungen zwischen den Mizellen verschiedene Mesophasen lyotroper Flüssigkristalle auf^[56]. In Abhängigkeit von der Tensidkonzentration und der Temperatur haben AUVRAY^[53], WÄRNHEIM^[54] und WOLFF^[57] durch Anwendung verschiedener Methoden, wie z. B. Polarisationsmikroskopie, Differentialscanningkalorimetrie und Röntgenstrahlbeugung binäre Phasendiagramme für verschiedene Alkyltrimethylammoniumsalze in Wasser entwickelt.

In Abb. 2.10 ist das Phasendiagramm für CTAB/Wasser dargestellt, das typischerweise neben der mizellaren Phase (I) mit zunehmender Tensidkonzentration eine hexagonale (H), eine kubische (Q) und zwei lamellare (L) Phasen aufweist. Zwischen der hexagonalen und kubischen Phase tritt nach AUVRAY^[53] eine monokline Phase (M) (zentriert deformierte, hexagonale Formation) im Unterschied zu den Untersuchungen nach HUSSON^[56] und LUZATTI^[58] auf. Unterhalb der Löslichkeitskurve T_c liegt ein Entmischungsgebiet zwischen CTAB als Kristall (S) und Wasser vor. Die punktierte Linie symbolisiert den Verlauf der cmc . Liegen anisometrische Mizellen (Stäbchen oder Scheiben) in der mizellaren Phase vor, können lyotrope nematische Phasen gebildet werden, deren Hauptmerkmal die Existenz einer Vorzugsorientierung der Mizellhauptachse mit ungeordnetem Aggregatschwerpunkt ist, die eine niedrige Viskosität aufweisen und im Polarisationsmikroskop eine Schlierentextur zeigen.

Hexagonale Phasen sind aus stäbchenförmigen Mizellen aufgebaut, deren Längsachsen eine zweidimensionale, hexagonale Fernordnung besitzen, hochviskos sind und im Polarisationsmikroskop durch charakteristische Fächertexturen erkannt werden können. Kubische Phasen sind optisch isotrop und besitzen eine hohe Viskosität. Bei Tensiden mit verhältnismäßig kleinem Kopfgruppenvolumen wie z. B. CTAB existiert eine kubische Phase nur zwischen hexagonaler und lamellarer Phase und nicht, wie üblich, zusätzlich zwischen mizellarer und hexagonaler Phase. Die kubische Phase ist bikontinuierlich aufgebaut. Sowohl das Wasser als auch das Tensid bilden über die gesamte Phase ausgedehnte, kontinuierliche und sich gegenseitig

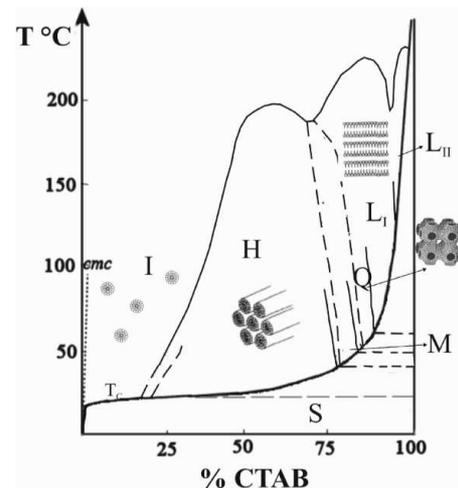


Abb. 2.10: Binäres Phasendiagramm von CTAB/Wasser; durchgezogene Linien nach AUVRAY^[53], gestrichelte Linien nach WÄRNHEIM^[54]

Parameter	DTAB	TTAB	CTAB
cmc ($T=25$ °C) / mM	8.0–15.0 ^[59–62]	3.0–3.58 ^[59–64]	0.8–1.0 ^[59–61, 63–67]
α ($T=25$ °C)	0.23– 0.36 ^[63, 68–70]	0.20– 0.27 ^[63, 64, 68–70]	0.16– 0.24 ^[63, 64, 68–70]
β ^[71, 72] ($T=25$ °C)	0.77–0.78	0.73–0.8 ^[71, 72]	0.82–0.96 ^[71, 73]
N ($T=20$ °C) ^[69, 74] ($c \approx cmc$)	54–57	68–72	90–92
Kraft-Temperatur / °C	< 0 ^[75]	9.5–10.5 ^[75]	26 ^[76]
M_{agg} ^[63] ($T=25$ °C) / 10^3 D	20.9	27.3	33.3 ($T=30$ °C)
Molekülgeometrie (Abschnitt 2.2)			
l / Å ^[4]	16.68	19.21	21.74
a_0 / Å ² ^[4]	63	65	64
V / Å ³ ^[4]	351.9	406.0	460.1
HLB nach DA- VIES ^[77, 78]	24.25	22.35	21.4
R_h , $T=25$ °C) / Å ($c \approx cmc$)			50–70 ^[79, 80]
R_h (Alkylkettenkern) ^[69] ($T=25$ °C) / Å	11.8	16.2	17.4

Tab. 2.1: Charakteristische Kennzahlen der Alkyltrimethylammoniumbromide im Wasser, die mit verschiedenen Methoden ermittelt wurden: Elektrophorese^[64, 71–73], Kalorimetrie^[63, 65, 67, 68, 68, 75], Potentiometrie^[60], Kleinwinkelneutronenstreuung^[49, 59], Tensiometrie^[61, 76], Fluoreszenzlöschung^[66, 69, 74], Konduktometrie^[70], cryo-TEM^[79] und DLS^[62, 80]

durchdringende Existenzbereiche aus. Die lamellare Phase besteht aus Ebenen orientierter Scheibchenmizellen oder großer Lamellen. Zwischen den äquidistanten Doppelschichten befinden sich Wasserschichten. Die lamellare Phase ist wie die hexagonale Phase optisch anisotrop, weist aber eine deutlich geringere Viskosität^[81] auf. Nach AUVRAY^[53] existieren für das CTAB/Wasser-System die lamellare Phase L_I , bei der die hydrophoben Kettenenden genau aneinander angrenzen, und die lamellare Phase L_{II} , in der die Ketten innerhalb einer Doppelschicht überlappen. Mit abnehmender Kettenlänge der Alkyltrimethylammoniumbromide verschiebt sich die T_c Kurve zu niedrigeren Temperaturen und die Phasengrenzlinien zu größeren Tensidkonzentrationen.

In Tabelle 2.1 sind verschiedene Mizellkennwerte, wie die cmc , der Ionisierungsgrad einer Mizelle α , der Gegenionen-kondensationsgrad β , die Aggregationszahl N , die Kraft-Temperatur, die apparente mizellare Molmasse M_{agg} , die Molekülgeometrie, der HLB-Wert sowie der hydrodynamische Radius R_h einer Mizelle, gebildet aus den homologen Alkyltrimethylammoniumbromiden DTAB, TTAB und CTAB, in Wasser durch eine Vielzahl von Untersuchungsmethoden zusammengefasst.

2.2.2 Phospholipide an der Wasser-Luft-Grenzfläche und in der Volumenphase

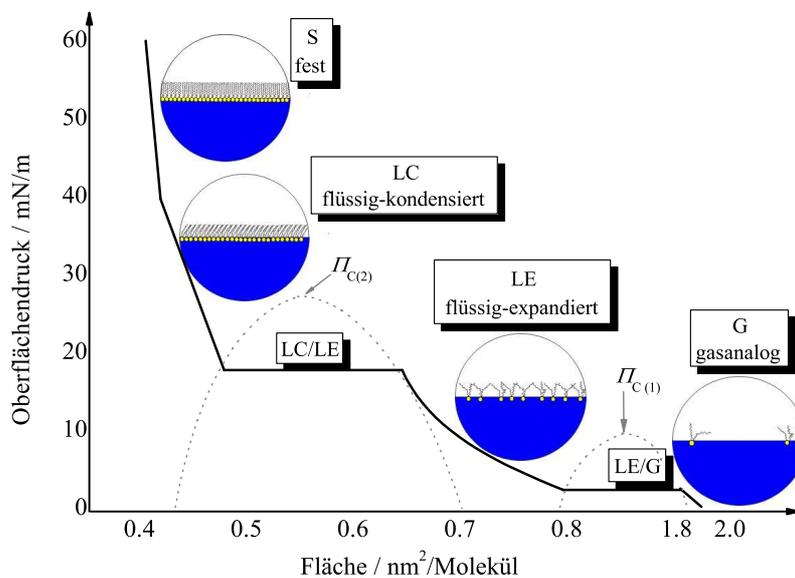


Abb. 2.11: Schematische π/A -Isotherme eines PL mit zwei Acylketten; die punktierte Linien kennzeichnen den Koexistenzbereich der LE/G-Phase sowie der LE/LC-Phase; $\pi_{C(1)}$ und $\pi_{C(2)}$ entsprechen kritischen Punkten nach MÖHWALD^[82]

Durch das Spreiten von chloroformhaltigen PL-Lösungen auf wässrigen Oberflächen entstehen monomolekulare, quasi-zweidimensionale Monolayer, die auch als Langmuirfilme bezeichnet werden. Die apolaren Molekülteile orientieren sich dabei zur

Luft, und die polaren Kopfgruppen sind der wässrigen Subphase zugerichtet. Eine Möglichkeit zur Charakterisierung der Lipidmonolayer ist die Aufnahme des lateralen Oberflächendrucks π als Funktion der molekularen Fläche A bei konstanter Temperatur mit Hilfe der Filmwaagetchnik^[83]. Der Oberflächendruck π entspricht der Differenz der Oberflächenspannung γ_0 der reinen Subphase und der filmbedeckten Oberfläche γ : $\pi = \gamma_0 - \gamma$ ^[84].

Die Druck-Flächen-Isotherme, schematisch dargestellt in Abb. 2.11, weist unterschiedliche Phasenzustände auf, die nach der Nomenklatur von ADAMSON^[85] benannt werden. Ausgehend von einer extrem expandierten Phase, der Gasphase G , bei der keine Wechselwirkungen der Moleküle untereinander auftreten, schließt durch Kompression des Lipidfilmes der Koexistenzbereich der Gasphase mit der flüssig-expandierten Phase LE an, welche durch weitere Kompression als reine LE -Phase vorliegt. Diese ist durch noch ungeordnete Alkylketten des Lipides und eine geringe Vergrößerung der intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Phospholipidmolekülen charakterisiert. Mit zunehmender Flächenverringering steigt der Oberflächendruck bis zum Erreichen des zweiten Plateaus, dem Koexistenzbereich der LE -Phase mit der flüssig-kondensierten Phase (LC). Dieser Phasenübergang ist durch einen nahezu konstanten Oberflächendruck gekennzeichnet und entspricht einem Phasenübergang erster Ordnung^[86–88]. Die PL-Moleküle sind in der LC -Phase zur Oberflächennormalen geneigt orientiert. Bei einem spezifischen Oberflächendruck weist die Isotherme einen Knickpunkt auf, welcher den kontinuierlichen Übergang des Monolayers in die am geringsten kompressible „feste“ Phase S kennzeichnet^[89]. Die Moleküle sind zur Oberflächennormale senkrecht orientiert und relativ starr angeordnet. Eine weitere Flächenverringering führt zum Filmkollaps. Dabei wird ein Teil der Moleküle von der Wasseroberfläche abgehoben und diese gleiten auf den Film auf^[51]. Das Phasenverhalten der PL an der W/L-Grenzfläche ist stark von der chemischen Natur des Moleküls (Natur und Ladung der Kopfgruppe sowie Länge und Sättigungsgrad der Alkylketten) und den Umgebungsbedingungen (Temperatur, pH-Wert und Ionengehalt der Subphase) abhängig.

Werden PL in Wasser gebracht, sind diese fast unlöslich (Abb. 2.4) aber nehmen das Wasser im begrenzten Umfang durch Quellung auf. Zweikettige PL aggregieren nach ISRAELACHVILI (Abschnitt 2.2) im Wasserüberschuß spontan zu Lamellen, Diskenmizellen oder Vesikel (Abb. 2.12 A, B). Vesikel, die auch als Liposomen bezeichnet werden, bilden sich in Abhängigkeit von der Zeit und der Rührintensität aus multilamellaren Aggregaten und stellen nach BANGHAM^[90] ideale Modellsysteme für Lipidbilayer zur Untersuchung ihrer physikochemischen Eigenschaften dar^[91–93]. Vesikel können mittels Extrusion, Hochdruckhomogenisation, Ultraschallbehandlung sowie durch Tensidentfernung mittels Verdünnung, Gelchromatographie oder Dialyse hergestellt werden. Die Vesikelgrößencharakterisierung und die Größenverteilungsuntersuchung gelingen durch Lichtstreuung, Elektronenmikroskopie, Gelfiltration und Ultrazentrifugation^[94].

Vesikel sind konzentrisch angeordnete, geschlossene Doppelschichten mit wässrigem Innenraum unterschiedlicher Größe sowie Lamellenzahl. Die Klassifizierung der Vesikel in multilamellare Vesikel (MLV), „large“ und „intermediate“ unilamellare Ve-

sikel (LUV und IUV) sowie „small“ unilamellare Vesikel (SUV) ist in Abb. 2.12 C und D^[8, 95] dargestellt.

Die Vesikeltypen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Größe, Krümmung, Bindungsstarrheit und ihres Einschlußvolumens^[96]. MLVs können einfach nach Abdampfen des Lösungsmittels einer organischen PL-Lösung und anschließender Suspension des PL-Filmes in Wasser durch Schütteln präpariert werden^[94, 97]. MLVs, die mehrere Doppelschichten im äquidistanten Abstand von ca. 10 nm aufweisen, sind relativ stabil und können Größen von 400 nm bis einigen μm aufweisen^[98]. LUVs und IUVs bestehen aus einer PL-Doppelschicht, weisen aufgrund ihrer Vesikelgröße von 250 nm bzw. 100 nm eine relativ kleine Krümmung auf und werden deshalb als Modellmembranen bevorzugt verwendet. Eine Herstellungsmöglichkeit entsprechender Vesikel mit kleiner Größenverteilung ist die Extrusionstechnik^[99–101]. Die kleinsten unilamellaren Vesikel sind die SUVs mit einem Durchmesser von wenigstens 15 nm. Die Oberfläche dieser Vesikel ist stark gekrümmt und die Dicke eines Lipidbilayers beträgt etwa 5 nm, wobei sich annähernd zwei Drittel der PL-Moleküle im äußeren und ein Drittel im inneren Monlayer befinden^[93]. SUVs können durch die Zerstörung der MLVs in instabile Fragmente mittels intensiver Ultraschallbehandlung einer MLV-Suspension hergestellt werden^[94]. Die Fragmente wandeln sich anschließend spontan in SUVs um^[102].

Dispergierte PL-Moleküle zeigen wie die Tenside einen ausgeprägten lyotropen und thermotropen Polymorphismus. PL weisen in Abhängigkeit vom Wassergehalt und von der Temperatur verschiedenen Strukturen und Mesophasen auf und werden aufgrund der Kombination von kristallinen (Gitterordnung mit Orientierungs- und Positionsfernordnung) und flüssigen (Fließeigenschaften, Isotropie) Eigenschaften seit Beginn des 20. Jahrhunderts als „Flüssigkristalle“ bezeichnet^[103].

Die universelle Nomenklatur für lyotrope Mesophasen wurde 1968 von LUZATTI geprägt^[104] und lautet wie folgt: *L*-lamellar, *H*-hexagonal, *Q*-kubisch, *I*-normal, *II*-invers, *c*-kristallin, β -gelartig und α -flüssigartig.

Reine PL liegen aufgrund ihres hygroskopischen Charakters als Monohydrate vor. Am Beispiel des Phasendiagramms von DPPC (1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin) in Wasser (Abb. 2.13) sinkt die Temperatur der Hauptphasenumwandlung zu L_α mit steigendem Wasseranteil bis zur vollständigen Hydratisierung der Kopfgruppe des Amphiphils. Eine Erhöhung des Wasseranteils über 35 Gew.-% führt zur Bildung eines heterogenen Zweiphasengebietes, innerhalb dessen vollständig hydratisierte, parallel angeordnete Stapel lamellarer Phasen (ähnlich smektischen Phasen) neben der Wasserphase vorliegen. Erst mit weiterer Verdünnung wird die Bildung von Vesikeln möglich. Bei niedrigen Temperaturen dominiert der hohe Ordnungsgrad der nahezu vollständig gestreckten Acylketten und ermöglicht ein Maximum an VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen. Die

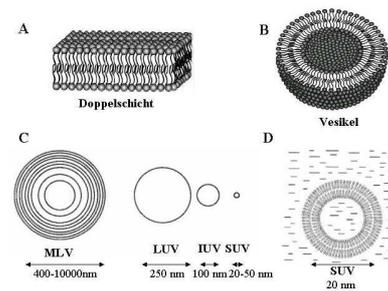


Abb. 2.12: A: Aggregation der PL in lamellare Strukturen, B: in Vesikel, C: schematischer Vergleich der Vesikelgröße von MLV, LUV, IUV und SUV mit Größenangaben, D: SUV in Wasser^[8]

Anordnung der Methylengruppen entspricht der energetisch günstigen *all-trans*-Konformation.

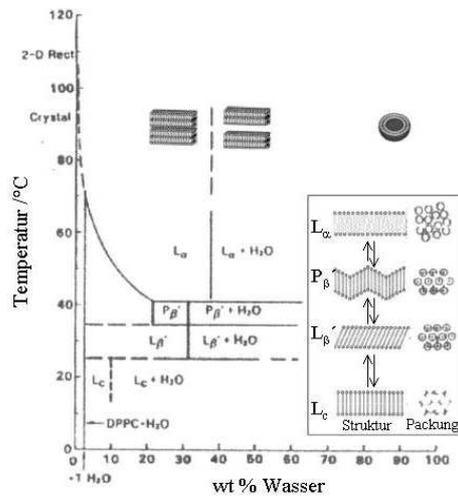


Abb. 2.13: DPPC-Phasendiagramm in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Wassergehalt^[105]

In der hochgeordneten kristallinen L_c -Phase unterhalb der Subumwandlungstemperatur $T_s=25\text{ °C}$ und in der Gelphase L_{β}' liegen die Ketten in einer orthorhombischen bzw. gestört orthorhombischen Packung vor. Die Kopfgruppen sind in der L_c -Phase relativ starr und nur unvollständig hydratisiert^[106]. Mit steigender Temperatur erfolgt die Subgel-Umwandlung in die L_{β}' -Phase unter Anstieg der Mobilität der Kopfgruppe verbunden mit einer größeren Eindringtiefe des Wassers in den Bereich der Grenzfläche. Die Ketten weisen eine Neigung von ca. 30 ° , gekennzeichnet durch die Apostrophierung des Index „ ‘ “, zur Ebene der Doppelschicht auf. Diese homologe Phasenumwandlung erfolgt unter Beibehaltung der Symmetrie aber mit Änderung der Gitterdimensionen^[107]. Bei der Vorumwandlungstemperatur $T_p=36\text{ °C}$ erfolgt die Umwandlung in die „Ripple“-Phase P_{β}' , in der die Acylketten in einem gestörten hexagonalem Gitter und wiederum in einem Winkel von 30 ° geneigt zur Doppelschichtebene vorliegen. Die PL-Moleküle weisen in dieser Phase eine beschleunigte Rotation um die Längsachse auf und die Doppelschicht weicht unter Bildung von regelmäßigen wellenförmigen Texturen in die dritte Dimension aus. Oberhalb der charakteristischen Hauptphasenumwandlungstemperatur $T_m=41.4\text{ °C}$ erfolgt die Umwandlung in die ungeordnete, flüssig-kristalline L_{α} -Phase mit veränderter Symmetrie und Gitterdimension. Das kooperative „Kettenschmelzen“ führt zur *trans-gauche*-Isomerisierung, zu einer schnellen lateralen Diffusion der PL-Moleküle innerhalb der Monoschicht ($D \approx 1 \cdot 10^{-8}\text{ cm}^2/\text{s}$) sowie zu einer schnellen Rotation der Lipidmoleküle um ihre Achse unter deutlicher Zunahme der Fluidität und Mobilität der Doppelschicht. Die Bildung der energetisch angeregten Rotationsisomere bewirkt eine laterale Ausdehnung verknüpft mit einer vertikalen Stauchung der Membran^[108–110]. Fast alle biologischen Membranen liegen in der flüssig-kristallinen L_{α} -Phase vor.

Das Wasser-Lipid-Phasendiagramm des verwendeten DMPC bzw. DMPG unterscheidet sich hinsichtlich der Lage der Phasen vom DPPC, aber nicht hinsichtlich der Phasensequenz. Die „Ripple“-Phase tritt bei Phosphatidylethanolaminen und Phosphatidsäure nicht auf, erscheint aber sowohl beim polaren DMPC als auch DMPG aufgrund der hydrophilen, hydratisierten Kopfgruppe als relativ großes Phasengebiet. Die kürzeren Acylkettenlängen des DMPC und DMPG im Vergleich zum DPPC verursachen ein Verschieben aller Phasenübergangstemperaturen zu niedrigeren Werten. Der Einfluss der Kopfgruppengröße und Polarität ist hinsichtlich der Phasenübergangstemperaturen gering, sodass eine nur sehr geringe Verschiebung der Hauptphasenumwandlungstemperatur T_m von 23.5 °C beim DMPC zu 24 °C beim DMPG in Wasser^[111] auftritt.

PL mit relativ schwach hydratisierten Kopfgruppen und stark attraktiven Kopfgruppen (z. B. Phosphatidylethanolamine) weisen zusätzlich normal oder invertiert hexagonale Phasen H_I und H_{II} bei sehr hohen Temperaturen auf^[105]. Kubische Phasen (Q) treten nur selten bei PL-Proben mit einem geringen Wassergehalt (z. B. DOPE nach wiederholter Erwärmung) sowie bei Lipid-Protein Mischungen auf. Sie sind bikontinuierlich mit minimaler Oberfläche oder mizellar durch die kubische Packung verschiedener Mizelltypen aufgebaut^[8, 112, 113].

Zusammenfassend ist das Phasenverhalten nicht nur von der Temperatur und dem Wassergehalt abhängig, sondern wird des Weiteren von den Eigenschaften der Acylketten, wie Länge, Sättigungsgrad und Asymmetrie, von der Polarität, Größe und vom Protonierungsgrad der Kopfgruppe sowie durch Änderung von Druck, pH-Wert und Art des Lösungsmittels (Elektrolytgehalt) beeinflusst.

2.2.3 Vesikel-Mizell-Phasenumwandlung

Der Umwandlungsprozess von lamellaren Lipidphasen (Vesikel) in mizellare Strukturen durch Tensidzugabe wird als Solubilisierung bezeichnet und ist für das Verständnis der Funktion biologischer Membranen als auch der Gewinnung und Reinigung von Membranproteinen essentiell^[115, 116].

Der Solubilisierungsmechanismus von Lipidvesikel durch schrittweise erfolgende Tensidzugabe wurde erstmals von HELENIUS^[117] 1975 als ein Dreistufenprozess beschrieben: zunächst erfolgt die Bindung und der Einbau von Tensidmonomere an und in der Lipiddoppelschicht, sodass Mischvesikel (MV) entstehen. Dabei wird die Membran fluidisiert und die Permeabilität wird gesteigert. In Stufe 2 wandeln sich bei einem konstanten chemischen Potential des

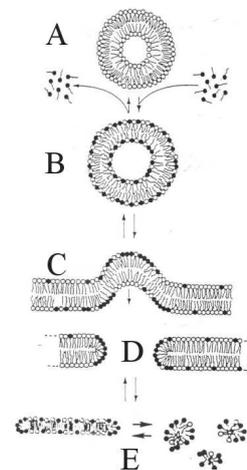


Abb. 2.14: Vesikel-Mizell-Phasenumwandlung, (A) Vesikel, (B) MV, (C) MV mit Ausstülpungen, (D) Mischbilayerfragmente, (E) MM^[114]

Tensids (μ) die mit Tensidmonomere gesättigten Vesikel in Mischmizellen (MM) um. Nach der vollständigen Phasenumwandlung von MV in MM erfolgt in Stufe 3 eine Verkleinerung der MM mit zunehmendem Tensid/PL-Verhältnis^[118–122]. Ein erweitertes Modell nach LASCH^[114] teilte Stufe 2 in verschiedene Bereiche ein: zunächst koexistieren Mischvesikel neben gemischten Bilayerfragmenten und nach Erreichen der Bilayersättigung in Stufe 3 erfolgt die Umwandlung in MM sowie deren Verkleinerung in Stufe 4, dargestellt in Abb. 2.14.

Nach LICHTENBERG^[123] kann die Solubilisierung mit Hilfe des Lipid-Tensid-Phasendiagramms (Abb. 2.15) im Wasserüberschuß beschrieben werden. Die zwei Phasengrenzen c_T^{sat} und c_T^{sol} stellen die Tensidkonzentration c_T für die Sättigungs- bzw. Solubilisierungsphasengrenze der Vesikel-Mizell-Phasenumwandlung als Funktion der Lipidkonzentration c_L dar. Die Grenzen separieren die vesikuläre Phase, die

Koexistenzphase von MM und MV und die mischmizellare Phase^[124–134]. In allen drei Bereichen koexistieren die Aggregate mit Tensidmonomeren. Für die meisten Lipid-Tensid-Systeme stellen die Sättigungs (sat)- und Solubilisierungs(sol)-Phasengrenzen eine lineare Funktion von c_L dar:

$$c_T^{sat} = c_T^{aq,sat} + c_T^{b,sat} = R_T^{b,sat} \cdot c_L + c_T^{aq,sat} \quad (2.4)$$

und

$$c_T^{sol} = c_T^{aq,sol} + c_T^{m,sol} = R_T^{m,sol} \cdot c_L + c_T^{aq,sol} \quad (2.5)$$

Die Schnittpunkte der Phasengrenzen mit der Ordinatenachse $c_T^{aq,sat}$ und $c_T^{aq,sol}$ entsprechen der konstanten Tensidmonomerkonzentration bzw. der minimalen Tensidkonzentration, die eine Vesikelzerstörung induziert. Mit Gültigkeit des Phasen-Separations-Modells, ist der Phasenübergang zwischen MV und MM auf die Koexistenz der zwei Tensidaggregate der Zusammensetzung von $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ zurückzuführen. Unter strenger Einhaltung dieser Gesetzmässigkeit muss die wässrige Tensidkonzentration c_T^{aq} im gesamten Phasengebiet konstant sein. Die Schnittpunkte der Phasengrenzen $c_T^{aq,sat}$ und $c_T^{aq,sol}$ fallen so in einem Punkt zusammen, sodass $c_T^{aq,sat} = c_T^{aq,sol} = c_T^{aq,0}$ ^[121, 135]. Dabei ist die Tensidkonzentration im Wasser bei hypothetischer Lipidkonzentration von Null $c_T^{aq,0}$ kleiner als die cmc des Tensids, da $c_T^{aq,0}$ der Konzentration freien Tensids im Gleichgewicht mit lipidgesättigten Mizellen und die cmc der freien Tensidkonzentration im Gleichgewicht mit reinen Tensidmizellen darstellt, sodass eine geringere Tensidkonzentration als die entsprechende cmc des reinen Tensids für die Solubilisierung von PL benötigt wird^[8].

Die Anstiege der Sättigungs- bzw. Solubilisierungsphasengrenzen entsprechen:

$$R_T^{b,sat} \equiv \frac{c_T^{b,sat}}{c_L^b} \quad (2.6)$$

bzw.

$$R_T^{m,sol} \equiv \frac{c_T^{m,sol}}{c_L^m} \quad (2.7)$$

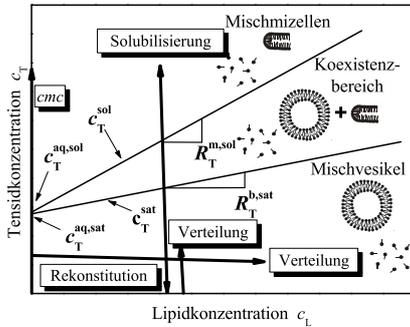


Abb. 2.15: Schematisches Phasendiagramm von Lipid/Tensid-Systemen im Wasserüberschuss mit Mizellierungs-, Solubilisierungs- und Vesikelrekonstitutions- sowie Verteilungsexperimenten^[136]

und entsprechen dem Verhältnis der Tensidkonzentration im entsprechenden Aggregat (b-Bilayer, m-Mizelle) zur Lipidkonzentration. $R_T^{b,sat}$ spiegelt die maximalen Zusammensetzung, bei der MV an der Phasengrenze vorhanden sind wider und ist ein Maß für die Vesikelstabilität. $R_T^{m,sol}$ entspricht der minimalen Zusammensetzung, bei der MM auftreten und gibt nach IN-OUE die Solubilisierungseffizienz des Tensides an^[137], d. h., dass mit Abnahme des Wertes die „Solubilisierungskraft“ des Tensides steigt. Im Kontrast zur Bildung

spärlicher Mizellen aus reinen Tenside sind die MM, die aus einer gesättigten Lipiddoppelschicht entstehen, zunächst fadenförmig^[130, 135, 138–140]. Erst mit Zunahme der Tensidkonzentration entstehen mehr MM kleinerer Größe^[121].

Der Phasenübergang von der Vesikelphase in die mischmizellare Phase ist nach LICHTENBERG ein Phasenübergang erster Ordnung^[115]. Bisher galt, dass Phosphatidylglycerole mit negativ geladenen und stark hydratisierten Kopfgruppen bei geringeren Tensidkonzentrationen als die korrespondierenden Phosphatidylcholine zu solubilisieren sind. Phosphatidylethanolamine oder Phosphatidsäuren mit starken elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Kopfgruppen sind entsprechend schwerer in Mizellen zu überführen^[8, 122]. Bei früheren Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Länge der PL-Alkylketten entscheidend die Solubilisierung durch ionische Tenside beeinflusst. Mit abnehmender Kettenlänge werden die Vesikel „einfacher“ solubilisiert. Die Kettenlänge und das Ladungsvorzeichen des Tensids haben nach den Untersuchungen von INOUE^[137] jedoch kaum Einfluss auf die $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ -Werte. Generell weisen ionische Tenside ein effizienteres Solubilisierungsvermögen als nichtionische Tenside auf^[141].

Der Solubilisierungsprozess von PL-Vesikel mit Tensiden wurde in den letzten Jahren mit verschiedenen Methoden intensiv untersucht^[133] wie z. B. mit der dynamischen und quasielastischen Lichtstreuung (DLS und QELS)^[115, 124, 142–148], der NMR^[149, 150], der Kleinwinkel-Neutronenstreuung (SANS)^[151–153], der Kleinwinkel-Röntgenstreuung (SAXS)^[153–156], der Gelausschlußchromatographie^[157–160], der cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie (cryo-TEM)^[161, 162], mit rheologischen Methoden^[137, 163], mit der Infrarotspektroskopie (FT-IR)^[164–166], der Fluoreszenzspektroskopie^[126, 145, 167–169] und mit anderen Spektroskopietechniken^[170]. Von großer Bedeutung für die Charakterisierung von Tensid-Lipidsystemen ist die Mikrokolorimetrie. Sowohl die Differentialscanningkalorimetrie (DSC) als auch die isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) wurden für Untersuchungen an nichtionischen Tensid-PL-Gemischen^[127, 145, 149, 168, 171–181], an anionisch Tensid-PL-Gemischen^[182–190] und an kationischen Tensid-PL-Gemischen^[143, 162, 186] verwendet.

Eine weitere Untersuchungsmöglichkeit der Solubilisierung stellt die Rekonstitution der Vesikel durch eine schrittweise erfolgende Tensidentfernung mit Verdünnung oder Dialyse dar^[123, 132, 149] (Abb. 2.15).

Das klassische Dreistufen-Modell der Solubilisierung ist nicht für domainbildende Membranen (detergent-resistant membranes (DRM)) geeignet. KELLER et al. entwickelten 2005 für DRMs ein quantitatives Modell zur Beschreibung der selektiven Solubilisierung von Membrandomänen^[192–194].

In Abb. 2.16 ist das ternäre Phasendiagramm von CTAB-DMPC-Wasser im Wasserüberschuss dargestellt, welches genauere Informationen über die Gleichgewichtszustände der Phasen im System liefert. Bei einer Zugabe von nur 1 % CTAB weist die lamellare L_α -

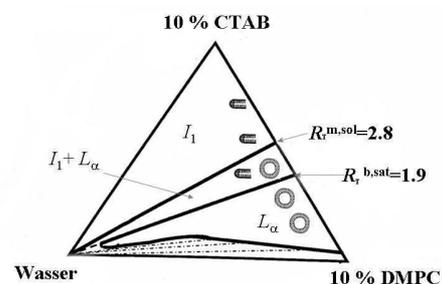


Abb. 2.16: Ternäre Phasendiagramme von CTAB/DMPC/Wasser bei $T=30\text{ °C}$ ^[191]

Bei einer Zugabe von nur 1 % CTAB weist die lamellare L_α -

Phase eine enorme Vergrößerung bis zu einem Wassergehalt von 80 % auf, wobei ein molares Verhältnis von Tensid zu Lipid von 0.8–1.2 bis zu einem Wassergehalt von 99 % in der L_α -Phase führt. Bei einem molaren Verhältnis von $R_T^{b,sat} \approx 1.9$ ist die Sättigung der Lipidvesikel erreicht und erste MM entstehen ohne morphologisch veränderte Zwischenstrukturen oder eine starke Vergrößerung der Vesikel. Ab $R_T^{m,sol} \approx 2.8$ existieren ausschließlich MM (mizellare Phase I). Die Phasengrenzen sind linear, d. h. die Vesikel-Mizell-Transformation erfolgt stets bei einem konstanten Tensid-Lipid-Verhältnis, wobei die Stabilität der Vesikel durch deren Zusammensetzung bestimmt wird^[162, 191, 195].

Von GUSTAFSSON^[155] wurde das Phasenverhalten des kationischen Cetyltrimethylammoniumchlorids (CTAC) mit dem zwitterionischen Ei-Phosphatidylcholins (EPC) in NaCl-Lösung untersucht, um eine nahezu konstante Gegenionenanzahl in den untersuchten Phasen zu gewährleisten (Abb. 2.17 links). Die L_α -Phase ist im Vergleich zum CTAB-DMPC-Wasser System auf der tensidarmen Seite verkleinert. Bei einem 94 % Lösungsmittelanteil und einem Tensid-Lipid-Verhältnis von 2.1 liegt das Maximum der Ausbreitung der L_α -Phase. Mit zunehmenden Tensidanteil wird die lamellare Phase allmählich mit kaum erkennbarer Koexistenzregion in die mischmizellare Phase bei $R_T^\# \approx 2.5$ überführt. Eine neue isotrope, doppelbrechende Phase I^* wurde von GUSTAFSSON ermittelt, aber nicht detailliert diskutiert. Auf der anderen Seite des Phasendiagramms stehen zwei lamellare Phasen im Gleichgewicht, die tensidreiche, gequollene L_α -Phase und die tensidarme, weniger gequollenen L_{α^*} -Phase. Bestätigt wurde die Koexistenz dieser Phasen durch SAXS- und NMR-Untersuchungen^[196]. DLS- und cryo-TEM-Studien ergaben eine starke Vergrößerung der Vesikel durch Tensidzugabe, bei denen neben perforierten Vesikel auch defekte Doppelschichtfragmente mit Lösungsmittel gefüllten Poren vorlagen^[162]. Das enorme Vesikelwachstum wird durch die tensidinduzierte Öffnung der Vesikeldoppelschichten und die dadurch ermöglichte Fusion in größere Strukturen erreicht. Dabei lagern sich die Tensidmoleküle bevorzugt an den Kanten der Öffnung an. Generell gilt für ionische Tensid-Lipid-NaCl-haltige Lösungsmittel-Systeme, dass der zunehmende Einbau des Tensides in die lamellare Phase zur Destabilisierung der Vesikel und folgend zur Bildung von fadenförmigen MM^[162], hexagonalen oder intermediären Aggregaten führt. Fehlerhafte Doppelschicht-Zwischenprodukte, wie z. B. perforierte Vesikel, wurden vor allem bei geladenen Tensiden mit langen Alkylketten beobachtet. Mit der Unterdrückung der elektrostatischen Abstossung im Salzüberschuss gewinnen die abstoßend wirksamen „Helfrich undulation forces“ (Schwingungs oder Wellenkräfte)^[197] an Bedeutung, die für flexible Bilayer typisch sind. Dabei sind perforierte Bilayer immer weniger starr als intakte Vesikel. Die z. T. zerstörten Vesikel wandeln sich eher kontinuierlich mit zunehmender Tensidkonzentration über locker, bänderartig verwebte Strukturen in fadenförmig verflochtenen MM und schließlich zu kleineren, stäbchenförmigen bis globulären MM um, ohne eine deutliche Abgrenzung der Koexistenzphasenregion aufzuweisen^[195].

Nach GUSTAFSSON ändert sich das Phasenverhalten in Abhängigkeit von der Kettenlänge des Tensides deutlich, wie es in Abb. 2.17 (rechts) für das System Dodecyltrimethylammoniumchlorid (DTAC)-EPC-NaCl 100 mM dargestellt ist^[196]. Die

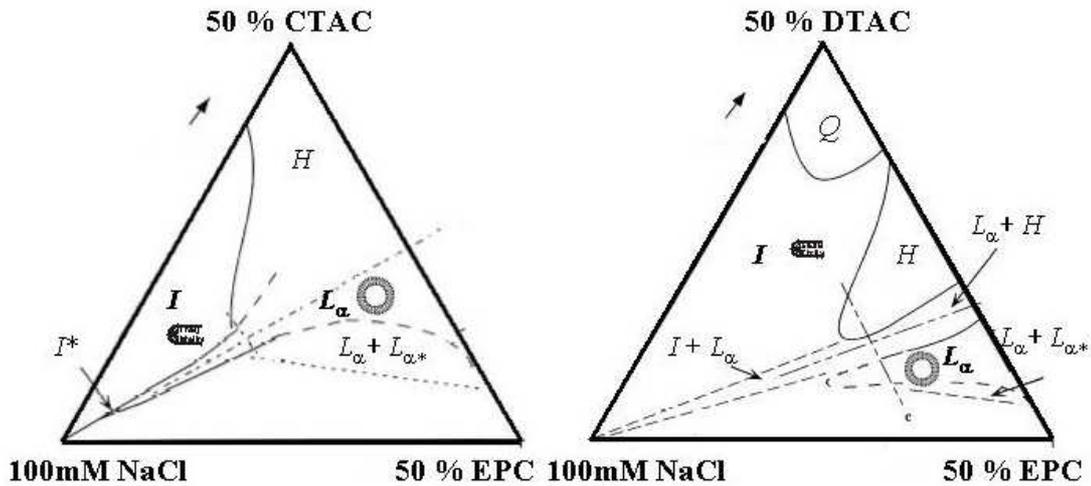


Abb. 2.17: Ternäres Phasendiagramm CTAC/EPC/NaCl 100 mM (links) und DTAC/EPC/NaCl (rechts) bei $T=25\text{ }^\circ\text{C}$ ^[155]

lamellare Phase ist bis zu einem Lösungsmittelanteil von 70 % zurückgedrängt. Zwei Koexistenzbereiche existieren zwischen der L_α -Phase und der mizellaren Phase sowie zwischen der L_α -Phase und der hexagonalen Phase. SAXS- und NMR-Untersuchungen ergaben, dass die L_α -Phase keine Defekte wie im System CTAC-EPC-NaCl 100 mM aufweist und im L_α -I-Koexistenzbereich fadenförmige Mizellen neben zerissenen Bilayerfragmenten ohne „Fehlstellen“ existieren. Die Ursache der stärkeren Quellung mit CTAC ist die größere Flexibilität der perforierten Vesikel im Vergleich zu den kompakten Doppelschichten ohne Poren, die mit DTAC entstehen. Demnach ist die Porenbildung sensitiv gegenüber der Alkylkettenlänge des Tensids, was die Bedeutung der Packung der hydrophoben Molekülteile in einer Doppelschicht verdeutlicht. Ist ein Tensid im Vergleich zum Lipid zu „kurz“, ist dessen Fähigkeit, sich bevorzugt an Kanten anzulagern, reduziert. Des Weiteren zeigt der Vergleich der beiden Tenside CTAC und DTAC einen Phasenübergang von L_α zu I bei kleinerem molarem Tensid/Lipid-Verhältnis für das kürzerkettige DTAC aufgrund der vereinfachten Bildung von gekrümmten Strukturen.

2.3 Membranelektrostatik

Der Ionisierungsgrad von PL mit ionisierbaren Kopfgruppen (Phosphat-, Amin-, Phosphatidylglycerol- und Carboxylgruppe) ist durch die jeweilige Dissoziationskonstante charakterisiert. Dabei gilt es zwischen dem Verhalten der ionisierbaren Gruppe in der Bulkphase und an der Oberfläche einer Lipidmembran zu unterscheiden. Der Aufbau einer elektrostatischen Oberflächenladung bzw. eines elektrostatischen Oberflächenpotentials ψ an einem Vesikel kann direkt durch Dissoziation oder durch die bevorzugte Adsorption eines Ions an einer ursprünglich ungeladenen Vesikeloberfläche aus der Bulkphase entstehen. In den hier vorgestellten Systemen besteht die Möglichkeit der elektrostatisch getriebenen Assoziation der kationischen Tenside und der im Überschuss vorhandenen Natrium-Ionen aus der Bulkphase mit den DMPG-Vesikeln. Dieser Prozess ist nach TATULIAN et al.^[198]

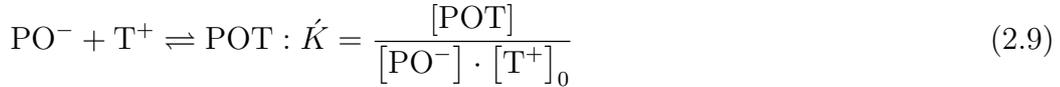
hochdynamisch mit einer Halbwertszeit von $\approx 1\mu\text{s}$. Die Anordnung der Moleküle innerhalb der geladenen Grenzflächenebene wird durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den ionisierten Gruppen und der Hydratationshülle um die polaren Kopfgruppen beeinflusst^[51, 199–202].

Die elektrostatische Ladung eines einzelnen Moleküls an der Grenzfläche generiert um sich ein elektrisches Feld, welches die benachbarten ionisierbaren Gruppen derselben oder gegensätzlichen Ladung in Abhängigkeit von der Ladungszahl, vom pH-Wert, vom Ladungsvorzeichen des Lipidmoleküls sowie der Ionenstärke der Umgebung beeinflusst^[203]. Zwischen der Dielektrizitätskonstante der wässrigen Bulkphase ($\epsilon \approx 80$) und der Lipidphase ($\epsilon \approx 2$)^[204] existiert die Grenzfläche, die aus den polaren Kopfgruppen besteht, die nach TOCANNE^[205] eine Dielektrizitätskonstante von $\epsilon \approx 20 - 30$ aufweist. Durch die Adsorption von An- oder Kationen an die ionisierten Lipidkopfgruppen verändert sich die Oberflächenladungsdichte σ und somit auch das elektrostatische Potential einer Lipidschicht ψ ^[206–208].

Die Anwendung des Massenwirkungsgesetzes auf die Dissoziation von anionischen PL-Kopfgruppen führt zur Dissoziationskonstante K^* :



$[\text{Na}^+]_0$ entspricht dabei der Konzentration an der Grenzfläche der Lipidschicht unter der Annahme, dass der Abstand x von der Lipidschicht null ist. Die Adsorptionskonstante \acute{K} der kationischen Tenside T kann durch folgendes Gleichgewicht ausgedrückt werden:



Nach EISENBERG^[209] kann die Ladungsdichte monovalenter Kationen an der Membrangrenzfläche (σ) mit der Adsorptionsisotherme nach LANGMUIR beschrieben werden:

$$\sigma = \frac{\sigma^{max}}{1 + \acute{K} \cdot c_0} \quad (2.10)$$

wobei σ^{max} der maximalen Oberflächenladungsdichte an der Grenzfläche (eine Ladung pro Lipidmolekül $\approx 70\text{\AA}^2$) und c_0 der Konzentration monovalenter Kationen an der Membranoberfläche entspricht. c_0 kann dann durch die BOLTZMANN-Gleichung wiedergegeben werden:

$$c_0 = c_I \cdot \exp \left[\frac{-z_I e \psi_0}{k_B T} \right] \quad (2.11)$$

wobei c_I der absoluten Ionenkonzentration in der Volumenphase, z_I der Ionenwertigkeit, e der Elementarladung, k_B der BOLTZMANN-Konstante und T der absoluten Temperatur entspricht.

Aufgrund der thermischen Bewegung der Ionen im Lösungsmittel stellt sich eine statistische Verteilung der Ionen an der Lipidphasengrenzfläche ein. Im GOUY-CHAPMAN-STERN-Modell wird die Ionenadsorptionsschicht als eine diffuse Schicht beschrieben^[81, 198, 202, 210–212]. Die Oberflächenladungsdichte ist in Abhängigkeit vom Oberflächenpotential an der Membran gegeben durch:

$$\sigma = \operatorname{sgn}(\psi) \left[2\epsilon\epsilon_0 k_B T \sum_i c_I \left(\exp \left[\frac{-z_I e \psi}{k_B T} \right] - 1 \right) \right]^{1/2} \quad (2.12)$$

ϵ und ϵ_0 entsprechen hier der lokalen Dielektrizitätskonstante bzw. der Dielektrizitätskonstante des freien Raumes. c_I und z_I sind durch die Konzentration und Wertigkeit der Ionen in der Bulkphase gegeben. Aus dieser Gleichung können verschiedene Trends abgeleitet werden. Zum einen verändert sich das Oberflächenpotential in Abhängigkeit von der Ladungsdichte, d. h. der Oberflächenkonzentration an ionisierten PL (Gl. 2.8), zum anderen verändert sich ψ mit dem Reziprok der Quadratwurzel aus der Salzkonzentration c_I in der Bulkphase.

Die GOUY-CHAPMAN-Theorie geht von der These aus, dass die Membranoberfläche ideal planar ist und die Oberflächenladung im Kontakt mit elektrolythaltigem Lösungsmittel, in der die Ladungsträger als Punktladungen agieren, stehen. Die Dielektrizitätskonstante der wässrigen Bulkphase bleibt bis zur Membrangrenzfläche gleich. Durch die Akkumulation von Gegenionen an eine geladenen Membranoberfläche wird die Elektroneutralität an der Membranoberfläche erreicht. Die dadurch veränderte Oberflächenladungsdichte kann durch die Kombination der Gl. 2.10 und 2.12 berechnet werden:

$$\sigma = \frac{N z e c_{(x=\infty)} K \exp \left[\frac{-z e \psi(x_{ads})}{k_B T} \right]}{1 + c_{(x=\infty)} K \exp \left[\frac{-z e \psi(x_{ads})}{k_B T} \right]} \quad (2.13)$$

wobei die Bindungskonstante $K = e^{(-\phi/k_B T)}/55.5$ von der intrinsischen Bindungsenergie ϕ und der Bindungsstellenanzahl (N^*) pro Flächeneinheit abhängt. STERN entwickelte das GOUY-CHAPMAN-Modell weiter, indem er eine „fest“ adsorbierte Region von Gegenionen an einer geladenen Membranoberfläche von einer entfernteren diffusen Ionenschicht unterscheidet, sodass die gesamte Oberflächenladung aus dem Gleichgewicht zwischen der Oberflächenladung der STERN- und GOUY-Schicht entsteht.

Als Lösungsmittel wurde für die Experimente an der W/L-Grenzfläche und in der Volumenphase vorrangig 0.1 M NaCl verwendet. Die Na^+ -Ionen liegen im Lösungsmittel hydratisiert vor, d. h. sie wirken auf das Wasser schwach cosmotrop. Die Cl^- -Ionen hingegen wirken schwach chaotrop, sodass NaCl insgesamt die Wasserstruktur kaum beeinflusst^[213, 214]. Allgemein gilt, dass monovalente Kationen eine geringere Affinität als divalente Ionen an negativ geladenen Membranoberflächen^[207, 215] aufweisen. Ionen-PL-Wechselwirkungen werden nicht nur aufgrund

elektrostatischer Wechselwirkungen sondern auch durch lokale Kräftefelder der Kopfgruppe vermittelt, sodass auch eine Kationenaffinität zu zwitterionischen PL nachweisbar ist^[216]. Durch die Ionenadsorption kommt es zur partiellen Dehydratisierung des Bindungsions, wobei nach HALLADAY^[217] der Dehydratisierungseffekt während der Adsorption an PCs schwächer als an PGs ist.

Die elektrostatischen Effekte, die aus der Adsorption und den Einbau der kationischen Tenside an und in DMPC- und DMPG-Vesikel resultieren, werden intensiver im folgendem Kapitel diskutiert.

2.4 Messmethoden

Im folgenden Abschnitt werden die wichtigsten Kenngrößen der verwendeten konventionellen Messmethoden vorgestellt. Der Aufbau der Geräte, die Typisierung und die experimentellen Bedingungen sind im Anhang A zusammengefasst.

2.4.1 Isotherme Titrationskalorimetrie

Die isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) ist aufgrund der Sensitivität der Methode zur Charakterisierung von spezifischen Kenngrößen (*cmc*, Gleichgewichtskonstanten, Verteilungskoeffizienten, Stöchiometrie der Bindung, kritische Größen) und verschiedenen thermodynamischen Parametern (Umwandlungsenthalpie-, entropie, Freie Energie, Wärmekapazität) der Tensid-Membran-Wechselwirkungen besonders geeignet^[132]. Für diese Arbeit wurden drei Typen von Experimenten durchgeführt: Demizellierungsuntersuchungen, Verteilungsstudien der monomeren Tenside in die Membran und Membransolubilisierungsexperimente mit mizellaren Tensidkonzentrationen.

Das über die Zeit integrierte „Cell-Feedback“-Signal (CFB) des Kalorimeters, welches durch eine Injektion verursacht wird, entspricht der Mischungsenthalpie zwischen Zellinhalt vor der Injektion und dem Inhalt des injizierten Volumens bei einem Druck p und der Temperatur T ^[218]:

$$\int_0^{\infty} CFB(t)dt \equiv \Delta Q = H(N_c + N_s, p, T) - H(N_c, p, T) - H(N_s, p, T) \quad (2.14)$$

wobei die durch die Reaktion freigesetzte oder absorbierte Wärme ΔQ (p, T, N_c) die primäre Messgröße ist, die sich aus der Enthalpie H der Mischung von Zellinhalt und Injektion, der Enthalpie des Zellinhaltes vor der Injektion und der Enthalpie des Injektionsvolumens berechnet. N_s und N_c entsprechen der Zahl der injizierten Moleküle und der Molekülzahl in der Zelle vor der Injektion.

Die Reaktionsenthalpie ΔH wird im Gegensatz zu den meisten anderen Methoden bei der ITC direkt gemessen^[219]. Indirekt lässt sich die Reaktionsenthalpie über

die VAN 'T HOFF-Beziehung aus der Temperaturabhängigkeit der Gleichgewichtskonstante K bestimmen^[220, 221] :

$$\left(\frac{\partial \ln K}{\partial T}\right)_p = \frac{\Delta H^\circ}{RT^2} \quad (2.15)$$

Die Änderung der Wärmekapazität ΔC_p wird aus der partiellen Ableitung der Enthalpieänderung nach der Temperatur ermittelt:

$$\Delta C_p = \left(\frac{\partial \Delta H}{\partial T}\right)_p \quad (2.16)$$

Die ΔC_p Werte sind nach PAULA^[222] und GILL^[223] linear von der Änderung der zum Wasser orientierten bzw. solvatisierten hydrophoben Oberflächen abhängig. Die Steigung der ΔH -Werte von Alkylverbindungen, die bei einem Transfer in Wasser hydratisiert werden, entspricht $\approx 70n(\text{CH}_2) \text{ J/mol}\cdot\text{K}$, wobei $n\text{CH}_2$ der Anzahl der Methylengruppen entspricht. Die ΔC_p -Werte sind negativ bei einem Transfer eines Amphiphils von wässriger Umgebung in eine Kohlenwasserstoff-haltige Umgebung (Mizellisierung, Einbau eines Tensidmonomers von der Bulkphase in eine Lipiddoppelschicht) und positiv im umgekehrten Fall.

Die direkt mit der ITC ermittelbare Gleichgewichtskonstante K dient zur Bestimmung der Freien Energie ΔG . Nach GIBBS ist das chemische Potential μ der Komponente i definiert als partielle Ableitung von G nach n_i :

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{p,T} \quad (2.17)$$

Das chemische Potential μ_i ist bei idealen Mischungen vom Molenbruch x_i abhängig:

$$\mu_i = \mu_i^\circ + RT \ln x_i \quad (2.18)$$

Unter Gleichgewichtsbedingungen sind die chemischen Potentiale der verschiedenen Phasen gleich, sodass sich für ΔG° folgender Zusammenhang ergibt:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (2.19)$$

Nach der GIBBS-HELMHOLTZ-Gleichung kann die Änderung der Entropie ΔS ermittelt werden:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ. \quad (2.20)$$

Basierend auf diesen thermodynamischen Grundlagen^[224, 225] gestattet die ITC die Erstellung eines umfangreichen thermodynamischen Profils der Tensid-Wasser- sowie Tensid-PL-Wechselwirkungen^[226-232].

2.4.2 Differentialscanningkalorimetrie

Die Differenzkalorimetrie (DSC) ist eine genaue und direkte Methode zur Bestimmung der Phasenumwandlungstemperatur (T_m) und -enthalpie ($\Delta_u H$), die wertvolle Informationen zur Struktur der untersuchten PL-Tensid-Komplexe liefert.

Die im Abschnitt 2.2.2 beschriebenen Phasenübergänge der lamellaren PL-Strukturen im Wasserüberschuss können nach WINTER^[233] als endotherme, reversible Phasenumwandlungen erster Ordnung betrachtet werden. Dies bedeutet, dass sich bei einer bestimmten Temperatur die Zustandsvariablen Enthalpie, Entropie und Volumen des Systems sprunghaft ändern. Die experimentell bestimmten, kontinuierlichen Änderungen der Zustandsvariablen im Bereich der Phasenumwandlung mit der größten Steigung bei T_m liegen darin begründet, dass die untersuchten PL-Dispersionen Zweiphasensysteme aus PL und Wasser darstellen.

Die Messgröße des Verfahrens ist die Heizleistung ΔP , die aufgrund chemischer oder physikalischer Reaktionen in der Probenzelle verändert wird, um eine Temperaturkonstanz zwischen Referenz- und Probenzelle zu gewährleisten. Die Messgröße ist dabei direkt proportional zur Wärmekapazität C_p . Aus $C_p = \left(\frac{dQ}{dT}\right)_p$ und $dQ = P dt$ folgt:

$$\Delta C_p = C_{Probe} - C_{Referenz} = \Delta P \frac{dt}{dT} = \frac{1}{\beta_*} \Delta P \quad (2.21)$$

Dabei gilt, dass $dQ = dH = dU$, da $p, V = \text{konstant}$ ist und die Heizrate $\beta_* = \frac{\Delta T}{dt}$. Die Umwandlungsenthalpie $\Delta_u H$ kann durch die Integration der aufgezeichneten Wärmekapazität als Funktion der Temperatur ermittelt werden:

$$\Delta_u H = \int_{T_1}^{T_2} \Delta C_p dT \quad (2.22)$$

Die so ermittelte Umwandlungsenthalpie wurde auf die eingesetzte Stoffmenge normiert, sodass molare Größen zur Auswertung verwendet wurden. Zur Auswertung der Phasenumwandlungstemperatur wurde das Peakmaximum, d. h. die Temperatur, bei der C_p maximal ist, verwendet^[234].

2.4.3 Dynamische Lichtstreuung

Zur Strukturanalyse der PL-Tensid-Aggregate wurde die dynamische bzw. „quasielastische“ Lichtstreuung (DLS) genutzt. Die zeitliche Veränderung der Streulichtintensität ($I_S(t)$) des Ionenlasers zum Zeitpunkt t und $t + \tau$, verursacht durch die Diffusion der Biomoleküle in der Probe infolge der BROWNSchen Molekularbewegung, stellt hierbei die Messgröße dar. Die daraus resultierende Intensitätskorrelationsfunktion $C(t)$ wird durch Multiplikation der ermittelten Photonenintensität des Streulichtes zu einer bestimmten Zeit mit der zu einer späteren

Zeit ermittelt, mehrfach wiederholt, aufsummiert und durch die Anzahl der Operationen n dividiert:

$$C(t) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n I_S(t_i) \cdot I_S(t_i + \tau) \quad (2.23)$$

In verdünnten Lösungen und bei kleinen Streuvektoren q besteht die Funktion $C(t)$ aus einem Exponentialterm:

$$C(t) = A_1 + A_2 e^{-2Dq^2 t} \quad (2.24)$$

wobei D dem Translationsdiffusionskoeffizient des Makromoleküls und A_1 und A_2 Konstanten entsprechen^[233]. Der Streuvektor q ist dabei von der Wellenlänge λ und dem Streuwinkel Θ folgendermaßen abhängig:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \cdot \sin \frac{\Theta}{2} \quad (2.25)$$

wobei dieser durch eine definierte Wellenlänge und den Streuwinkel während der DLS-Untersuchungen konstant ist. Durch Anpassen der Gl. 2.24 an die Messwerte wird der Diffusionskoeffizient D ermittelt und daraus unter Anwendung der STOKES-EINSTEIN-Beziehung (Annahme sphärischer Partikel) aus der Viskosität des Mediums η und der BOLTZMANN-Konstante k_B der hydrodynamische Radius R_h der Makromoleküle bestimmt:

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D_0} \quad (2.26)$$

wobei D_0 den Diffusionskoeffizienten unter Vernachlässigung von interpartikulären Wechselwirkungen wiedergibt^[235].

2.4.4 IR-Spektroskopie an der Wasser/Luft-Grenzfläche

Die Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS) wurde zur Untersuchung von monomolekularen Oberflächenfilmen an der Wasser/Luft-Grenzfläche verwendet. Zur Bestimmung der *cmc* dienten Monolayer, die aus den reinen kationischen Tensiden bestanden und zur Berechnung der Tensid-Verteilungskoeffizienten in die PL-Monoschicht dienten gemischte PL-Tensid-Monolayer. Neben diesen Kenngrößen wurden aus den Absorptionsbanden der Alkylketten der PL als auch Tenside weitere Informationen über die Packung der hydrophoben Ketten gewonnen.

Durch die Bestrahlung der Probe mit Licht des infraroten Bereichs des elektromagnetischen Spektrums ($\nu=4000-400 \text{ cm}^{-1}$) werden einzelne Molekülgruppen durch Absorption der Strahlung angeregt. Dabei wird aus dem Spektrum des einfallenden IR-Strahls diejenige Wellenlänge absorbiert, die die Energie besitzt, einen Schwingungsübergang im Molekül anzuregen. Dies ist dann möglich, wenn die Frequenz der infraroten Strahlung ν der Eigenfrequenz des molekularen Oszillators

ν_0 ist, welche nach folgender Gleichung von der reduzierten Masse μ^* der gegeneinander schwingenden Atome und der Kraftkonstante der Schwingung k , die die Bindungsstärke wiedergibt, abhängt^[233, 236]:

$$\nu_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu^*}} \quad (2.27)$$

Das Ergebnis ist ein für die chemische Struktur des Moleküls sehr spezifisches Absorptionsspektrum. Dabei ist die Normal- oder Eigenschwingungsanzahl ($3N - 6(+1)$) eines mehratomigen Moleküls von dessen geometrischem Aufbau und der Zahl der Molekülatome N abhängig. Die Schwingungsmoden werden unterteilt in Valenz- oder Streckschwingungen, die in Richtung der Bindungsachse erfolgen und in Deformationsschwingungen, bei denen sich der Bindungswinkel ändert. Die in der Regel energiereicheren Valenzschwingungen können wiederum in symmetrische (ν_s) (unter Erhalt der Molekülsymmetrie) und antisymmetrische (ν_{as}) (Verlust der Molekülsymmetrie) Valenzschwingungen unterteilt werden. Ein Spektrum kann dann mit Hilfe der charakteristischen Gruppenfrequenz interpretiert werden. Eine Zuordnung der zur Auswertung verwendeten IR-aktiven Schwingungsbanden von Lipiden und Tensiden ist in Tabelle 2.2 zusammengefasst. Um eine Unterscheidung zwischen den Alkylketten der homologen kationischen Tenside und der PL treffen zu können, wurden ausschließlich perdeuterierte PL für die Untersuchung an der W/L-Grenzfläche verwendet.

Schwingung	Symbol	Wellenzahl / cm^{-1}
antisymmetrische CH_2 -Streckschwingung	$\nu_{as}(\text{CH}_2)$	2916–2936
symmetrische CH_2 -Streckschwingung	$\nu_s(\text{CH}_2)$	2843–2863
antisymmetrische CD_2 -Streckschwingung	$\nu_{as}(\text{CD}_2)$	2190–2200
symmetrische CD_2 -Streckschwingung	$\nu_s(\text{CD}_2)$	2085–2095
antisymmetrische und symmetrische Streckschwingung des Wassers	$\nu(\text{OH})$	3600–3450

Tab. 2.2: Charakteristische IR-Banden nach TAMM^[237], MENDELSON^[238], LEWIS^[239] UND VENYAMINOV^[240], die für die Auswertung verwendet wurden

Die Auswertung der IRRA-OH-Streckschwingungsbanden ergibt nach MEISTER^[241] Informationen über die Schichtdicke der Monoschicht an der W/L-Grenzfläche. Eine Analyse der schwachen C-N Streckschwingungsbande der Alkyltrimethylammoniumkopfgruppe zwischen $1450 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ ^[242, 243] wurde nicht durchgeführt aufgrund des sehr geringen Signal-Rausch-Verhältnisses entsprechend der geringen absoluten Anzahl der Kopfgruppen an der W/L-Grenzfläche.

Ergebnisse und Diskussion

3

3.1 Untersuchungen in der Volumenphase

3.1.1 Demizellierung der Alkyltrimethylammoniumbromide

Die thermodynamische Mizellbildungscharakterisierung der kationischen Alkyltrimethylammoniumbromide DTAB, TTAB und CTAB erfolgte durch ITC-Demizellierungsexperimente in einem Temperaturbereich von 20–60 °C in 0.1 M NaCl bzw. in deionisiertem Wasser. Verschiedene Autoren untersuchten die Mizellisierung dieser Tenside mit einer Vielzahl von Methoden, wie z. B. der Elektronenspinresonanzspektroskopie^[244], der DLS^[245] sowie weiterer Techniken, wie Leitfähigkeit, Tensiometrie oder Fluoreszenzspektrometrie, die in Tab. 2.1 zusammengefasst sind. BASHFORD et al.^[68], STODGHILL et al.^[246] und BACH et al.^[247] untersuchten die Mizellisierung dieser Tenside kalorimetrisch in reinem Wasser in einem Temperaturbereich von 10–55 °C, 28–30 °C bzw. bei 25 °C. Die Ergebnisse sind im Anhang B Tab. B.1 zum Vergleich angegeben. LIN et al.^[248] beschreiben mit Hilfe von Monte Carlo Simulationen u. a. den Einfluss von zugesetztem NaBr auf die Mizellisierung von CTAB. Bisher existiert jedoch in der Literatur keine systematische thermodynamische Untersuchung der Mizellisierung von DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl-Lösung, was für diese Arbeit als Grundlage der Interpretation der Solubilisierungsexperimente dient.

Die ITC-Methode ermöglicht direkt die Bestimmung der *cmc* und der Enthalpie des Transfers der Tensidmonomere aus der Mizelle in Wasser ($\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$) und wurde auf der Grundlage der Untersuchungen nach KRESHEK^[249] durchgeführt. Typische, experimentell ermittelte Titrationskurven der Verdünnung einer mizellaren DTAB-Lösung in 0.1 M NaCl bei $T=25$ °C und $T=60$ °C sind in Abb. 3.1 dargestellt. Diese Titrationsexperimente bestehen aus 100 aliquoten Injektionen zu je 2.5 µl. In den Heizleistungs-Zeit-Diagrammen (Abb. 3.1 A und A') verläuft die

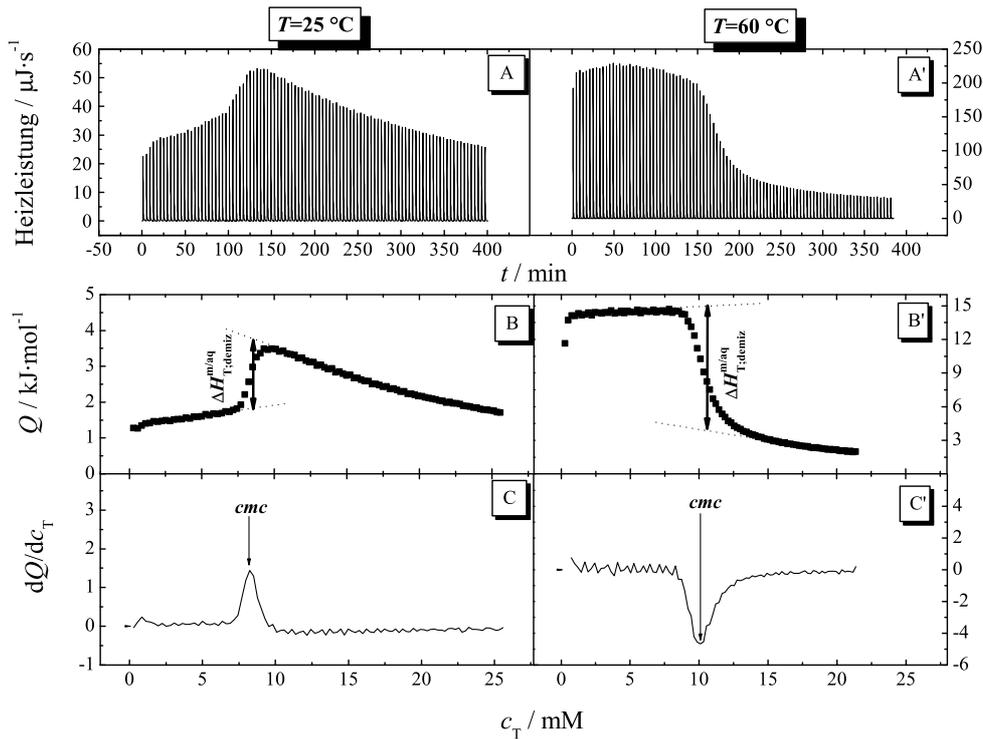


Abb. 3.1: Bestimmung der *cmc* von DTAB in 0.1 M NaCl bei 25 °C (links) bzw. 60 °C (rechts) durch ITC: Titration einer 150 mM (links) bzw. einer 130 mM (rechts) mizellaren DTAB-Lösung in 100 x 2.5 μ l Schritte, (A) Heizleistung vs. Zeit, (B) molare Reaktionswärme Q vs. Tensidkonzentration c_T in der Messzelle, (C) numerisch berechnete 1. Ableitung von den interpolierten Werten aus (B) mit den Minima entsprechend der *cmc* (25 °C: $cmc=8.2\pm 0.3$ mM; 60 °C: $cmc=10.1\pm 0.3$ mM)

Demizellierung sowohl bei 25 °C als auch bei 60 °C endotherm. Die Experimente wurden nicht bei tieferen Temperaturen als 20 °C durchgeführt, weil ansonsten die KRAFFT-Temperatur der Tenside (CTAB in Wasser 20–26 °C^[76], kleiner mit abnehmender Tensidkettenlänge und zunehmender Salzkonzentration^[75, 250], siehe Tab. 2.1) unterschritten wird.

Die normierte Reaktionswärme Q (Abb. 3.1B und B'), die nach Abzug der Basislinie durch Integration der Heizleistungs-Kurve über die Zeit ermittelt wird, kann in folgende drei Konzentrationsbereiche unterteilt werden^[251]: Während der ersten Injektionen ist die Konzentration der Tensidmoleküle in der Messzelle geringer als die entsprechende *cmc*, was mit großen, annähernd konstanten Enthalpiewerten einhergeht, die sich vor allem aus dem Zerfall der Mizellen in Monomere aber auch der Verdünnung der Mizellen und Monomere sowie der Freisetzung der Gegenionen zusammensetzen. Die zweite Region ist durch eine deutliche Zunahme (Abb. 3.1 B) bzw. Abnahme (Abb. 3.1 B') der Reaktionswärme gekennzeichnet, wodurch das Erreichen der *cmc* in der Messzelle angezeigt wird. Im dritten Konzentrationsbereich führt die weitere Injektion der konzentrierten, mizellaren Tensidlösung

zur existierenden mizellaren Lösung ausschließlich zu Wärmeeffekten, die aus der Mizellverdünnung resultieren. Die *cmc* ist als Mittelpunkt des Übergangsbereiches der Reaktionswärme Q definiert. Zur genauen Bestimmung des *cmc*-Wertes wurde die 1. Ableitung der Reaktionswärme Q nach der absoluten Tensidkonzentration c_T gebildet. Dabei korrespondiert die *cmc* mit dem Maximum (Abb. 3.1 C) bzw. Minimum (Abb. 3.1 C') der ermittelten Kurven, die für alle untersuchten Tenside in NaCl eine asymmetrische Form aufweisen und bisher nicht mit anderen Tensiden in dieser charakteristischen Art beobachtet wurden. Im prä-mizellaren Konzentrationsbereich des Tensides dissoziieren im Verlauf der Titration die Tensidmoleküle vollständig, während im mizellaren Konzentrationsbereich die Gegenionen im Lösungsmittel aufgrund der großen Oberflächenladungsdichte mit den Mizellen interagieren. Der resultierende Gegenionenbindungsgrad liegt nach MOROI^[1] für ionische Tenside im Bereich von 0.5–0.8 und steigt für Lösungen mit zusätzlichem Salzgehalt. Die zusätzliche Enthalpie aufgrund der Gegenionenadsorption von Chloridionen und Bromidionen ist eine mögliche Ursache der asymmetrischen Form der Demizellierungskurve.

Die Demizellierungsenthalpie $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$ wurde aus dem Reaktionswärmeunterschied zwischen Anfangs- und Endzustand des Experiments (Abb. 3.1 B und B') unter Berücksichtigung der Monomerkonzentration als auch der Tensidkonzentration in mizellarer Form in der Spritze, die wiederum durch $c_{T;Mizelle} = c_{T;Spritze} - c_{T;Monomer}$ mit $c_{T;Monomer} \approx cmc$ gegeben ist, am Wendepunkt berechnet^[252]. Die abgelesene Reaktionsenthalpie ΔH_{beob} beinhaltet zusätzlich folgende Verdünnungsbeiträge^[222]:

$$\Delta H_{T;demiz}^{m/aq} = \Delta H_{beob} - \Delta H_{monverd} - \Delta H_{mizverd} \quad (3.1)$$

wobei $\Delta H_{monverd}$ durch separate Experimente aus der Verdünnung der Monomere aus der Spritze und $\Delta H_{mizverd}$ aus der Verdünnung der Mizellen resultieren. $\Delta H_{mizverd}$ entspricht den Enthalpiewerten der letzten Injektionen eines Demizellierungsexperiments.

In den Abb. 3.2 – 3.5 sind die Enthalpogramme der Verdünnung von mizellaren DTAB-, TTAB- und CTAB-Lösungen bei verschiedenen Temperaturen dargestellt. Die ermittelten *cmc*-Werte sind in Abhängigkeit von der Temperatur in Tab. 3.1 zusammengefasst.

Die *cmc* aller untersuchten kationischen Tenside verändert sich mit der Temperatur und durchschreitet, wie auch mit anderen ionischen Tensiden (z. B. bei SDS^[253]) ermittelt, ein Minimum im Bereich von 20–34 °C. Mit zunehmender Alkylkettenlänge nimmt die *cmc* von 8.23 mM für DTAB, 0.77 mM für TTAB zu 0.15 mM für CTAB in Salzlösung am Beispiel von 25 °C erwartungsgemäß ab. Um den Einfluss von zusätzlichem Salz auf die Mizellierungseigenschaften der quarternären Alkylammoniumsalze zu untersuchen, wurden CTAB-Demizellierungsversuche auch in deionisiertem Wasser durchgeführt. Ohne NaCl erhöht sich die *cmc* von CTAB ca. um den Faktor neun. BASHFORD et al.^[68], NINHAM et al.^[62], PAREDES et al.^[254], HANSSON et al.^[255] und LAH et al.^[256] bestimmten die *cmc*

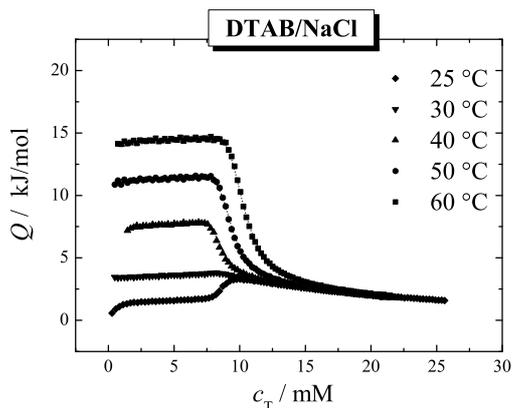


Abb. 3.2: Molare Reaktionswärme Q vs. Tensidkonzentration c_T der Demizellisierung von DTAB ($c=100\text{--}150\text{ mM}$) in 0.1 M NaCl bei verschiedenen Temperaturen; gepunktete Kurve entspricht der Simulation unter Verwendung des „mass-action“-Modells

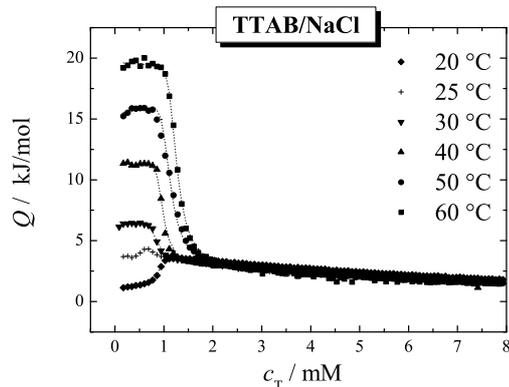


Abb. 3.3: Molare Reaktionswärme Q vs. Tensidkonzentration c_T der Demizellisierung von TTAB ($c=50\text{ mM}$) in 0.1 M NaCl bei verschiedenen Temperaturen; gepunktete Kurve entspricht der Simulation unter Verwendung des „mass-action“-Modells

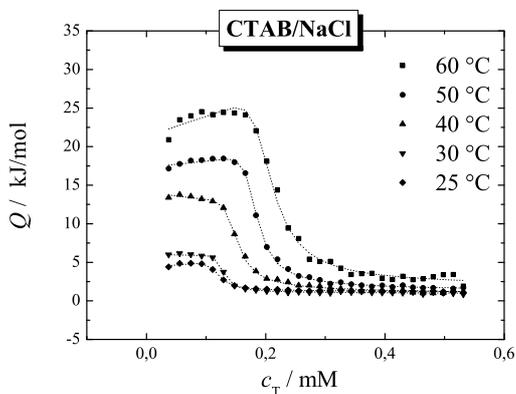


Abb. 3.4: Molare Reaktionswärme Q vs. Tensidkonzentration c_T der Demizellisierung von CTAB ($c=5\text{--}10\text{ mM}$) in 0.1 M NaCl bei verschiedenen Temperaturen; gepunktete Kurve entspricht der Simulation unter Verwendung des „mass-action“-Modells

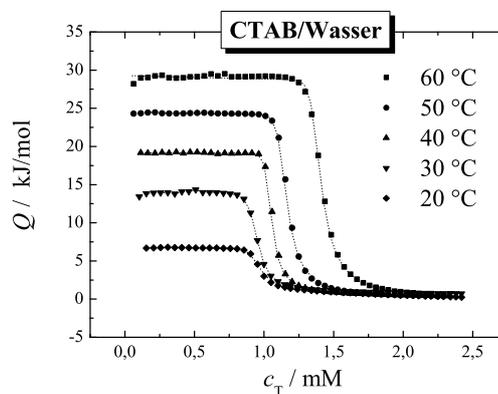


Abb. 3.5: Molare Reaktionswärme Q vs. Tensidkonzentration c_T der Demizellisierung von CTAB ($c=15\text{--}20\text{ mM}$) in Wasser bei verschiedenen Temperaturen; gepunktete Kurve entspricht der Simulation unter Verwendung des „mass-action“-Modells

T °C	DTAB		TTAB		CTAB		CTAB*	
	<i>cmc</i> mM	$P_{DTAB}^{m/aq}$	<i>cmc</i> mM	$P_{TTAB}^{m/aq}$	<i>cmc</i> mM	$P_{CTAB}^{m/aq}$	<i>cmc</i> mM	$P_{CTAB*}^{m/aq}$
20	8.5	$6.5 \cdot 10^3$	0.94	$5.9 \cdot 10^4$			0.91	$6.1 \cdot 10^4$
25	8.2	$6.8 \cdot 10^3$	0.77	$7.2 \cdot 10^4$	0.15	$3.7 \cdot 10^5$	0.9	$6.2 \cdot 10^4$
30	7.7	$7.2 \cdot 10^3$	0.98	$5.7 \cdot 10^4$	0.13	$4.3 \cdot 10^5$	0.91	$6.1 \cdot 10^4$
40	8.3	$6.7 \cdot 10^3$	1.02	$5.4 \cdot 10^4$	0.15	$3.7 \cdot 10^5$	1.09	$5.1 \cdot 10^4$
50	9.2	$6.0 \cdot 10^3$	1.19	$4.7 \cdot 10^4$	0.17	$3.3 \cdot 10^5$	1.20	$4.6 \cdot 10^4$
60	10.3	$5.4 \cdot 10^3$	1.28	$4.3 \cdot 10^4$	0.2	$2.8 \cdot 10^5$	1.44	$3.9 \cdot 10^4$
	$\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ J/mol·K		$\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ J/mol·K		$\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ J/mol·K		$\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ J/mol·K	
50	288.12		448.69		515.65		544.0	

Tab. 3.1: Kritische Mizellbildungskonzentration cmc/mM von DTAB (± 0.3 mM), TTAB (± 0.16 mM) und CTAB (± 0.01 mM) in Abhängigkeit von der Temperatur in 0.1 M NaCl bzw. Wasser*, Molenbruch-Verteilungskoeffizient des Tensides zwischen wässriger und mizellarer Phase $P_T^{m/aq}$ berechnet nach Gl. 3.2 sowie Änderung der Wärmekapazität $\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ ($\pm 10\%$) beim Transfer der Tensidmonomere aus der Mizelle in Wasser bei $T=50$ °C

der Alkyltrimethylammoniumbromide in Wasser bei 25 °C für DTAB=8–15 mM, TTAB=3–3.6 mM und für CTAB=0.89–1.3 mM (Tab. 2.1 und Tab. B.1). Sowohl die cmc -Werte als auch die berechneten Energiewerte, auf die am Ende des Abschnittes noch einmal eingegangen wird, stimmen weitgehend für CTAB/Wasser mit den publizierten Werten überein.

Die Verringerung der cmc -Werte bei Anwesenheit von zusätzlichem Salz wurde hinreichend diskutiert^[222, 257, 258]. Mit zunehmender Salzkonzentration wird die elektrostatische Abstoßung zwischen den geladenen Kopfgruppen durch Bildung einer aus adsorbierten Gegenionen entstehenden STERN-Schicht reduziert. Dadurch wird der Aggregationsprozess begünstigt, die cmc nimmt ab. Die Bindung von anionischen Gegenionen an Mizellen mit positiver Oberflächenladung nimmt in der Reihenfolge^[259] $F^- < Cl^- < Br^- < J^-$ zu. Jodid als Gegenion führt demnach bei kationischen Tensiden zu einer kleineren cmc als Fluorid. PAREDES et al.^[254] untersuchte die Demizellisierung von CTAB in 0.05 M NaBr. Obwohl im Vergleich zu den Untersuchungen in NaCl nur die Hälfte der Elektrolytkonzentration verwendet wurde, ist die cmc bei 25 °C in NaBr (0.124 mM) im Vergleich zur ermittelten cmc in NaCl (0.15 mM) erniedrigt. Mit zunehmender Ionengröße vergrößert sich aufgrund der Beibehaltung der primären Hydratationshülle der Gegenionen der Durchmesser der Mizellen^[1, 259].

Unter Verwendung des Tensidmolenbruches in der Mizelle $X_T^m=1$ und in der Bulkphase $X_T^{aq} = \frac{cmc}{c_w}$ wurde der Molenbruch-Verteilungskoeffizient zwischen der Bulkphase und den Tensidmizelle folgendermaßen berechnet:

$$P_T^{m/aq} \equiv \frac{X_T^m}{X_T^{aq}} = \frac{c_w}{cmc} \quad (3.2)$$

Mit zunehmender Kettenlänge des Tensids steigt der Verteilungskoeffizient von $P_{DTAB}^{m/aq} = 5.4 \cdot 10^3$, $P_{TTAB}^{m/aq} = 4.3 \cdot 10^4$ zu $P_{CTAB}^{m/aq} = 2.8 \cdot 10^5$ bei 60 °C in NaCl (Tab. 3.1).

Abb. 3.2 zeigt für die Demizellisierung von DTAB in NaCl mit abnehmender Temperatur von 60 °C auf 25 °C eine abnehmende Reaktionsenthalpie, bis schließlich ein Wechsel des Vorzeichens der Reaktionsenthalpie ab 30 °C vom positiven in den negativen Bereich stattfindet. Bei 60 °C beträgt die Reaktionsenthalpie $\Delta H_{beob} = +10.97$ kJ/mol, im Gegensatz zum Enthalpiewert bei 25 °C von -1.67 kJ/mol. Untersuchungen bei tieferen Temperaturen konnten, wie erwähnt, aufgrund des Unterschreitens der KRAFFT-Temperatur nicht erfolgen.

Für CTAB in NaCl beträgt $\Delta H_{observed} = +22$ kJ/mol bei 60 °C und $\Delta H_{observed} = +2.8$ kJ/mol bei 25 °C (Abb. 3.4). Der Vorzeichenwechsel ins Negative wurde für CTAB bei Erniedrigung der Temperatur bis 25 °C nicht beobachtet. Bei konstanter Temperatur nimmt die Reaktionsenthalpie mit zunehmender Alkylkettenlänge zu.

Es ist offensichtlich, dass die Bestimmung der *cmc* im Bereich sehr kleiner Reaktionsenthalpien mit der ITC erschwert ist. Um die bestimmten Werte dieses Bereiches überprüfen zu können, wurde die Demizellisierungsenthalpie der untersuchten Tenside für einen relativ breiten Temperaturbereich ermittelt, sodass die *cmc* aus der Interpolation der Temperaturabhängigkeit von $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$ bestimmt werden konnte. Die $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$ -Werte wurden nach KRESHEK^[260] und PAULA et al.^[222] mit einem Polynom 2. Grades angepasst:

$$\Delta H_{T;demiz}^{m/aq} = \Delta H_{T;demiz}^{m/aq}(0) + aT + bT^2 \quad (3.3)$$

Durch Integration ergibt sich hieraus:

$$\ln cmc'(T) = 1/R(-\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}(0)/T + a \ln T + bT) + \text{Konstante} \quad (3.4)$$

Die so berechneten Kurven entsprechen den gepunkteten Linien in Abb. 3.6 und Abb. 3.8. Alternativ hierzu ist die Auftragung nach NUSSELDER^[261] von $\ln cmc'$ gegen $1/T$ möglich, dessen annähernde Beschreibung einem Polynom 2. Grades folgt:

$$\ln cmc'(T) = AT^2 + BT + C \quad (3.5)$$

Unter Anwendung der KIRCHHOFF-Gleichung (Gl. 2.16) wird $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}(T)$ beim Erreichen des *cmc'*-Minimums null.

Zur Berechnung von $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$, $\Delta S_{T;demiz}^{o;m/aq}$ und $\Delta G_{T;demiz}^{o;m/aq}$ wurde sowohl das „Pseudophasen-Separations“-Modell (PS) als auch eine Simulationmethode basierend auf dem „mass action“-Modell (ma) verwendet. In Abb. 3.7 sind die Demizellierungsparameter, berechnet unter Anwendung des PS-Modells, zusammengefasst.

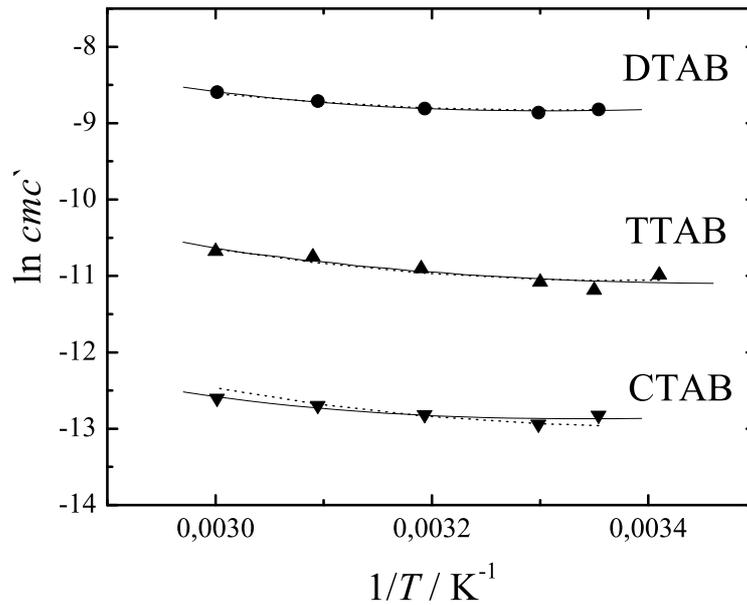


Abb. 3.6: VAN'T HOFF-Diagramm der Temperaturabhängigkeit der cmc' von DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl; die durchgezogene Linie wurde durch Berechnung des Polynoms 2. Grades ermittelt, die gepunktete Linie wurde aus der Temperaturabhängigkeit von $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$ ermittelt

Die $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$ -Werte der Tenside sind stark temperaturabhängig und nehmen mit Temperaturerhöhung zu. Der Enthalpieverlauf von DTAB (gekennzeichnete Symbole) und TTAB (offene Symbole) kreuzt bei 303 K bzw. 298 K die Nulllinie, während die Enthalpiewerte von CTAB (geschlossene Symbole) im untersuchten Temperaturbereich ausschließlich positive Werte aufweisen.

Gemäß des PS-Modells, bei dem zum einen die Mizelle und zum anderen das Lösungsmittel mit den Monomeren als zwei separate Phasen nach der GIBBS'schen Phasenregel betrachtet werden, wird die Freie Standard-GIBBS-Enthalpie für den Transfer eines ionischen Tensidmonomers von einer Mizelle in das Lösungsmittel berechnet^[1, 262-265]:

$$\Delta G_{demiz}^{\circ} = - \left(1 + \frac{m}{N} \right) RT \cdot \ln cmc' = - (1 + \beta) RT \cdot \ln cmc' \quad (3.6)$$

wobei m die Anzahl an einer Mizelle gebundenen Gegenionen, N die Aggregationszahl einer Mizelle, β den Gegenionenbindungsgrad und cmc' die cmc in Molbruchanteilen wiedergibt. Diese Näherungsgleichung ist für ionische Tenside mit großen Aggregationszahlen anwendbar, aber streng betrachtet nicht korrekt, weil von der vereinfachten Annahme ausgegangen wird, dass die Aktivität eines Tensidmoleküls sowohl unter- als auch oberhalb der cmc konstant bleibt. Wird der Zusatz von NaCl unter der Bedingung $c_{Salz} \gg c_{cmc}$ berücksichtigt, ist der Transfer eines

Tensidmonomers aus dem Wasser in die Mizellphase immer mit einem Cotransport von β Chloridionen zur Erhaltung der Ladungsstöchiometrie verbunden. ΔG_{demiz}° berechnet sich dann nach:

$$\begin{aligned}\Delta G_{demiz}^{\circ} &= -(\Delta G_{Miz,TAB^+}^{\circ} + \beta \Delta G_{Miz,Cl^-}^{\circ}) \\ &= -(RT \ln cmc' + \beta(\mu_{Miz,Cl^-}^{\circ} - \mu_{Lsg,Cl^-}^{\circ}))\end{aligned}\quad (3.7)$$

Hier entsprechen μ_{Miz,Cl^-}° und μ_{Lsg,Cl^-}° den chemischen Standardpotentialen der Chloridionen in der Mizellphase bzw. in der Lösung. Unter der Annahme, dass im Gleichgewicht $\mu_{Miz,Cl^-}^{\circ} = \mu_{Lsg,Cl^-}^{\circ}$ ist, berechnet sich die Freie Enthalpie nach:

$$\Delta G_{demiz}^{\circ} = -\left(RT \ln cmc' + \beta RT \ln [Cl^-]_{Lsg}\right) = -RT \ln \left(cmc' \cdot [Cl^-]_{Lsg}^{\beta}\right)\quad (3.8)$$

wobei $[Cl^-]_{Lsg}$ die Konzentration der Chloridionen in der wässrigen Phase in Molenbrucheinheiten wiedergibt. Die berechneten Werte für ΔG_{demiz}° von DTAB, TTAB und CTAB sind positiv, variieren unter Verwendung von $\beta = 0.78 - 0.82$ (Tab. 2.1) zwischen 35–55 kJ/mol und weisen nur eine geringe Temperaturabhängigkeit auf (Quadrate in Abb. 3.7). Wie erwartet, führt eine Vergrößerung des hydrophoben Molekülteils eines Amphiphils zu größeren positiven Werten der Freien GIBBS-Enthalpie ($\Delta G_{demiz,CTAB}^{\circ} > \Delta G_{demiz,TTAB}^{\circ} > \Delta G_{demiz,DTAB}^{\circ}$) beim Transfer von einer apolaren Umgebung in Wasser. Der $T\Delta S_{demiz}^{\circ}$ -Term der Alkyltrimethylammoniumbromide (Dreiecke in Abb. 3.7) wurde nach der GIBBS-HELMHOLTZ-Gleichung (Gl. 2.20) berechnet. ΔS_{demiz}° ist negativ und die Ableitung nach der Temperatur ist positiv.

Die Demizellierungsentropie nimmt in der Reihenfolge CTAB < TTAB < DTAB zu, d. h. dass mit verlängerter Alkylkette die Demizellierungsentropie negativer wird. Wie im Abschnitt 2.2 erläutert, sind die treibenden Kräfte der Mizellbildung die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Tensidmolekülen in Wasser. Die Anzahl der Wassermoleküle innerhalb der Hydrathülle um den hydrophoben Molekülteil des Tensides wird stark durch die Mizellbildung reduziert. Dies spiegelt sich in großen positiven Entropiewerten während der Mizellisierung bzw. in negativen Werten während der Demizellisierung wider. Bei erhöhten Temperaturen ($T > 60$ °C) nimmt die Zunahme der Entropie ab, sodass der Hauptanteil von ΔG_{miz}° durch ΔH_{miz}° , welche zunehmend negative Werte annimmt, beigesteuert wird. Dieses auch unter der Bezeichnung „Enthalpie-Entropie-Kompensation“ bekannte Phänomen ist für den Aggregationsprozess amphiphiler Moleküle aufgrund hydrophober Wechselwirkungen charakteristisch und ausführlich auch für andere Tenside in der Literatur^[184, 186, 222, 257, 266] beschrieben.

Die Wärmekapazitäten der Demizellierung $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ wurden nach Gl. 2.16 ermittelt und sind im gesamten untersuchten Temperaturbereich positiv. Sie variieren zwischen 220 J/molK und 780 J/molK in Wasser und NaCl-Lösung. Dies bedeutet, dass $\Delta C_{p,miz}^{\circ}$ negativ für den Prozess der Mizellbildung und dem damit einhergehenden

Transfer einer hydrophoben Oberfläche in eine apolare Umgebung ist^[223, 267]. In Tab. 3.1 sind die $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ -Werte der Demizellisierung für 50 °C zusammengefasst. Es zeigt sich ein deutlicher Trend zu größeren $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ -Werten mit längeren hydrophoben Alkylketten des Tensids, wie es auch von DESNOYERS^[268] beschrieben wird. Prinzipiell ist die Berechnung der Temperaturabhängigkeit von $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ mit Hilfe der ITC-Methode möglich. Da aber, wie schon erwähnt, die Demizellisierungsenthalpie der Tenside bei tieferen Temperaturen aufgrund der KRAFFT-Temperatur nicht ermittelt werden konnte und mindestens zwei der verbleibenden Enthalpiewerte dem Nulldurchgang von ΔH_{demiz}° sehr nahe gelegen sind, wurde auf die Berechnung der Temperaturabhängigkeit von $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ verzichtet. Wird der Temperaturverlauf der Demizellisierungsenthalpie in Abb. 3.7 betrachtet, ist der konstante Anstieg der CTAB-Kurve erkennbar, während der Anstieg der Enthalpiekurve von TTAB und DTAB mit zunehmender Temperatur abnimmt. Bei 300 K beträgt $\Delta C_{p,miz}^{\circ} \approx -300$ bis -500 J/molK für DTAB, TTAB und CTAB. Im Fall von gesättigten Kohlenwasserstoffketten kann die hydrophobe Oberfläche durch die Anzahl an Wasserstoffatomen (n_H) ausgedrückt werden. Nach GILL et al.^[223] ist $\Delta C_{p,demiz}^{\circ} = 33n_H$ J/mol·K bei 298 K. -500 J/molK entsprechen demnach einem Wasser-, „Benetzungszug“ von ca. 7–8 Methylengruppen eines Tensidmoleküls während der Mizellisierung der Alkyltrimethylammoniumbromide in Salzlösung. Die verbleibenden Methylengruppen der Tenside stehen demnach noch mit Wasser im Kontakt, was das „Fjord“-Modell zum Aufbau einer Mizelle bestätigt (2.9). Ähnliche Ergebnisse wurden mit Octylglucosid (OG) und Sodiumdodecylsulfat (SDS) von PAULA et al.^[222] ermittelt. Am Beispiel des SDS in Wasser wurde ein $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ -Wert von 450 J/molK bei 300 K ermittelt, und die Abnahme von $\Delta C_{p,demiz}^{\circ}$ mit zunehmender Temperatur ähnelt dem untersuchten kationischen DTAB.

Unter Verwendung des „ma“-Modells wurde die mizellare Aggregationszahl N , die Demizellisierungsenthalpie und die Freie GIBBS-Standard-Enthalpie der Demizellisierung durch eine nicht-lineare Regressionsroutine der experimentellen ITC-Demizellisierungskurven, basierend auf dem Verfahren des simulierten Temperns, ermittelt. Das „ma“-Modell, dessen Theorie^[253, 262] u. a. ausführlich in GARIDEL^[258] und PAULA^[222] et al. diskutiert ist, beschreibt die Mizellbildung M_n mit n Monomeren des Tensides S und Gegenionen B durch folgendes Gleichgewicht^[265]:



Die Gleichgewichtskonstante K der Mizellbildung ist dann gegeben durch:

$$K = \frac{[M_n^{(1-\beta)n}]}{[S^+]^n \cdot [B^-]^{\beta n}} \quad (3.10)$$

Der Gegenionenbindungsgrad nimmt nach MOROI^[1] mit zunehmender Kettenlänge der ionischen Tenside zu. Für den Gegenionenbindungsgrad β wurden nach Untersuchungen von TREINER^[71] in Wasser die Werte für DTAB 0.78, für TTAB

0.8 und für CTAB 0.82 als untere Grenze für Untersuchungen in Salzlösung übernommen. Aus der durch die Kurvenanpassung ermittelten Gleichgewichtskonstante K wurde ΔG_{miz}° entsprechend folgender Gleichung berechnet:

$$\Delta G_{miz, Mizelle}^{\circ} = -RT \ln K = -N \Delta G_{demiz, Monomer}^{\circ} \quad (3.11)$$

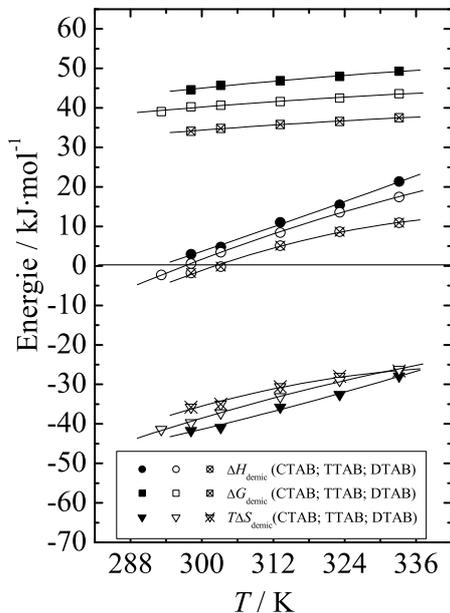


Abb. 3.7: Berechnete thermodynamische Parameter der Demicellisierung von DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl als Funktion der Temperatur unter Verwendung des „Pseudophasen-Separations“-Modells

ermittelten Werte deutet auf eine nur geringe Ungenauigkeit der Extrapolation der cmc hin. Des Weiteren besteht auch die Möglichkeit, dass zusätzliche Einflüsse, wie z. B. weitere Dissoziationsprozesse im System und im Modell unberücksichtigt sind.

Der Trend, dass sich mit zwei zusätzlichen Methylengruppen im Tensidmolekül die Energiewerte um einen konstanten Wert verändern, ist auch für ΔG_{demiz}° mit einer Vergrößerung von ca. 5 kJ/mol und einer Verkleinerung von ΔS_{demiz}° von ca. $6\text{--}13 \text{ J/molK}$ erkennbar.

Unter Anwendung des „ma“-Modells wurde die Aggregationszahl N der Tensidmonomere an der cmc ermittelt, die für die untersuchten Systeme in Tab. 3.2 aufgeführt sind. Die Aggregationszahl wird aus dem Anstieg der Demicellisierungskurve berechnet, sodass die Bestimmung von N mit einem relativ großen Fehler behaftet ist. Die Analyse der Daten zeigte jedoch keine deutliche Abhängigkeit von N von der Temperatur, obwohl nach Studien von SCHULZ^[269] und DORRANCE^[270] die Aggregationszahl der Alkyltrimethylammoniumbromide mit zunehmender Temperatur abnimmt. Bei $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$, der Temperatur bei der das Signal-Rausch-Verhältnis

Sind der Gegenionenbindungsgrad und die Gleichgewichtskonstante bekannt, ergibt sich daraus die Aggregationszahl N . Die Standard-Entropie wurde im Anschluss mit der GIBBS-HELMHOLTZ-Gleichung (Gl. 2.20) berechnet.

Die gepunkteten Kurven in den Abb. 3.2 bis Abb. 3.5 wurden durch die auf dem „ma“-Modell basierenden Fitroutine ermittelt. Die daraus berechneten thermodynamischen Parameter für die Demicellisierung von DTAB, TTAB und CTAB sind in Tab. 3.2 zusammengefasst. Die Demicellisierungsenthalpie, berechnet nach dem „PS“- als auch „ma“-Modell stimmen zufriedenstellend überein und werden zunehmend endotherm mit längerer Alkylkette des Tensids. Die Zunahme beträgt ca. $+2\text{--}3 \text{ kJ/mol}$ pro zusätzlichen zwei Methylengruppen bei $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in NaCl-Lösung und steigt mit zunehmender Temperatur. Im Vergleich zum „ma“-Modell sind die ΔG_{demiz}° -Werte um ca. $+2 \text{ kJ/mol}$ vergrößert und die ΔS_{demiz}° -Werte um ca. 10 J/molK verkleinert. Diese relativ kleine Diskrepanz der zwischen der direkt aus der kalorimetrischen Messung und unter Anwendung des „ma“-Modells

der Messkurven am günstigsten ist, variiert die mittlere Aggregationszahl der Tenside DTAB, TTAB und CTAB in Salz und deionisiertem Wasser, berechnet an der *cmc* zwischen den Werten $N=16-23$. LIANOS et al.^[69, 74] (Tab. 2.1) bestimmte mit Hilfe der Fluoreszenstechnik für DTAB $N=54$, TTAB $N=68$ und für CTAB $N=90$. BACH et al.^[247] ermittelte mittels UV-VIS Spektroskopie und Kalorimetrie für DTAB $N=50$ und für CTAB $N=92$ in Wasser bei 25 °C. Ein Vergleich der Daten mit den berechneten Werten in NaCl und Wasser zeigt einen großen Unterschied. Die mögliche Ursache hierfür liegt im Konzentrationsunterschied der mizellaren Tensidlösung, die zur Ermittlung der Aggregationszahlen verwendet wurde. Während für die Ergebnisse von LIANOS und BACH postmizellare Tensidkonzentrationen verwendet wurden, beziehen sich die hier vorgestellten Ergebnisse von N auf die exakte *cmc*. Es ist bekannt, dass die Aggregationszahl mit zunehmender Konzentration oberhalb der *cmc* steigt (Abschnitt 2.2.1 und 2.7). Diskutiert wurde dies sowie die Frage der Präzision und Verwendbarkeit der Bestimmung von N mittels eines auf dem „ma“-Modell basierenden Anpassungsverfahrens schon in früheren Studien von MAJHI et al.^[253], die mit zunehmender Aggregationszahl und damit steilerem Anstieg der Titrationskurven eine Abnahme der Bestimmungsmethodengenauigkeit beobachteten.

In der Literatur existieren kalorimetrische Untersuchungen der Demizellierung von Alkyltrimethylammoniumbromiden in Salzlösung. PAREDES et al.^[254] untersuchte die Mizellierung von CTAB in 0.05 M NaBr-Lösung und Wasser bei 25 °C unter Verwendung des „PS“-Modells zur Analyse der Daten. Diese und weitere Ergebnisse^[271] sind im Anhang B Tab. B.1 zusammengefasst und sind in guter Übereinstimmung mit den berechneten Daten von CTAB in 0.1 M NaCl und Wasser. Die Demizellierungsenthalpie in 0.05 M NaBr bei 25 °C ist endothermer trotz geringerem Salzgehalt ($+4.9 \text{ kJ/mol}$) als ΔH_{demiz}° mit Chlorid als Gegenionen im Lösungsmittel ($+3.0 \text{ kJ/mol}$). Die Demizellierungsenthalpien von CTAB in Wasser ($+8.2 \text{ kJ/mol}$) sind im Wasser größer als bei erhöhter Ionenstärke (Salz). Dies beweist den starken Einfluss der Gegenionenart auf die Demizellierungsenthalpie^[269]. Durch die Dissoziation der Mizellen werden die Gegenionen partiell hydratisiert, was einen exothermen Effekt in Abhängigkeit von der Ionengröße verursacht und von MARKUS^[272] für Bromidionen mit -0.335 kJ/mmol und für Chloridionen mit -0.365 kJ/mmol ermittelt wurde. Der Hydratationsbeitrag der Chloridionen beträgt am Beispiel von CTAB in Wasser und NaCl bei 25 °C -5.2 kJ/mol zugegebener Tensidstoffmenge. Unter der Annahme eines Gegenionen-kondensationsgrades von ≈ 1 , bedeutet dies, dass mit der Zugabe von 1 mol Tensid auch 1 mol der Chloridionen hydratisiert werden, was bei vollständiger Hydratation einen Beitrag von -335 kJ/mol verursacht. Da aber nur ein Bruchteil (1.5 %) dieser Enthalpie durch die Demizellierungsexperimente ermittelt wurde, kann nur von einer partiellen Hydratation ausgegangen werden. Die Demizellierungsenthalpie verläuft in der Reihenfolge von Jodid über Bromid zu Chlorid als Gegenion weniger endotherm und der exotherme Hydratationsenthalpiebeitrag ist dementsprechend größer beim kleinsten Chlorid-Ion^[273].

In Abb. 3.5 und Abb. 3.8 sind zum Vergleich mit den erhaltenen Demizellierungsdaten in 0.1 M NaCl (geschlossene Symbole) die experimentell ermittelten Titra-

tionskurven mit den Simulationsergebnissen und die berechneten thermodynamischen Parameter $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$, $\Delta G_{T;demiz}^{o;m/aq}$ und $T\Delta S_{T;demiz}^{o;m/aq}$ sowie der VAN'T HOFF-Plot von CTAB in deionisiertem Wasser (offene Symbole) dargestellt. In Tab. 3.2 sind diese Energiewerte, berechnet nach dem „ma“- und „PS“-Modell, sowie N zusammengefasst. Für viele ionische Tenside wird die Aggregationszahl N mit abnehmender Ionenstärke (Salzgehalt) aufgrund der schlechteren Abschirmung der Oberflächenladung einer Mizelle kleiner^[1]. Eine Folge davon ist die Zunahme von hydratisierten hydrophoben Oberflächen in der Mizelle, was sich in der Verkleinerung des $\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ -Wertes widerspiegeln sollte. Die Ergebnisse zeigen jedoch nur eine geringe Salzkonzentrationsabhängigkeit von N und $\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$. Wie auch durch Untersuchungen mit SDS und Cetylpyridiniumchlorid von CHATTERJEE^[274] bestätigt, sind die ΔG_{demiz}^o Werte am Beispiel von CTAB in NaCl größer als in Wasser. Die Temperatur, bei der $\Delta H_{demiz} = 0$, ist für CTAB in Wasser zu Temperaturen unterhalb 290 K verschoben. Der $T\Delta S_{T;demiz}^{o;m/aq}$ -Term durchschreitet die Nulllinie, wie auch bei anderen ionischen und nichtionischen Tensiden beobachtet^[1], bei ca. 373 K, dem Siedepunkt des Wassers, was vom Ergebniss von SHINODA et al.^[27] mit 430 K abweicht. Deutlich ist, dass die Entropie der Demizellisierung von CTAB in Wasser im Vergleich zum NaCl-haltigen Lösungsmittel zu größeren Werten verschoben ist.

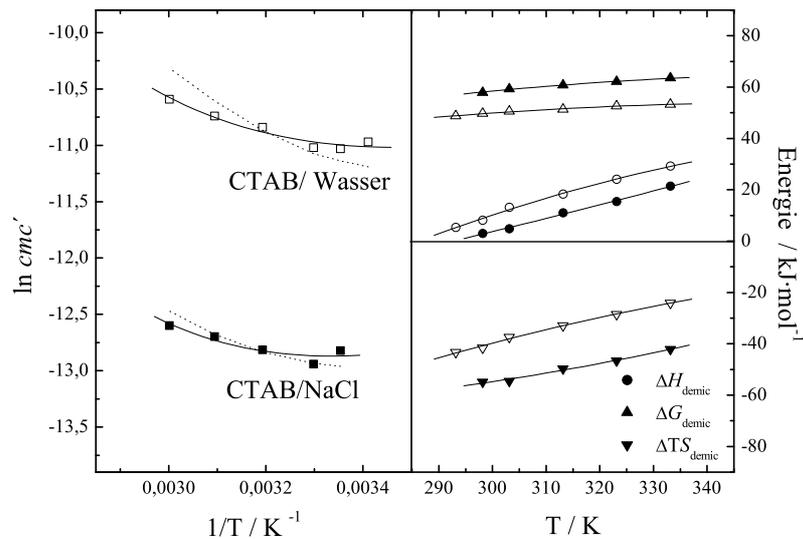


Abb. 3.8: Links: VAN'T HOFF Darstellung der Temperaturabhängigkeit der cmc' von CTAB in Wasser und 0.1 M NaCl (durchgezogene Linie: Polynom 2. Grades, punktierte Linie: berechnet aus der Temperaturabhängigkeit von $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$); rechts: berechnete thermodynamischen Parameter der Demizellisierung von CTAB in Wasser (offene Symbole) und 0.1 M NaCl (geschlossene Symbole) als Funktion der Temperatur unter Anwendung des „Pseudophasen-Separations“-Modells

	T /°C	$\Delta H_{demiz}^{\circ\star}$ kJ/mol	$\Delta H_{demiz}^{\circ\blacklozenge}$ kJ/mol	$\Delta G_{demiz}^{\circ\star}$ kJ/mol	$\Delta G_{demiz}^{\circ\blacklozenge}$ kJ/mol	$\Delta S_{demiz}^{\circ\star}$ J/mol·K	$\Delta S_{demiz}^{\circ\blacklozenge}$ J/mol·K	N^{\blacklozenge}
DTAB	25	-1.8	-1.9	34.1	32.8	-120.2	-109.5	35
	30	-0.2		34.8		-115.4		
	40	5.2	5.9	35.8	33.9	-97.8	-89.3	23
	50	8.7	10.7	36.6	34.5	-86.6	-73.6	20
	60	10.9	14.8	37.5	35.3	-79.7	-61.6	20
TTAB	20	-2.3	-2.2	39.1	36.8	-141.1	-133.3	15
	25	0.6		40.3		-133.1		
	30	3.5	3.8	40.7	37.9	-122.7	-112.6	14
	40	8.5	8.9	41.6	39.6	-105.7	-98.0	20
	50	13.6	14.8	42.5	40.7	-89.3	-78.3	15
	60	17.4	18.0	43.6	41.4	-78.5	-70.2	20
CTAB	25	3.0	4.0	44.6	43.1	-139.7	-130.9	20
	30	4.8	4.9	45.7	44.5	-135.0	-130.7	35
	40	11.1	11.9	46.9	44.6	-114.3	-104.5	20
	50	15.5	18.3	48.0	45.8	-100.8	-85.2	24
	60	21.4	27.1	49.3	46.0	-83.7	-57.0	16
CTAB*	20		6.3		46.2		-136.1	16
	25	8.2		49.7		-139.3		
	30	13.2	13.0	50.6	48.7	-123.4	-110.5	24
	40	18.4	18.8	51.3	50.3	-105.1	-104.2	36
	50	24.1	24.4	52.6	51.0	-88.23	-82.5	27
	60	29.2	30.8	53.3	51.4	-72.37	-61.8	23

Tab. 3.2: Thermodynamische Parameter ΔH_{demiz}° ($\pm 1.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), ΔG_{demiz}° ($\pm 0.4 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), ΔS_{demiz}° ($\pm 5.5 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) und die Aggregationszahl N von DTAB ($\beta = 0.78$), TTAB ($\beta = 0.8$) und CTAB ($\beta = 0.82$) in Abhängigkeit von der Temperatur in 0.1 M NaCl (bzw. Wasser*) basierend auf dem „Pseudo-Phasenseparations“-Modell (★) und „mass action“-Modells (◆)

Zusammenfassung

Die ITC ermöglicht die thermodynamische Charakterisierung der Demizellisierung der Alkyltrimethylammoniumbromide mit unterschiedlicher Alkylkettenlänge. Es wurden die *cmc* und Demizellisierungsenthalpie als direkte Messgröße von DTAB, TTAB und CTAB bei Temperaturen zwischen 20 °C und 60 °C in NaCl-Lösung und am Beispiel von CTAB in Wasser zur Untersuchung des Einflusses von zusätzlichem Salz ermittelt. Die Analyse der ITC-Titrationskurven erfolgte mit dem „PS“-Modell und „ma“-Modell zur Bestimmung von ΔH_{demiz}° , ΔG_{demiz}° und ΔS_{demiz}° . Des Weiteren wurde die Aggregationszahl *N* der Tenside unter Berücksichtigung des Gegenionen-kondensationsgrades mit einer Simulationmethode basierend auf dem „ma“-Modell berechnet. Es konnte gezeigt werden, dass sich mit zunehmender Alkylkettenlänge des Tensides die *cmc* und ΔS_{demiz}° -Werte verkleinern, während ΔH_{demiz}° und ΔG_{demiz}° größere Werte annehmen. In Salzlösung sind die *cmc* sowie ΔH_{demiz}° und ΔS_{demiz}° -Werte kleiner als in Wasser. Ein Vergleich der aus dem „PS“- und „ma“-Modell ermittelten thermodynamischen Parameter zeigt eine gute Übereinstimmung der Enthalpie, Freien GIBBS-Enthalpie und Entropie. Die Aggregationszahl für DTAB, TTAB und CTAB, die genau an der *cmc* der Tenside ermittelt wurde, variiert zwischen 20–30. Die $\Delta C_{p;T;demiz}^{m/aq}$ -Werte sind positiv und variieren zwischen 280–620 J/mol·K. Diese Untersuchungen stellen die Grundlage der Interpretation der thermodynamischen Parameter aus den Untersuchung der Wechselwirkungen dieser homologen Tenside mit den zwitterionischen und anionischen Vesikeln, bestehend aus DMPC und DMPG, dar (Abschnitt 3.1.2 und 3.1.3).

3.1.2 Verteilung der Alkyltrimethylammoniumbromide zwischen Bulk- und Vesikelphase

Die Untersuchung der Verteilung der Alkyltrimethylammoniumsalze DTAB, TTAB und CTAB zwischen Wasser und DMPC-, DMPG- und DMPC-DMPG (1:1) Vesikel erfolgte mittels ITC in 0.1 M NaCl bei 40 °C, 50 °C und 60 °C (Abschnitt A.1.3.2). Wie im Phasendiagramm der Vesikel-Mizell-Umwandlung (Abb. 2.14) ersichtlich, wurden die Verteilungsexperimente ausschließlich im Vesikelbereich durchgeführt. Die Tensidkonzentrationen, die für die Verteilungsexperimente verwendet wurden liegen für DTAB, TTAB und CTAB zwischen 0.5–0.05 mM, d. h. unterhalb der entsprechenden *cmc* des Tensids, sodass sich die Tensidmonomere in die Lipidvesikel ohne Zerstörung dieser einbauen und dadurch Mischvesikel entstehen.

In Abb. 3.9 sind drei Beispiele der Verteilungsexperimente von DTAB zwischen 0.1 M NaCl und DMPC-, DMPG- und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikel bei 40 °C dargestellt. Hierfür wurde eine konzentrierte DMPC- bzw. DMPG- (20 mM) oder DMPC/DMPG (1:1)-Lipiddispersion (9 mM) in eine 0.05 mM DTAB-Lösung in 25 Einzelschritten mit je 10 μ l injiziert. In den Heizleistungsdiagrammen (Abb. 3.9A) ist erkennbar, dass der Einbau der Tensidmonomere in Lipidvesikel bei 40 °C exotherm verläuft. Mit zunehmender Lipidkonzentration in der Messzelle nimmt der Anteil freier Tensidmonomere durch den fortschreitenden Einbau in die Lipidmembran ab, sodass die freiwerdende Reaktionswärme *Q* kleiner bis hin zur Annäherung

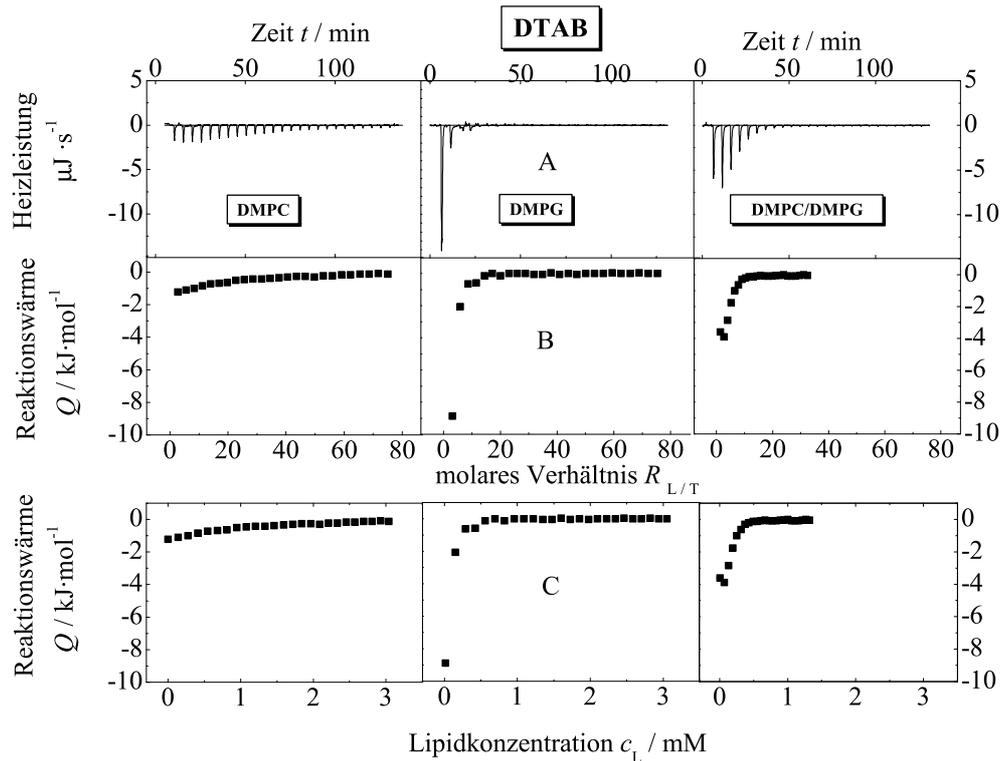


Abb. 3.9: ITC-Verteilungsexperimente: Titration ($25 \times 10\mu\text{l}$) einer Lipiddispersion (DMPC 20 mM - links, DMPG 20 mM - mitte, DMPC/DMPG (1:1) 9 mM - rechts) in eine monomere DTAB-Lösung (0.05 mM) in 0.1 M NaCl bei 40°C , A: Heizleistung vs. Zeit, B: experimentell ermittelte normalisierte Reaktionswärme (Q) vs. molares Verhältnis von Lipid zu Tensid in der Reaktionszelle, C: Q vs. Lipidkonzentration in der Zelle

an den konstanten Wert wird, der ausschließlich der Verdünnungswärme der Lipidvesikel entspricht. In den Diagrammen B und C der Abb. 3.9 ist die molare Reaktionswärme Q als Funktion des molaren Verhältnisses von Lipid/Tensid in der Zelle ($R_{L/T}$) bzw. als Funktion der totalen Lipidkonzentration (c_L) in der Zelle dargestellt.

Zur thermodynamischen Charakterisierung der Tensidaufnahme in die Lipidphase wurde ein Modell zur Kurvenanpassung der ITC-Ergebnisse nach KELLER^[275] verwendet, welches die Bestimmung des intrinsischen Verteilungskoeffizienten zwischen Lipiddoppelschicht und der Phasengrenzfläche in Molenbrucheinheiten ($P_T^{b/i}$) sowie die Bestimmung der molaren Transferenthalpie ($\Delta H_T^{b/aq}$) erlaubt. Die ausführliche Theorie der verwendeten Fit-Funktion ist in der Publikation von KELLER et al.^[275] beschrieben und wird im Folgenden zum Verständnis der Ergebnisse nur in den wesentlichen Punkten erläutert.

Unter Annahme der idealen Mischbarkeit des Tensids zwischen Bulk (aq)- und Lipidphase (b) ist der apparente Verteilungskoeffizient $P_T^{b/aq}$ gegeben als Quotient der Molenbrüche von aggregatgebundenem Tensid (X_T^b) und freiem Tensid in der

wässrigen Phase (X_T^{aq}):

$$P_T^{b/aq} \equiv \frac{X_T^b}{X_T^{aq}} \quad (3.12)$$

Die Molenbrüche sind unter Verwendung der molaren aggregatgebundenen Tensidkonzentration c_T^b , der molaren freien Tensidkonzentration in der wässrigen Phase c_T^{aq} , der molaren Lipidkonzentration c_L und der molaren Wasserkonzentration c_W definiert als:

$$X_T^b \equiv \frac{c_T^b}{(c_L + c_T^b)} \quad \text{und} \quad X_T^{aq} \equiv \frac{c_T^{aq}}{(c_W + c_T^{aq})} \quad (3.13)$$

Unter Vernachlässigung von c_T^{aq} im Nenner, da $c_T^{aq} \ll c_W$ und unter Verwendung der absoluten Tensidkonzentration c_T für die Substitution von $c_T^{aq} = c_T - c_T^b$ ist der apparente Verteilungskoeffizient gegeben durch:

$$P_T^{b/aq} = \frac{c_T^b c_W}{(c_T - c_T^b)(c_L + c_T^b)} \quad (3.14)$$

Die Auflösung der Gleichung nach der aggregatgebundenen Tensidkonzentration ergibt:

$$c_T^b = \frac{1}{2P_T^{b/aq}} \left(P_T^{b/aq} (c_T - c_L) - c_W + \sqrt{P_T^{b/aq^2} (c_T + c_L)^2 - 2P_T^{b/aq} (c_T - c_L) c_W + c_W^2} \right) \quad (3.15)$$

Für die Tensidaufnahme in die Lipidvesikel wurde die Konzentration des für die Tensidmonomere zugänglichen Lipides durch den "Erreichbarkeitsfaktor" $\gamma'=0.5$ korrigiert ($c_L \rightarrow \gamma'c_L$). Nach HEERKLOTZ et al.^[132, 276] erfolgt die Bindung ionischer Tenside in Abhängigkeit von der Molekülgeometrie und Temperatur an der Außenseite der Lipidvesikel, deren Zugänglichkeit bei Ultraschallbehandlung und einem Durchmesser von 30–80 nm ca. 60–50 % der absoluten Lipidmolekülzahl einer Doppelschicht beträgt.

Das Verteilungsgleichgewicht eines ionischen Tensids zwischen Lipidmembran und Bulkphase wird im Fall einer nichtionischen oder zwitterionischen Lipidkopfgruppe stark durch die elektrostatische Abstoßung der Membranoberfläche bzw. im Fall einer gegensätzlich geladenen Lipidkopfgruppe durch elektrostatische Anziehung beeinflusst^[277]. Im Verlauf des Einbaus der kationischen Alkyltrimethylammoniumbromide in DMPC-Vesikel wird die Vesikeloberfläche positiv aufgeladen. Dies wirkt

einem weiteren Einbau der kationischen Tenside aufgrund der elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen Vesikeloberfläche und verbleibenden Tensidmonomeren in der Bulkphase entgegen. Im Gegensatz dazu führt die negative Oberflächenladung der DMPG-Vesikel zu einer elektrostatischen Anziehung der kationischen Tenside aus der Bulk- an und in die Vesikelphase, bis eine „Elektroneutralität“ der Vesikeloberfläche gegeben ist. Erst ein darüber hinaus gehender Tensideinbau kann zu einer positiven Aufladung der Vesikel führen. Demnach wird das Verteilungsgleichgewicht besser zwischen der Lipidphase und der Grenzphase am Bilayer (statt Bulkphase) durch den intrinsischen Verteilungskoeffizienten $P_T^{b/i}$ beschrieben, welcher sich aus dem Quotienten der Molenbrüche des Tensids in der Lipidphase und der wässrigen Grenzphase (X_T^i) zusammensetzt:

$$P_T^{b/i} \equiv \frac{X_T^b}{X_T^i} \quad (3.16)$$

Der Molenbruch des Tensids an der Grenzschicht X_T^i , bezogen auf die Tensidkonzentration in der Bulkphase X_T^{aq} , kann mit dem BOLTZMANN-Term (Gl. 2.11) ausgedrückt werden:

$$P_T^{i/aq} \equiv \frac{X_T^i}{X_T^{aq}} = \exp\left(\frac{-z_T e \Delta\varphi^{i/aq}}{k_B T}\right) \quad (3.17)$$

wobei z_T der Ladungszahl des Tensids (d. h. im Fall der Alkyltrimethylammoniumsalze $z_T = +1$), e der Elementarladung, $\Delta\varphi^{i/aq}$ dem Oberflächenpotential der Membran in Bezug auf die wässrige Bulkphase, k_B der BOLTZMANN-Konstante und T der absoluten Temperatur entspricht. Der apparente Verteilungskoeffizient $P_T^{b/aq}$ ist damit das Produkt der Verteilungskoeffizienten zwischen Grenzschicht und Bulkphase $P_T^{i/aq}$ sowie zwischen Grenzschicht und Lipidphase $P_T^{b/i}$:

$$P_T^{b/aq} = P_T^{b/i} \cdot P_T^{i/aq} = P_T^{b/i} \exp\left(\frac{-z_t e \Delta\varphi^{i/aq}}{k_B T}\right) \quad (3.18)$$

Entsprechend der GOUY-CHAPMANN-Theorie auf der Grundlage der POISSON-Gleichung und BOLTZMANN-Verteilung ist die Oberflächenladungsdichte σ vom Oberflächenpotential $\Delta\varphi^{i/aq}$ folgendermaßen abhängig:

$$\sigma = \text{sgn}(\Delta\varphi^{i/aq}) \sqrt{2000RT\epsilon_0\epsilon_r \sum_{\text{I}} c_{\text{I}}^{aq} \left(\exp\left(\frac{-z_{\text{I}} e \Delta\varphi^{i/aq}}{kT}\right) - 1 \right)} \quad (3.19)$$

R entspricht hierbei der universellen Gaskonstante, ϵ_0 der Dielektrizitätskonstante des freien Raumes, ϵ_r der Dielektrizitätskonstante des Wassers in Abhängigkeit von

der Temperatur^[278] und c_1^{aq} der Bulkkonzentration aller Ionen (NaCl) inklusive der Tensidionen und deren Gegenionen.

Eine weitere unabhängige Berechnungsmöglichkeit der Oberflächenladungsdichte σ bietet deren Definition als Funktion des molaren Verhältnisses von Tensid zu Lipid in der Doppelschicht ($R_{T/L}^b = c_T^b/c_L$) und des molekularen Oberflächenbedarfs des membrangebundenen Tensidmoleküls A_T :

$$\sigma = \frac{z_T e R_T^b}{A_L + R_T^b A_T} \quad (3.20)$$

A_T wurde aus den mit IRRAS ermittelten GIBBS-Isothermen (Kapitel 3.2.1) an der *cmc* der entsprechenden Tenside bestimmt. Für DTAB wurde demnach eine Fläche von 0.30 nm^2 , für TTAB 0.34 nm^2 , für CTAB 0.38 nm^2 und für DDAB 0.38 nm^2 ermittelt. Der molekulare Flächenbedarf der Lipide DMPC und DMPG beträgt nach Untersuchungen von KISELEV^[279, 280] $0.58\text{--}0.68 \text{ nm}^2$ und wurde für beide Lipide zur Berechnung mit $A_L=0.68 \text{ nm}^2$ festgelegt.

Mit dem Gleichsetzen von Gl. 3.19 und 3.20 wurde $\Delta\varphi^{1/aq}$ durch ein iteratives Verfahren berechnet und diente unter Verwendung der Gl. 3.18 zur Berechnung der aggregatgebundenen Tensidkonzentration nach Gl. 3.15.

Die experimentell ermittelten molaren Wärmen Q , die sich aus der schrittweisen Lipidzugabe in die Tensidlösung ergeben, setzen sich formal aus der molaren Transferenthalpie des Tensids von der Bulk- in die Lipidphase $\Delta H_T^{b/aq}$ und der molaren Verdünnungswärme der Lipidvesikel $Q_{L,verduen}$ zusammen:

$$Q = \Delta n_T^b \frac{\Delta H_T^{b/aq}}{\Delta n_L} + Q_{L,verduen} \quad (3.21)$$

Hierbei entsprechen Δn_T^b und Δn_L den jeweiligen Stoffmengenänderungen von membrangebundenem Tensid bzw. der Änderung der Lipidstoffmenge in der Reaktionszelle nach einer Injektion. Unter Einsetzen des Volumens der Reaktionszelle V und der Änderung Konzentration von aggregatgebundenem Tensid Δc_T^b nach der Injektion lässt sich die Änderung der Stoffmenge von gebundenem Tensid mit Hilfe von $\Delta n_T^b = V \Delta c_T^b$ substituieren. Wenn \hat{c}_T^b die Gleichgewichtskonzentration des gebundenen Tensids vor der Injektion ist und c_T^b der Tensidkonzentration nach einer Injektion entspricht, lässt sich Δc_T^b folgendermaßen beschreiben: $\Delta c_T^b = c_T^b - \left(1 - \frac{\Delta V}{V}\right) \hat{c}_T^b$. Die Berechnung der molaren Reaktionswärme Q erfolgt dann nach:

$$Q = V \left(c_T^b - \left(1 - \frac{\Delta V}{V}\right) \hat{c}_T^b \right) \frac{\Delta H_T^{b/aq}}{\Delta n_L} + Q_{L,verduenn} \quad (3.22)$$

Die Gl. 3.22 und 3.15, die sich wiederum unter Beachtung der Elektrostatik für geladene Tenside aus den Gl. 3.18– 3.20 ergeben, wurden in EXCEL (Microsoft,

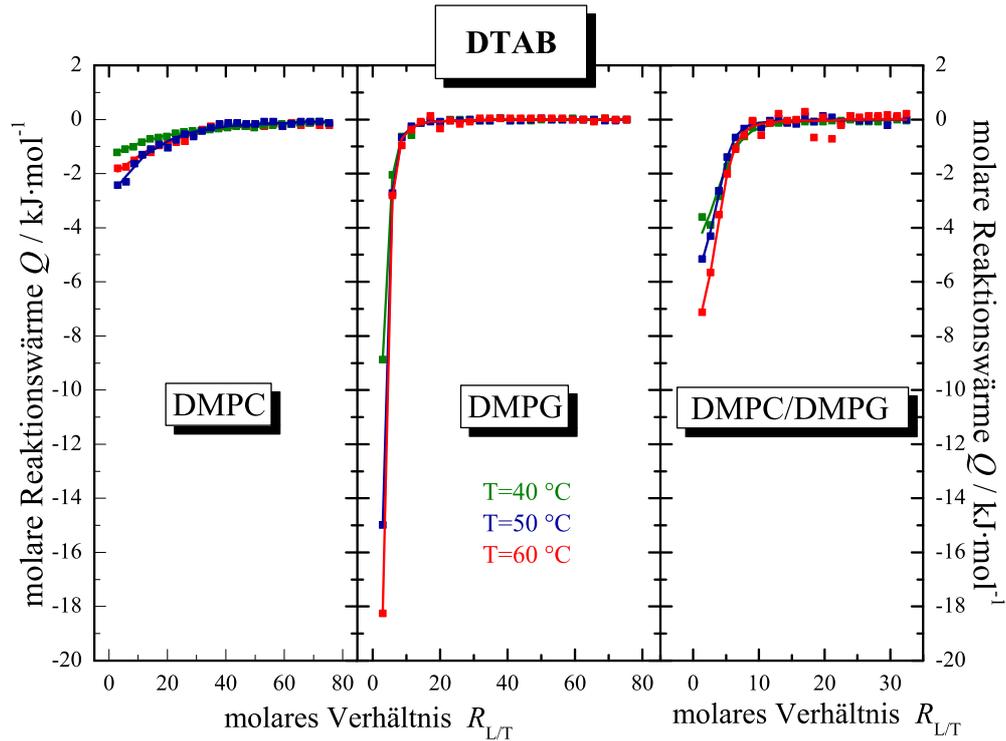


Abb. 3.10: Experimentell ermittelte Reaktionswärme Q (Quadrate) vs. molares Verhältnis Lipid/Tensid ($25 \times 10 \mu\text{l}$) der Verteilung von DTAB (0.05 mM) in DMPC- (links) 20 mM , DMPG- (mitte) 20 mM und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikel 9 mM (rechts) bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ und $60 \text{ }^\circ\text{C}$ in 0.1 M NaCl mit Kurvenanpassung^[275] (durchgezogene Linien)

Redmond, USA) implementiert. Mit Hilfe einer nichtlinearen Kurvenanpassung, basierend auf der Methode der kleinsten Fehlerquadrate, konnten aus den experimentell ermittelten Q -Werten als Funktion der Titrationszahl die Parameter $P_T^{b/i}$ und $\Delta H_T^{b/aq}$ berechnet werden.

Mit $P_T^{b/i}$ wurde im Anschluss die Freie Standard-GIBBS-Enthalpie durch $\Delta G_T^{ob/i} = -RT \cdot \ln P_T^{b/i}$ bestimmt, die wiederum zur Berechnung des Entropieterms $T\Delta S_T^{ob/i}$ mit Hilfe der GIBBS-HELMHOLTZ-Gleichung (Gl 2.20) unter Annahme der Näherung $\Delta H_T^{b/aq} = \Delta H_T^{b/i} = \Delta H_T^{ob/i}$ diente. Die so erhaltenen thermodynamischen Größen der verschiedenen Systeme im untersuchten Temperaturbereich sind in den Tab. 3.3 und 3.4 zusammengefasst. Jede Messung wurde mehrfach mit verschiedenen Injektionsvolumina und unter Veränderung der Tensid- bzw. Lipidkonzentration wiederholt. Es ergaben sich dabei folgende Abweichungen: für $P_T^{b/i} < \text{Faktor } 2$, für $\Delta H_T^{b/aq} < 2.5 \text{ kJ/mol}$ und für die Verdünnungswärmen $-0.2 \mu\text{cal/s} < Q_{L,verduen} < 0.3 \mu\text{cal/s}$.

In den Abb. 3.10– 3.12 sind die experimentell ermittelten sowie die mit Hilfe des Modells nach KELLER^[275] berechneten molaren Reaktionswärmern Q als Funktion von $R_{L/T}$ für die Lipide DMPC, DMPG und DMPC/DMPG (1:1) mit DTAB (Abb. 3.10), TTAB (Abb. 3.11) bzw. CTAB (Abb. 3.12) bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ und

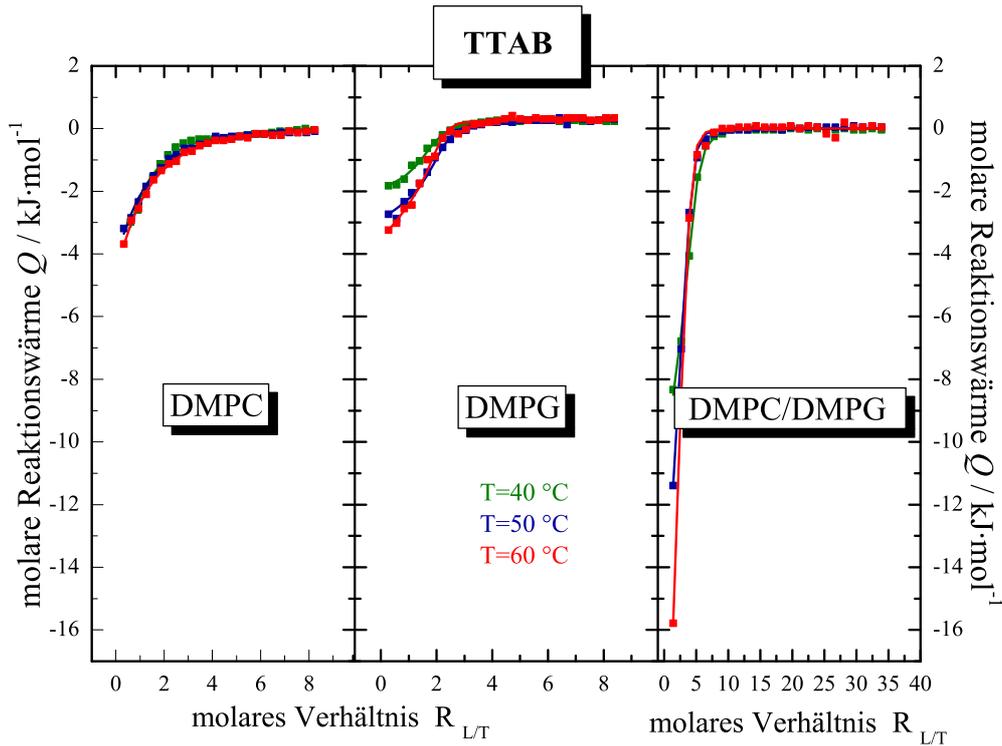


Abb. 3.11: Experimentell ermittelte Reaktionswärme Q (Quadrate) vs. molares Verhältnis Lipid/Tensid der Verteilung von TTAB 0.5 mM (links) bzw. 0.05 mM (mitte und rechts) in DMPC- (links, 25 x 10 μ l) 20 mM, DMPG- (mitte, 30 x 1 μ l) 20 mM und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikel 9 mM (rechts, 25 x 10 μ l) bei 40 °C, 50 °C und 60 °C in 0.1 M NaCl mit Kurvenanpassung^[275] (durchgezogene Linien)

60 °C zusammengefasst. Die experimentell ermittelten Ergebnisse aller untersuchten Systeme bei verschiedenen Temperaturen konnten gut mit dem vorgestellten Modell, basierend auf der Annahme, dass kein Übergang der Tensidmoleküle von der äußeren in die inneren Schicht der Vesikelbilayer („flip-flop“) erfolgt, angepasst werden.

Die Kurvenverläufe der jeweiligen Tensid-Lipid-Gemische zeigen keine charakteristischen Unterschiede mit veränderter Temperatur, aber einen deutlichen Unterschied zwischen dem kationischen Tensid und dem jeweiligen Lipid. Während die molaren Reaktionswärmen Q der Tensid-DMPC-Systeme über einen breiten Bereich kontinuierlich mit zunehmender Vesikelzugabe abnehmen, verlaufen die Titrationskurven der entsprechenden Tensid-DMPG-Systeme steiler mit Vesikelzugabe. Demnach erfolgt ein schnellerer Einbau der Alkyltrimethylammoniumbromide in die DMPG-Vesikel. Der Aufbau der positiven Oberflächenladung der DMPC-Vesikel im Verlauf des Tensideinbaus führt aufgrund der elektrostatischen Abstoßung zu einem gehemmten Einbau weiterer kationischer Tensidmoleküle, sodass der Titrationskurvenverlauf abgeschwächt verläuft und erst bei größeren Lipidkonzentrationen in der Zelle die gesamten Tensidmonomere „verbraucht“ sind. Umgekehrt wirkt

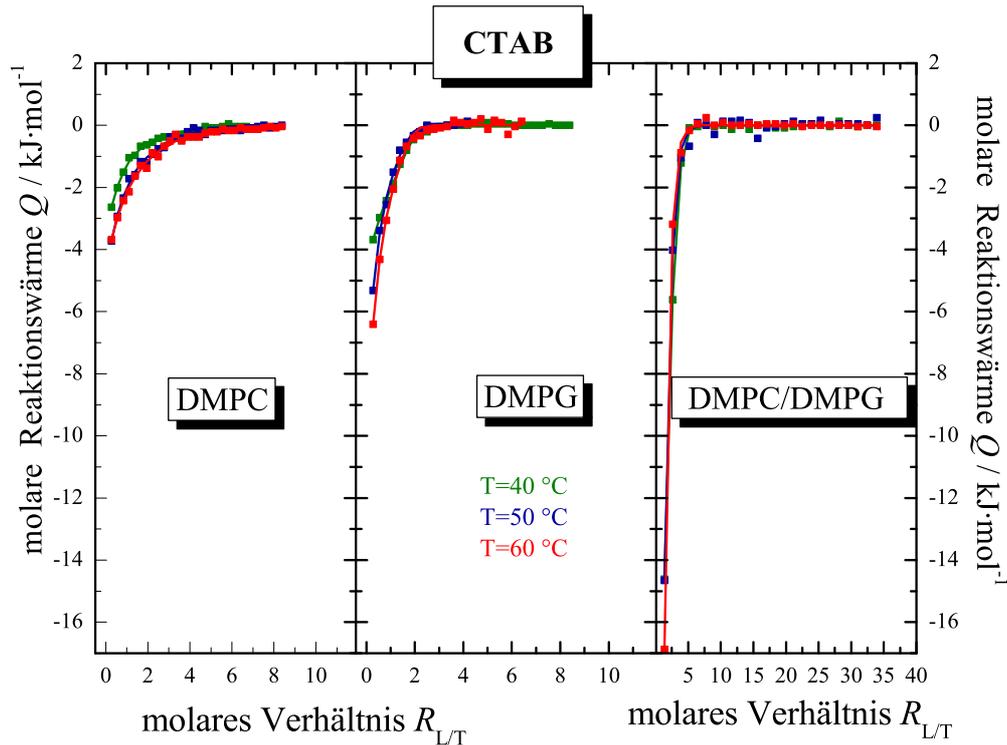


Abb. 3.12: Experimentell ermittelte Reaktionswärme Q (Quadrate) vs. molares Verhältnis Lipid/Tensid der Verteilung von CTAB (0.05 mM) in DMPC- (links, 25 - 30 x 1 μ l) 20 mM, DMPG- (mitte, 25–30x1 μ l) 20 mM und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikel 9 mM (rechts, 25 x 10 μ l) bei 40 °C, 50 °C und 60 °C in 0.1 M NaCl mit Kurvenanpassung^[275] (durchgezogene Linien)

auf den Einbau kationischer Tenside in Vesikel mit anionischer Oberflächenladung eine elektrostatische Anziehung, die zu einem sofortigen Einbau der Tensidmonomere in die DMPG-Vesikel und somit steileren Kurvenverlauf führt. Trotz großem Überschuss an abschirmenden Gegenionen in der Lösung (0.1 M NaCl) haben die elektrostatischen Wechselwirkungen einen bedeutenden Einfluss auf den Einbau der Alkyltrimethylammoniumbromide in die entsprechenden Lipidvesikel bzw. die Verteilung des Tensides zwischen Lipidmembran und wässriger Phase.

In Abb. 3.13 ist am Beispiel der DTAB-Lipid-Systeme die Abhängigkeit der ermittelten thermodynamischen Größen $\Delta H_T^{b/aq}$, $\Delta G_T^{b/i}$ und $T\Delta S_T^{b/i}$ als Funktion der Temperatur dargestellt.

Die Transferenthalpien für den Transfer der DTAB-Moleküle aus der wässrigen Phase in die Lipidvesikel sind im untersuchten Temperaturbereich negativ und die Beträge sind im Vergleich zu den Mizellisierungsenthalpien (Transfer aus der wässrigen Umgebung in die Mizellphase) bei gleicher Temperatur (Tab. 3.2) größer. Die Adsorption der Tenside an die Vesikel ist zusätzlich mit einer partiellen Dehydratation der ionischen Tensidkopfgruppe verbunden, was einen zusätzlichen exothermen Beitrag verursacht. Theoretisch sind auch zusätzliche Enthalpiebeiträge durch die Ionenpaarbildung zwischen anionischen PL und kationischem Tensid zu

erwarten. Ein Vergleich der Transferenthalpiewerte zwischen DTAB-DMPC (-14.2 bis -17.6 kJ/mol) und DTAB-DMPG (-13.8 bis -26.8 kJ/mol) zeigt eine Tendenz zu größeren Beträgen für den Transfer des DTAB in DMPG-Vesikel als in DMPC-Vesikel und einen „Zwischenstellung“ für die DTAB-PC/PG (-15.9 bis -21.8 kJ/mol). Die Auswertungen der TTAB-Lipid- und CTAB-Lipid-Systeme (Tab. 3.3) zeigen kaum Veränderungen der Transferenthalpien des jeweiligen Tensids in die verschiedenen Lipidvesikelspezies. Die bei der Demizellisierung beobachtete starke Temperaturabhängigkeit von $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$ ist nur sehr schwach bei den $\Delta H_T^{b/aq}$ -Beträgen im untersuchten Temperaturbereich ausgeprägt (Tab. 3.2). Die daraus ableitbaren ΔC_p -Werte der Demizellisierung für DTAB, TTAB und CTAB variieren zwischen ≈ 300 und ≈ 500 J/mol·K bei T=50 °C (Tab. 3.1).

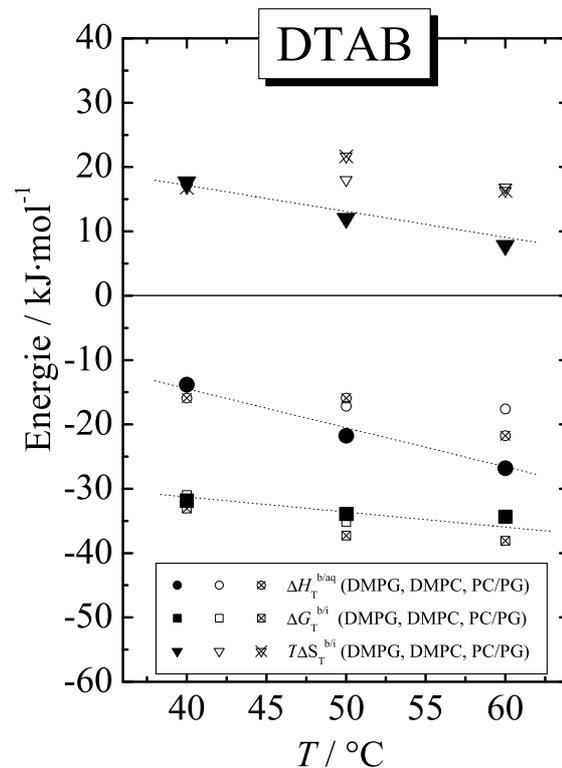


Abb. 3.13: Thermodynamik (molare Transferenthalpie (Kreise), molare Freie Transferenthalpie (Quadrate) und der Entropieterm $T\Delta S_{trans}$) der DTAB-Verteilung in die Lipidvesikel bestehend aus DMPC (offene Symbole), DMPG (geschlossene Symbole) und DMPC/DMPG (1:1) (gekreuzte Symbole) als Funktion der Temperatur mit linearer Kurvenanpassung (gestrichelte Linien) der Energiewerte des DMPG-DTAB-Gemisches

Aufgrund der relativ hohen Hauptphasenumwandlungstemperatur von DMPC und DMPG (24 °C und 23.5 °C^[111]) und der z.T. zusätzlichen Verschiebung von T_m zu höheren Temperaturen infolge des Tensideinbaus (Abschnitt 3.1.3) wurde auf die systematische Untersuchung der Temperaturabhängigkeit von $\Delta H_T^{b/aq}$ und $\Delta C_{p,T}^{b/aq}$ aus drei Messpunkten für alle untersuchten Systeme verzichtet. In der Abb. 3.13 ist durch die gestrichelte Linie (lineare Regression) die Verkleinerung von $\Delta H_T^{b/aq}$

des DTAB-DMPG-Systems mit zunehmender Temperatur als Beispiel dargestellt. Die aus den im Vergleich zu den berechneten Demizellierungsenthalpien größeren Beträgen der Transferenthalpien führen nach Gl. 2.16 zu $\Delta C_{p,T}^{b/aq}$ -Werten für den Transfer von DTAB in ein DMPG-Vesikel zwischen -400 und $-600 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$. T_0 , die extrapolierte Temperatur, bei der $\Delta H_T^{b/aq} = 0$ beträgt $\approx 10 \text{ }^\circ\text{C}$. Der Enthalpie-„Nulldurchgang“ der Tensidtransferenthalpien ist im Vergleich zu $\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$, dessen „Nulldurchgang“ bei $T_0=30 \text{ }^\circ\text{C}$ liegt, zu tieferen Temperaturen verschoben. $\Delta C_{p/T}^{b/aq}$ von DTAB in DMPG-Vesikel ist vom Betrag größer als $\Delta C_{p,miz}$, was darauf hinweist, dass mehr hydrophobe Oberfläche der Tensidmoleküle formiert in einer Mizelle als eingebaut in einem Vesikel dem direkten Kontakt zum Wasser ausgesetzt ist bzw. durch die dichtere Packung der Vesikel infolge des Tensideinbaus weniger hydrophobe Lipidoberfläche zum Wasser gerichtet ist.

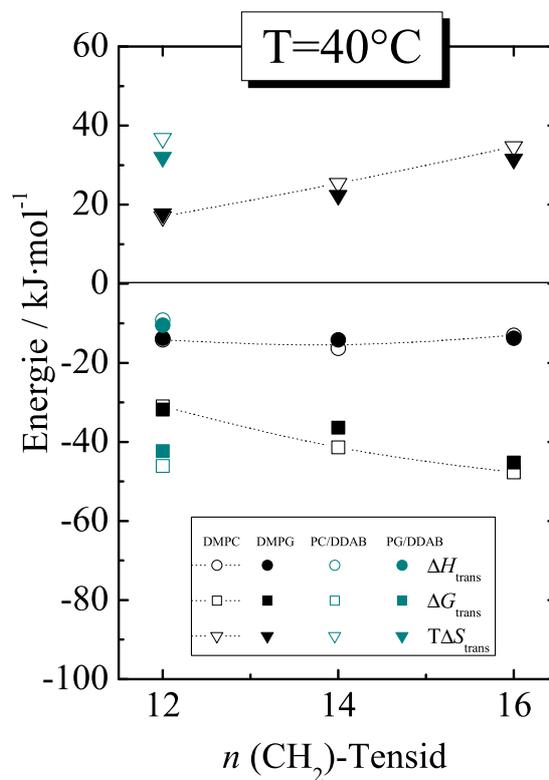


Abb. 3.14: Abhängigkeit der molaren Transferenthalpie, molaren Freien Transferenthalpie und des molaren Transferentropieterms $T\Delta S_{trans}$ der Verteilung der Alkyltrimethylammoniumbromide zwischen Bulkphase (0.1 M NaCl) und Lipidvesikel bestehend aus DMPC (offene Symbole), DMPG (geschlossene Symbole) bzw. zwischen DDAB und DMPG (farbige Symbole) in Abhängigkeit von der Kettenlänge des Tensids bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$

In Abb. 3.14 wurden die berechneten Energien für den Transfer der Tensidmoleküle in die Lipiddoppelschicht als Funktion der Alkylkettenlänge der untersuchten Tenside bei $T=40 \text{ }^\circ\text{C}$ aufgetragen. Es wird deutlich, dass die Transferenthalpie unabhängig von der Kohlenwasserstoffkettenlänge des Tensides ist, was im Kontrast zu der mit zunehmender Tensidalkylkettenlänge kleiner werdenden Mi-

zellsierungsenthalpie steht. Die annähernde Übereinstimmung der Transferenthalpiewerte aller untersuchten Tensid-Lipid-Systeme führt demzufolge auch zu vergleichbaren $\Delta C_{p,T}^{b/aq}$ -Werten (-400 und $-600 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$) der DTAB-, TTAB- und CTAB-Lipid-Gemische. Damit ist eine deutliche Annäherung an die ermittelten Wärmekapazitätswerte der Mizellisierung von CTAB gegeben, (CTAB mit $\Delta C_{p,miz} = -515 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$), was auf einen ähnlichen effektiven Schutz der hydrophoben CTAB-Ketten gegenüber dem Wasser sowohl im Mizellverbund als auch eingebaut im Vesikel schließen lässt.

Die Werte der Freien Transferenthalpien $\Delta G_T^{b/i}$ am Beispiel der DTAB-Lipidgemische in Abb. 3.13 sind negativ und variieren zwischen -31 und -38 kJ/mol und sind damit den Werten der Freien Mizellisierungsenthalpie von DTAB sehr nah. Die Bildung der Mizelle aus Tensidmonomeren und der Einbau der Tensidmonomere in Lipidvesikel ist mit der gleichen Änderung der Energie verbunden, was im Kontrast zu den bisher in der Literatur untersuchten anionischen Tensid-Lipid-Systemen steht, wo der Betrag der Freien Demizellisierungsenthalpie immer etwas größer als die der Transferenthalpie der Tensidmonomere in Lipidvesikel ist. Die Analyse von $\Delta G_T^{b/i}$ zeigt außerdem keinen Einfluss des Lipidtyps auf die $\Delta G_T^{b/i}$ -Werte und nur eine geringe Tendenz zu größeren Beträgen mit zunehmender Temperatur. Mit steigender hydrophober Kettenlänge des Tensids wird jedoch in Abb. 3.14 deutlich, dass die Freien Transferenthalpien entsprechend der ΔG_{miz} -Werte bis -52 kJ/mol für das CTAB-PC/PG-System bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$ abnehmen (Tab. 3.3).

Die molaren Transferentropien $\Delta S_T^{b/i}$ nehmen mit Temperaturerhöhung ab und zeigen wie die vorher diskutierten Energiewerte keine signifikanten Unterschiede des jeweiligen Tensids mit DMPC, DMPG oder dem Gemisch aus beiden. Der $T\Delta S_T^{b/i}$ -Term nimmt für die DTAB-Lipid-Systeme positive Werte zwischen 12 – 21 kJ/mol an und ist somit im Vergleich zu den Mizellisierungsentropien der jeweiligen Tenside bedeutend kleiner. Umgekehrt verhält sich die Abhängigkeit der Entropie von der Kettenlänge des Tensids. Mit Vergrößerung des hydrophoben Tensidmolekülteils vergrößert sich der Transferentropie-Term bishin zu 35 kJ/mol für CTAB/DMPG bei $T=50 \text{ }^\circ\text{C}$ (Tab. 3.3).

Insgesamt betrachtet ist der Verteilungsprozess der Alkyltrimethylammoniumbromide in DMPC- und DMPG-Vesikel im untersuchten Temperaturbereich sowohl von der Enthalpie als auch der Entropie getrieben. Mit Verlängerung der hydrophoben Alkylketten der Tenside nimmt der Entropieterm an Bedeutung für $\Delta G_T^{b/i}$ zu.

Die berechneten Verteilungskoeffizienten der Tenside zwischen der Grenzschicht und den verschiedenen Lipidvesikeln $P_T^{b/i}$ sind in Tab. 3.3 und in Abb. 3.15 bei $60 \text{ }^\circ\text{C}$ zusammengefasst. Es ist keine Temperaturabhängigkeit und kein Einfluss der Lipidvesikelladung erkennbar. Die $P_T^{b/i}$ -Werte für DTAB-DMPC, DTAB-DMPG und DTAB-PC/PG liegen zwischen $1.5 \cdot 10^5$ und $11 \cdot 10^5$. Trotz der erkennbaren Unterschiede der Reaktionswärme vs. $R_{L/T}$ -Kurvenverläufe zwischen den einzelnen kationischen Tensiden und dem zwitterionischen DMPC bzw. dem anionischen DMPG, weist der intrinsische Verteilungskoeffizient unter Berücksichtigung der elektrostatischen Wechselwirkungen und unter Annahme der idealen Mischbar-

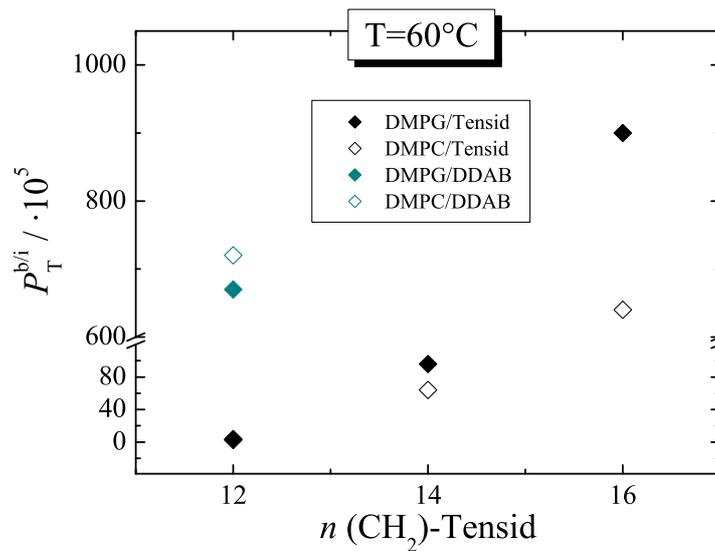


Abb. 3.15: Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/i}$) von der Kettenlänge des Tensids bei 60 °C

keit des Tensides sowohl in der Bulk- als auch in der Lipidphase als auch unter der Vorgabe, dass das Tensidmolekül keinen „flip-flop“ von der äußeren in die innere Lipidschicht der Vesikel vollzieht, keine charakteristischen Unterschiede auf. Dies bedeutet, dass keine unterschiedlichen spezifischen Wechselwirkungen z. B. zwischen der quarternären Ammoniumkopfgruppe der Tenside und der PC- bzw. PG-Lipidkopfgruppe nachzuweisen sind. Die apparenten Verteilungskoeffizienten der Tenside ($P_T^{b/aq}$) mit DMPC sind ca. zehnfach kleiner als die $P_T^{b/i}$ -Werte entsprechender Systeme aufgrund der elektrostatischen Abstoßung. Im Gegensatz dazu sind die apparenten Verteilungskoeffizienten der Tenside ($P_T^{b/aq}$) mit DMPG aufgrund der elektrostatischen Anziehungskräfte ca. zehnfach größer als die entsprechenden intrinsischen Verteilungskoeffizienten.

Mit zunehmender Kettenlänge der Tenside vergrößern sich der Verteilungskoeffizient des jeweiligen Tensids von DTAB über TTAB zum CTAB um eine Zehnerpotenz. Der Einbau der Tenside mit zunehmenden hydrophoben Molekülanteil ist in Lipidvesikel begünstigt. Ähnliche Ergebnisse wurden mit Gallensalzen (GS) unterschiedlicher Hydrophobie in DPPC-, DPPG- und POPC-Vesikel durch HILDEBRAND et al.^[189] ermittelt. Im Gegensatz zu den hier vorgestellten Ergebnissen zeigen diese Studien jedoch einen starken Einfluss der Lipidart auf den intrinsischen Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/i}$) zwischen negativ geladenen GS-Molekülen und DPPC- bzw. DPPG-Vesikeln. Die $P_T^{b/i}$ -Werte der GS-DPPG-Systeme sind im Vergleich zu den GS-DPPC-Systemen um zwei Zehnerpotenzen erhöht, was auf die stärkere Krümmung der PG-Vesikel zurückgeführt wurde und nach Studien von KELLER^[281] mit dem nichtionischen OG bestätigt wurde.

Zusätzlich wurde die Verteilung von DDAB in 0.1 M NaCl, dem zwei-C₁₂-kettigen

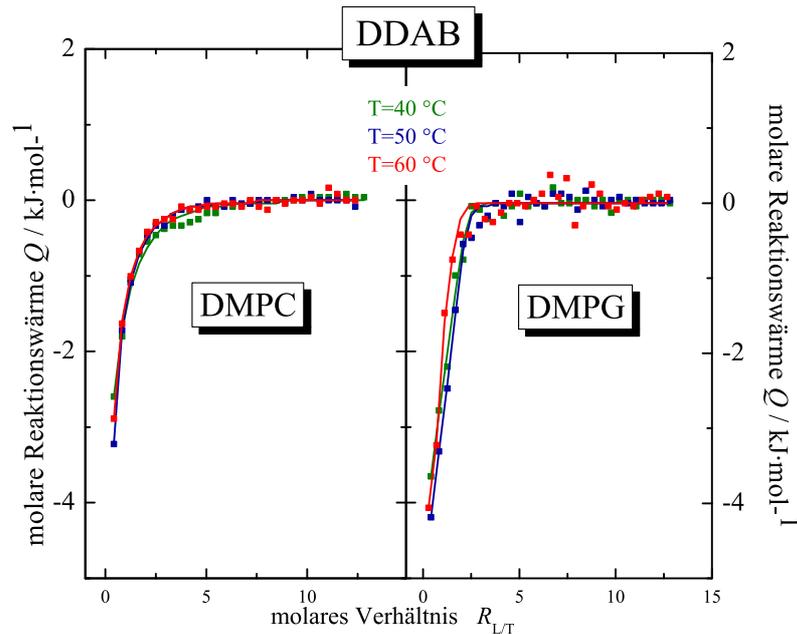


Abb. 3.16: Experimentell ermittelte Reaktionswärme \bar{Q} (Quadrat) vs. molares Verhältnis Lipid/Tensid der Verteilung von DDAB (0.1 mM) in DMPC- (links, 20 mM) und DMPG- Vesikel (rechts, 20 mM) durch 29 x 3 μ l Injektionsschritte bei 40 °C, 50 °C und 60 °C in 0.1 M NaCl mit Kurvenanpassung^[275] (durchgezogene Linien)

Alkyltrimethylammoniumbromid, zwischen Bulkphase und Lipidvesikel bestehend aus DMPC und DMPG untersucht, um einen direkten Vergleich mit den Verteilungsstudien an der Wasser-Luft-Grenzfläche, die im Abschnitt 3.2.1 vorgestellt werden, erzielen zu können (Anhang A.1.3.2). Auf die Untersuchung der Thermodynamik der DDAB-Mizellisierung dieser Substanz musste aufgrund der sehr niedrigen *cvc* und dem kleinen Signal-Rausch-Verhältnisses der Titration von vesikulären DDAB-Suspension in das Lösungsmittel verzichtet werden. Nach MATSUMOTO^[6] beträgt die *cvc* von DDAB im Wasser ≈ 0.014 mM. In der Literatur existieren jedoch sehr unterschiedliche Angaben. JUNQUERA et al.^[282] und andere^[5, 283–285] bestimmten deutlich größere *cvc*-Werte im Bereich von 0.05–0.18 mM. Fest steht, dass sich nach Überschreiten dieser kritischen Konzentration statt Mizellen kleine runde Partikel mit einem Durchmesser von 10–12 nm bilden, die einen vesikulären Aufbau besitzen^[286]. Erst ab einer Konzentration von 0.1 mM DDAB in 0.1 M NaCl in der Reaktionszelle konnten auswertbare Verteilungsexperimente durchgeführt werden.

In Abb. 3.16 sind die experimentell ermittelten Reaktionswärmen \bar{Q} als Funktion von $R_{L/T}$ mit den Kurvenanpassungen zusammengefasst. Auch hier wird ersichtlich, dass die Titrationskurvenform charakteristische Unterschiede zwischen DDAB/DMPC und DDAB/DMPG aufgrund des elektrostatisch modulierten Einbaus der Tensidmonomere in entsprechende Lipidvesikel aufweist. Die Analyse der Energiewerte in Tab. 3.4 und Abb. 3.14 (farbig gekennzeichneten Symbole) zeigt eine geringe Vergrößerung der negativen Transferenthalpiewerte der DDAB-

Tensid	Lipid	T °C	$P_T^{b/i}$	$P_T^{b/aq}$	$\Delta H_T^{\circ,b/aq}$ kJ/mol	$\Delta G_T^{\circ,b/i}$ kJ/mol	$T\Delta S_T^{\circ,b/i}$ kJ/mol
DTAB	DMPC	40	$1.5 \cdot 10^5$	$9.4 \cdot 10^4$	-14.2	-31.0	17.0
		50	$4.5 \cdot 10^5$	$2.2 \cdot 10^5$	-17.1	-35.2	18.0
		60	$2.5 \cdot 10^5$	$1.4 \cdot 10^5$	-17.6	-34.3	16.9
	DMPG	40	$1.9 \cdot 10^5$	$4.4 \cdot 10^6$	-13.8	-31.8	17.7
		50	$3.0 \cdot 10^5$	$7.1 \cdot 10^6$	-21.8	-33.9	12.0
		60	$2.6 \cdot 10^5$	$5.0 \cdot 10^6$	-26.8	-34.3	7.8
	PC/PG (1:1)	40	$3.0 \cdot 10^5$	$2.2 \cdot 10^6$	-15.9	-33.1	16.8
		50	$11 \cdot 10^5$	$8.3 \cdot 10^6$	-15.9	-37.3	21.6
		60	$9.2 \cdot 10^5$	$7.1 \cdot 10^6$	-21.8	-38.1	16.3
TTAB	DMPC	40	$8.9 \cdot 10^6$	$2.4 \cdot 10^5$	-16.3	-41.4	25.4
		50	$6.3 \cdot 10^6$	$1.8 \cdot 10^5$	-20.5	-41.9	21.5
		60	$6.4 \cdot 10^6$	$1.8 \cdot 10^5$	-23.0	-43.5	20.5
	DMPG	40	$1.2 \cdot 10^6$	$1.0 \cdot 10^7$	-14.2	-36.4	22.4
		50	$2.6 \cdot 10^6$	$1.4 \cdot 10^7$	-21.8	-39.8	18.0
		60	$9.6 \cdot 10^6$	$4.8 \cdot 10^7$	-20.9	-44.4	23.6
	PC/PG (1:1)	40	$2.0 \cdot 10^6$	$1.5 \cdot 10^7$	-23.0	-37.7	14.5
		50	$1.0 \cdot 10^7$	$8.2 \cdot 10^7$	-23.5	-43.5	19.7
		60	$1.7 \cdot 10^7$	$1.2 \cdot 10^8$	-30.1	-46.1	16.2
CTAB	DMPC	40	$9.3 \cdot 10^7$	$3.0 \cdot 10^6$	-13.0	-47.7	34.7
		50	$7.6 \cdot 10^7$	$3.3 \cdot 10^6$	-20.9	-48.6	27.9
		60	$6.4 \cdot 10^7$	$2.8 \cdot 10^6$	-23.0	-49.8	26.8
	DMPG	40	$3.6 \cdot 10^7$	$2.6 \cdot 10^8$	-13.8	-45.2	31.5
		50	$9.8 \cdot 10^7$	$7.0 \cdot 10^8$	-14.7	-49.4	34.9
		60	$9.0 \cdot 10^7$	$6.5 \cdot 10^8$	-18.4	-50.7	32.5
	PC/PG (1:1)	40	$4.0 \cdot 10^7$	$3.0 \cdot 10^8$	-23.8	-45.6	21.5
		50	$7.3 \cdot 10^7$	$5.4 \cdot 10^8$	-22.6	-43.5	19.7
		60	$1.4 \cdot 10^8$	$1.1 \cdot 10^8$	-25.1	-51.9	26.9

Tab. 3.3: Molare Transferenergien $\Delta H_T^{\circ,b/aq}$, $\Delta G_T^{\circ,b/aq}$ und $T\Delta S_T^{\circ,b/i}$ sowie $P_T^{b/i}$ und $P_T^{b/aq}$ der Tensidverteilung von DTAB, TTAB bzw. CTAB zwischen 0.1 M NaCl und DMPC-, DMPG- bzw. DMPC/DMPG(1:1)-Vesikel als Funktion der Temperatur

Tensid	Lipid	T °C	$P^{b/i}$	$P_T^{b/aq}$	$\Delta H_T^{\circ,b/aq}$ kJ/mol	$\Delta G_T^{\circ,b/i}$ kJ/mol	$T\Delta S_T^{\circ,b/i}$ kJ/mol
DDAB	DMPC	40	$4.6 \cdot 10^7$	$2.9 \cdot 10^6$	-9.2	-46.1	36.8
		50	$7.6 \cdot 10^7$	$4.6 \cdot 10^6$	-8.8	-48.6	40.0
		60	$7.2 \cdot 10^7$	$3.8 \cdot 10^6$	-7.9	-50.2	42.0
	DMPG	40	$1.2 \cdot 10^7$	$1.2 \cdot 10^8$	-10.5	-42.3	32.0
		50	$1.1 \cdot 10^7$	$1.0 \cdot 10^8$	-12.6	-43.5	31.1
		60	$6.7 \cdot 10^7$	$6.4 \cdot 10^8$	-10.1	-49.8	40.0

Tab. 3.4: Molare Transferenergien $\Delta H_T^{\circ,b/aq}$, $\Delta G_T^{\circ,b/i}$ und $T\Delta S_T^{\circ,b/i}$ sowie $P_T^{i/aq}$ und $P_T^{b/aq}$ der DDAB-Verteilung zwischen 0.1 M NaCl und DMPC- bzw. DMPG-Vesikel als Funktion der Temperatur

Lipid-Gemische im Vergleich zu den DTAB-Lipid-Systemen, die für das DDAB-DMPC-System zwischen -7.9 und -9.2 kJ/mol und für das DDAB-DMPG-System zwischen -10.1 und -12.6 kJ/mol variieren. Es ist auch hier kein deutlicher Unterschied von $\Delta H_T^{b/aq}$ zwischen DMPC und DMPG und desweiteren kaum eine Temperaturabhängigkeit erkennbar. Mit den kleineren Beträgen von $\Delta H_T^{b/aq}$ geht eine Verkleinerung der negativen $\Delta C_{p,T}^{b/i}$ -Beträge des Transfers von DDAB von der vesikulären Struktur in die Lipidvesikel einher.

Im Gegensatz dazu weisen die negativen Freien GIBBS-Enthalpie-Werte der DDAB-Lipidsysteme bedeutend größere Beträge aufgrund des Vorhandenseins zweier hydrophober Ketten in Vergleich zum einkettigen DTAB auf ($\Delta G_T^{b/i} = -42$ bis -50 kJ/mol), was auf das Vorhandensein von DDAB-Monomeren in der vorgelegten Tensidlösung schließen lässt. Der $T\Delta S_T^{b/i}$ -Term zeigt eine deutliche Vergrößerung der positiven Werte mit zunehmender Temperatur und liegt insgesamt mit 31 bis 42 J/mol·K weit über den Werten der DTAB-Lipid-Systeme.

Die ermittelten intrinsischen Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/i}$) für DDAB-PC betragen 4.6 – $7.6 \cdot 10^7$ und für DDAB-PG 1.1 – $6.7 \cdot 10^7$. Sie sind als farbige Symbole in Abb. 3.15 dargestellt und in der Größenordnung mit den $P_T^{b/i}$ -Werten des einkettigen CTAB in DMPC- und DMPG-Vesikel vergleichbar.

In der Literatur existieren bislang keine thermodynamischen Verteilungsstudien der verwendeten kationischen Tenside mit DMPC- bzw. DMPG-Vesikel. INOUE et. al.^[287] ermittelte unter Verwendung der statischen Lichtstreuungsmethode für TTAB bzw. CTAB die Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser und DPPC-Vesikel ohne Berücksichtigung der Elektrostatik bei einer Temperatur oberhalb der Hauptphasenumwandlungstemperatur des Lipids in reinem Wasser. Es wurden Werte von $9.6 \cdot 10^3$ bzw. von $1.8 \cdot 10^4$ ermittelt, die im Vergleich zu den mit der ITC ermittelten $P_T^{b/i}$ -Werten bedeutend kleiner sind. PANTALER et. al.^[188] berechnete einen Verteilungskoeffizienten von $1.3 \cdot 10^3$ für DTAB in Erythrozytenmembranen bei 37 °C bei einer DTAB-Konzentration, die zur Lyse der Vesikel führt.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der ITC wurde die Verteilung der kationischen Tenside DTAB, TTAB und CTAB in DMPC- und DMPG-Vesikeln bzw. in DMPC/DMPG 1:1 Mischvesikeln in 0.1 M NaCl in einem Temperaturbereich von 40–60 °C untersucht. Durch die Anwendung der von KELLER^[275] entwickelten Fitroutine zur Auswertung der experimentell ermittelten Reaktionswärmen unter Annahme der idealen Mischbarkeit des Tensides in der Bulk- und Vesikelphase, unter der Berücksichtigung der elektrostatischen Wechselwirkungen sowie der Annahme, dass das Tensidmolekül bei 60 °C noch keinem nennenswerten „flip-flop“ von der äußeren in die innere PL-Schicht der Vesikel unterliegt, wurden der Verteilungskoeffizient $P_T^{b/i}$ und $P_T^{b/aq}$ sowie die Energiewerte für $\Delta H_T^{b/aq}$, $\Delta G_T^{b/i}$ und $T\Delta S_T^{b/i}$ ermittelt.

Ein Vergleich der Verteilungskoeffizienten ergibt mit zunehmender Kettenlänge des Tensids eine Vergrößerung in der Reihenfolge von DTAB < TTAB < CTAB \approx DDAB um ca. eine Zehnerpotenz. Es wurden keine signifikanten Unterschiede von $P_T^{b/i}$ zwischen den einzelnen kationischen Tensiden mit den zwitterionischen DMPC- bzw. den anionischen DMPG-Vesikel und dem Lipidgemisch erfasst. Die apparenten Verteilungskoeffizienten aller Systeme, ermittelt ohne elektrostatischer Korrektur, zeigt eine deutliche Verkleinerung der Tensid-DMPC-Werte aufgrund der elektrostatischen Abstoßung zwischen den kationischen Mischvesikeln und den verbleibenden kationischen Monomeren bzw. eine Vergrößerung der Tensid-DMPG-Verteilungskoeffizienten infolge der elektrostatischen Anziehung zwischen anionischen PL-Vesikeln und kationischen Tensidmonomeren.

Die Transferenthalpien der einzelnen Tenside verändern sich vom DTAB zum CTAB sowie zwischen den verschiedenen Lipidvesikeln kaum. Sie weisen mit Temperaturerhöhung nur geringfügig kleinere Werte auf. Die Transferenthalpien des Verteilungsprozesses sind etwas kleiner als die der Mizellisierungsenthalpien. Die Transferenthalpien der DDAB-Lipidsysteme sind jedoch bedeutend größer.

Mit zunehmender Kettenlänge der Tenside verkleinern sich die Freien GIBBS-Enthalpie-Werte und vergrößern sich die Entropieterme. Sie zeigen eine größere Temperaturabhängigkeit aber keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Oberflächenladungen der PL-Vesikel. Die treibende Kraft der Alkyltrimethylammoniumbromid-Verteilung zwischen der wässrigen Phase und der Lipidphase ist sowohl enthalpischer als auch entropischer Natur.

In dem kleinen Temperaturbereich von 40 °C bis 60 °C sind die Transferenthalpienwerte und Verteilungskoeffizienten schwach temperaturabhängig. Nach den bisher veröffentlichten Lipid-Tensid-Verteilungsstudien ist mit zunehmender Temperatur eine Verkleinerung der Transferenthalpie und der Verteilungskoeffizienten zu erwarten. Nach Studien an SDS mit POPC-Vesikeln^[275] erfolgt mit zunehmender Temperatur ein „flip-flop“ der Tensidmoleküle von der äußeren in die innere Lipidschicht der Vesikel. Die ermittelten Verteilungskoeffizienten für SDS variieren zwischen 4.5 und $1.5 \cdot 10^6$ im Temperaturbereich von 25–65 °C. Die Freien GIBBS-Enthalpienwerte und Entropiewerte sind in guter Übereinstimmung mit den berechneten Werten für die DTAB-Lipid-Systeme. Unter der Annahme, dass auch bei den

hier verwendeten kationischen Tensiden ein „flip-flop“ der Alkyltrimethylammoniumbromide innerhalb des Bilayer stattfindet, sollte der Verteilungskoeffizient bei höheren Temperaturen kleiner sein.

3.1.3 Solubilisierung der Lipidvesikel in Mischmizellen

Untersuchungen mit ITC

Die ITC diente weiterhin zur Charakterisierung der Vesikel-Mizell-Phasenumwandlung der DMPC-, DMPG- und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikel mit den Alkyltrimethylammoniumbromiden in 0.1 M NaCl bei 30 °C und 60 °C (Abschnitt A.1.3.3). Wie im allgemeinen Phasendiagramm der Vesikel-Mizell-Umwandlung (Abb. 2.14) ersichtlich, führen die Solubilisierungsexperimente durch die drei Bereiche des Phasendiagramms. Dafür wurde die zu injizierende Tensidkonzentration von DTAB, TTAB und CTAB weit oberhalb der *cmc* des jeweiligen Tensids gewählt.

In Abb. 3.17 ist je ein Beispiel der Solubilisierung von DMPC-Vesikeln (links) bzw. DMPG-Vesikeln (rechts) mit DTAB bei 60 °C in 0.1 M NaCl zu sehen. Die mizellare DTAB-Lösung wurden in 100×1µl (links) bzw. in 100×2.5µl (rechts) Injektionsschritten in die Messzelle titriert, die die Lipiddispersion in definierter Konzentration von 2 mM enthielt.

Anhand der Heizleistung-Zeit-Diagramme (Abb. 3.17A und A') und anhand der durch die Integration der Titrationspeaks ermittelten Reaktionswärmern (Abb. 3.17B und B') ist erkennbar, dass die DTAB-Zugaben in DMPC-Vesikel ausschließlich endotherm von +5 kJ/mol bis +13 kJ/mol verlaufen. Zu Beginn der Titration von DTAB in DMPG-Vesikel zeigen die Peaks deutlich eine Überlagerung von endo- und exothermen Prozessen, die in einem Reaktionswärmeverlauf von -17 kJ/mol bis +13 kJ/mol resultieren. Im vesikulären Bereich des Solubilisierungsexperimentes finden demnach verschiedene elementare Prozesse nacheinander oder gleichzeitig statt.

Die Reaktionswärmern dieses Bereiches setzen sich aus den Enthalpiebeiträgen der Demizellisierung von DTAB (gelbe Kurve) ($\Delta H_T^{m/aa}$) aufgrund des vollständigen Zerfalls der Tensidmizellen in Monomere sowie den partiellen Transferenthalpiebeiträgen des Tensidmonomers in die Vesikel ($\Delta H_T^{b/aa}$) zusammen (rote Kurve). $\Delta H_T^{b/aa}$ ist dabei vom Verteilungskoeffizienten $P_T^{b/aa}$ des Tensides zwischen wässriger und Vesikel-Phase abhängig. Aufgrund des Aufbaus einer positiven Oberflächenladung im Zuge des Einbaus von DTAB in DMPC-Vesikel werden die freien DTA^+ -Ionen in der wässrigen Phase abgestoßen. Trotzdem sind die Tensidmonomere aufgrund des hydrophoben Effektes bestrebt, sich bevorzugt in Lipidvesikel einzubauen, um sich nicht frei in der wässrigen Lösung zu bewegen, sodass das Gleichgewicht auf die Seite des Tensideinbaus in Lipidvesikel verschoben wird. Bei geringer Tensidkonzentration überwiegt der Anteil der Transferenthalpie des Tensides von der wässrigen in die vesikuläre Phase. Die Transferenthalpie nimmt zu Beginn der Injektionen aufgrund der sich entwickelnden elektrostatischen Abstoßung am Beispiel der Tensid-DMPC-Systeme ab, sodass die Reaktionswärmern zu

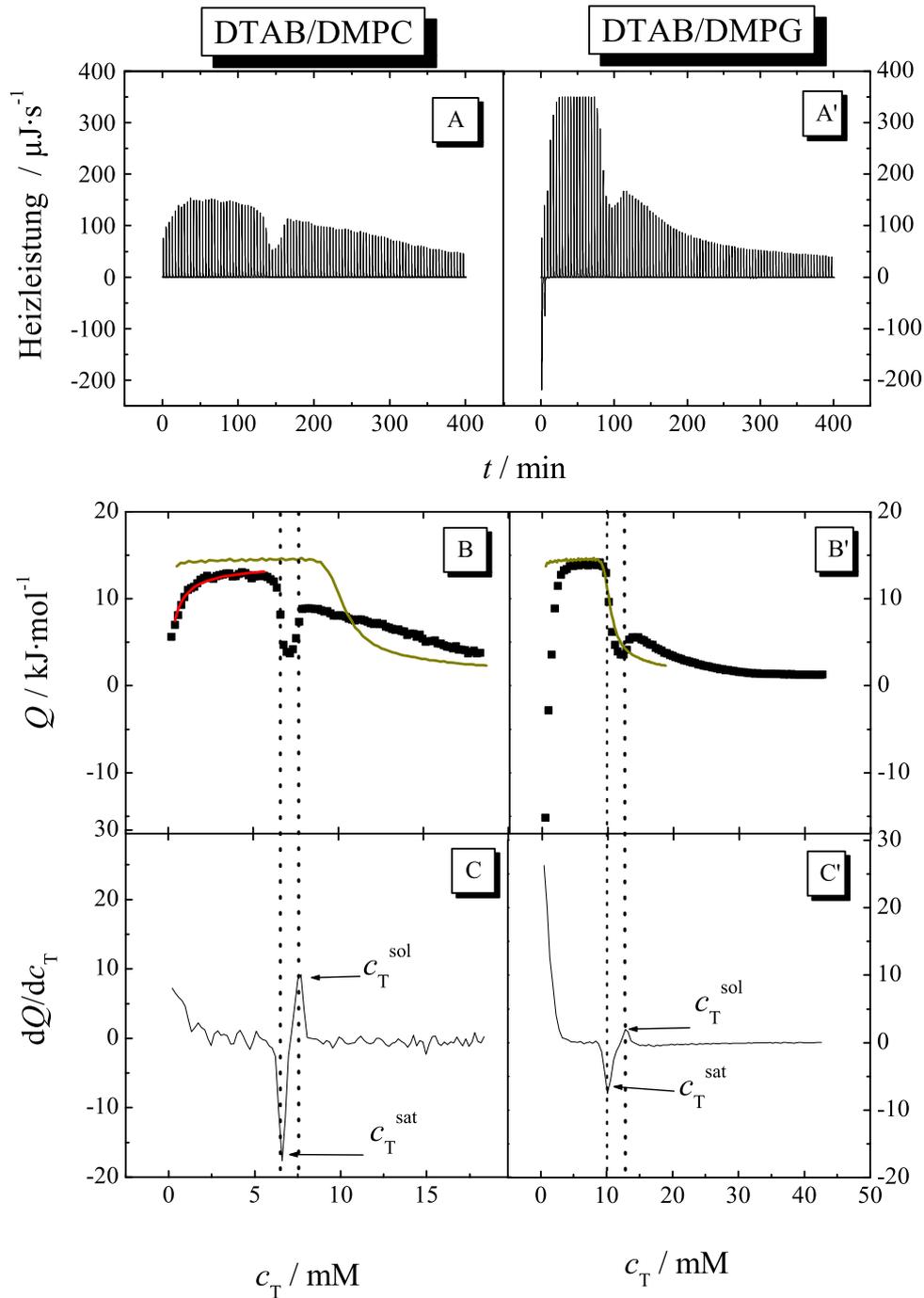


Abb. 3.17: ITC-Solubilisierungsexperiment: Titration einer 250 mM mizellaren DTAB-Lösung in eine vesikuläre 2 mM DMPC-Dispersion ($100 \times 1 \mu\text{l}$, links) bzw. in eine 2 mM DMPG-Dispersion ($100 \times 2.5 \mu\text{l}$, rechts) in 0.1 M NaCl bei 60°C . A: Heizleistung vs. Zeit, B: molare Reaktionswärme Q als Funktion der Tensidkonzentration c_T , gelbe Kurve: Demizellierung von DTAB, C: 1. Ableitung von B mit den Extrema c_T^{sat} und c_T^{sol}

Beginn des Solubilisierungsexperimentes stark ansteigen. Die weitere Zugabe von Tensidmolekülen in die Reaktionszelle führt bei einem mit Tensid angereichertem Vesikel zu einem nur noch geringen weiteren Einbau des Tensides und die Reaktionswärmen stellen sich infolge auf einen konstanten endothermen Wert ein. Die kationischen Tensid-DMPG-Systeme weisen zu Beginn des Solubilisierungsexperimentes einen steileren Anstieg des Reaktionswärmeverlaufs auf. Der partielle Transfer der vollständig demizellisierten Tensidmoleküle in DMPG-Vesikel ist während der ersten Titration durch elektrostatische Anziehung verstärkt. Eine weitere Zugabe an DTAB zu den MV führt nur noch zu einem verringerten Einbau der Tensidmoleküle aufgrund der Neutralisation der Oberflächenladung bzw. der anschließenden positiven Aufladung der Vesikel bei größerem Tensidanteil als Lipidanteil in der Membran. Die Tensideinlagerung in die Vesikel nimmt ab, sodass sich die Brutto-Reaktionswärme Q auf einen konstanten endothermen Wert einpegelt, der in diesem Bereich vor allem aus der Demizellisierungsenthalpie resultiert. Die Höhe der Heizleistungspeaks korreliert jedoch aufgrund eines komplexen Zusammenspiels exo- und endothermer Prozesse unterschiedlicher Kinetik während der ersten Injektionen nicht mit den integrierten Reaktionswärmen Q .

Die quantitative Beschreibung der normalisierten Reaktionswärme des mischvesikulären Bereichs (Q_T^b) durch die Zugabe von mizellarer DTAB-Lösung zu DMPC-Vesikeln in der Reaktionszelle ist gegeben durch:

$$Q_T^b = V \left(c_T^b - \left(1 - \frac{\Delta V}{V} \right) \hat{c}_T^b \right) \cdot \Delta H_T^{b/aaq} + \Delta H_{T,verduen}^b + \Delta H_T^{m,aaq} \quad (3.23)$$

wobei $\Delta H_{T,verduen}^b$ der normalisierten Verdünnungswärme, V dem Volumen der Reaktionszelle, ΔV dem Injektionsvolumen und \hat{c}_T^b bzw. c_T^b der Gleichgewichtskonzentration von membrangebundenen Tensid vor bzw. nach der Injektion entsprechen. Diese wurden nach Gl. 3.15 unter der Annahme der idealen Mischbarkeit des Tensides in allen Phasen berechnet. Der apparente Verteilungskoeffizient des Tensides zwischen Wasser- und Lipidphase ($P_T^{b/aaq}$) ergibt sich aus dem intrinsischen Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/i}$) entsprechender Temperatur (Tab. 3.3) nach Gl. 3.18 und Gl. 3.19. Durch Einsetzen der Demizellisierungsenthalpie $\Delta H_{DTAB}^{m,aaq}$ von DTAB bei 60 °C aus Tab. 3.2 (+14.8 kJ/mol) ist der vesikuläre Bereich des Solubilisierungsexperimentes simulierbar (Abb. 3.17A, rote Kurve). Die dabei ermittelte Transferenthalpie der DTAB-Monomere von der Bulk- in die DMPC-Vesikelphase aus den Solubilisierungsexperimenten beträgt $\Delta H_{DTAB}^{b/aaq} = -17.2$ kJ/mol, der ermittelte intrinsische Verteilungskoeffizient $P_{DTAB}^{b/i} = 2.0 \cdot 10^5$ bei einer Verdünnungswärme von $\Delta H_{DTAB,verduen}^b = 0.0006$ kJ/mol, was in guter Übereinstimmung mit dem durch das Verteilungsexperiment ermittelten Transferenthalpiewert und Verteilungskoeffizienten (Tab. 3.3) steht.

Mit zunehmender Tensidkonzentration und zunehmender Temperatur ist das Permeationsvermögen der Tensidmoleküle in die Lipidvesikel erhöht. Zur Berechnung der Reaktionswärme im vesikulären Bereich wurde die Gesamt-Lipidkonzentration

ohne Korrektur durch den „Lipidzugänglichkeitsfaktor“ γ verwendet, was den intrinsischen Verteilungskoeffizienten, ermittelt anhand der Solubilisierungsdaten, aufgrund der größeren Lipidkonzentration geringfügig erniedrigt.

Mit fortschreitender Zugabe mizellarer DTAB-Lösung zur DMPC-Dispersion (Abb. 3.17B und B') kommt es ab einer Tensidkonzentration von ≈ 6 mM zu einer deutlichen Abnahme der endothermen Titrationspeaks und damit der Reaktionsenthalpien. Ab einer Tensidkonzentration von ≈ 7 mM vergrößern sich die Reaktionswärmen wieder und bleiben weiterhin endotherm. Dieser prinzipielle Reaktionswärmeverlauf ist auch auf das DTAB-DMPG-System übertragbar. Die Änderung der Reaktionswärme in kleinere endotherme Titrationspeaks mit DMPG ist für den DTAB-Konzentrationsbereich von 10 mM bis 12 mM ermittelt worden. Die beiden Wendepunkte im Heizleistungs-Zeit-Diagramm sowie Reaktionswärmeplot spiegeln die Sättigungs- und Solubilisierungsphasengrenze c_T^{sat} und c_T^{sol} der Vesikel-Mizell-Phasenumwandlung wider. c_T^{sat} entspricht hierbei der kritischen Tensidkonzentration der Sättigung der Vesikel. Die gebildeten Mischvesikel der Zusammensetzung $R_T^{b,sat}$ können keine weiteren Tensidmoleküle aufnehmen und beginnen ab dieser Tensidkonzentration, in Mischmizellen der Zusammensetzung $R_T^{m,sol}$ zu zerfallen. Die endothermen Reaktionswärmen des Koexistenzbereiches resultieren aus dem Transfer der Tensid- und Lipidmoleküle von tensidgesättigten MV zu lipidgesättigten MM. Zusätzlich verteilen sich freie Tensidmoleküle aus der Spritze, v.a. bei Tensiden großer cmc , zwischen wässriger Phase und MM in der Zelle, weil die Tensidmonomerkonzentration innerhalb der Spritze (cmc) größer als die in der Zelle ($c_T^{aq,0}$) ist. Die Reaktionsenthalpie wird somit durch die Tensidtransferenthalpie aus der Vesikelphase in die wässrige Umgebung ($b \rightarrow aq$, $-\Delta H_T^{b/aq}$), der Mizellisierung ($aq \rightarrow m$, $\Delta H_T^{m/aq}$) und der gleichzeitig wirksamen Transferenthalpie der Lipidmoleküle aus dem Vesikel in die Mizellen ($b \rightarrow m$, $\Delta H_L^{m/b}$) beeinflusst. Die quantitativen Beiträge hängen von der Zusammensetzung der vesikulären, mizellären und wässrigen Phasen ab, die durch $R_T^{b,sat}$, $R_T^{m,sol}$ und $c_T^{aq,0}$ gegeben sind. Bei konstanten Beiträgen innerhalb des Koexistenzbereiches sind die Reaktionswärmen im Koexistenzbereich Q_T^{b+m} nach HEERKLOTZ et al.^[171] in Übereinstimmung mit der Phasenregel annähernd konstant.

Die stetig abnehmenden endothermen Reaktionsenthalpien des dritten, mischmizellären Bereiches der Solubilisierung resultieren schließlich aus dem teilweisen Zerfall der Mizellen aus der Spritze zur Erhaltung des Tensidverteilungsgleichgewichtes zwischen wässriger und mischmizellarer Phase. Desweiteren treten noch Mischungswärmen zwischen reinen Tensidmizellen und Mischmizellen auf. Im Gegensatz dazu resultieren bei Tensid-Lipid-Gemischen mit viel geringeren Tensid- cmc -Werten nach HEERKLOTZ et al.^[171] die geringen Reaktionswärmen im mischmizellären Bereich aus einer „nichtidealen Mischbarkeit“ oder einem Mizellübergang zweiter Ordnung.

Eine quantitative Beschreibung des Koexistenzbereiches und mischmizellären Bereiches der Solubilisierung von ionischen Tensiden mit Phospholipiden erfolgte durch KELLER^[288] et al. am System POPC/SDS.

Mit der Bildung der 1. Ableitung der Reaktionswärme nach der Tensidkonzentra-

tion (Abb. 3.17C und C') ist die exakte Bestimmung der kritischen Größen c_T^{sat} und c_T^{sol} -Werte möglich, die zur Erstellung der Phasendiagramme von DTAB mit DMPC-, DMPG-Vesikel und DMPC/DMPG (1:1)-Mischvesikel bei 30 °C und 60 °C (Abb. 3.18 bis Abb. 3.20) verwendet wurden. Beispiele des Reaktionswärmeverlaufs als Funktion der Tensidkonzentration sind für die verschiedenen Tensid/DMPC- bzw. /DMPG-Systeme bei 30 °C sowie 60 °C im Anhang Abb. B.1– B.4 dargestellt. Diese dienen der Erstellung der Phasendiagramme. Zur Verifizierung der Phasengrenzen der unterschiedlichen Tensid-Lipid-Systeme wurden die durch DLS ermittelten Phasenübergänge in die Diagramme zusätzlich eingetragen. Diese Ergebnisse werden am Ende dieses Abschnittes diskutiert.

Die lineare Regression der experimentell ermittelten c_T^{sat} und c_T^{sol} -Werte nach Gl. 2.4 und 2.5 führen zu den $R_T^{b,sat}$ mit $c_T^{aq,sat}$ bzw. $R_T^{m,sol}$ mit $c_T^{aq,sol}$ -Werten, die in Tab. 3.6 zusammengefasst sind. Der $R_T^{b,sat}$ -Wert am Beispiel des DTAB/DMPC-Systems bei 30 °C bzw. 60 °C beträgt 0.52 bzw. 0.54. DMPC-Vesikel können somit vor der Solubilisierung 0.52–0.54 DTAB-Moleküle pro Lipidmolekül ab einer freien Tensidkonzentration von $c_T^{aq,sat} = 3.18$ mM bei 30 °C bzw. $c_T^{aq,sat} = 5.64$ mM bei 60 °C aufnehmen. Analog dazu ergibt sich aus den $R_T^{m,sol}$ des DTAB/DMPC-Systems bei 30 °C bzw. 60 °C, dass eine Mizelle wenigstens 0.62 bzw. 0.90 Tensidmoleküle pro DMPC-Molekül enthalten muss. Da $c_T^{aq,sat} = c_T^{aq,sol} = c_T^{aq,0}$ ist für das Beispiel DTAB/DMPC bei 30 °C $c_T^{aq,0} \approx 3.41$, wobei die mit $c_T^{aq,0}$ ermittelbare lineare Regression zu relativ großen Abweichungen der $R_T^{b,sat}$ - und $R_T^{m,sol}$ -Werte führt. Es kann davon ausgegangen werden, dass die tatsächlichen $c_T^{aq,sat}$ und $c_T^{aq,sol}$ -Werte bei geringeren Tensidkonzentrationen als die durch die lineare Regression ermittelten Werte liegen, da bei ionischen und nichtionischen Tensiden mit abnehmender Lipidkonzentration die kritischen c_T^{sat} - und c_T^{sol} -Werte abnehmen und von der Linearität der Phasengrenzen abweichen. Diese Tendenz ist besonders bei den experimentellen Daten der CTAB/Lipid-Systeme beobachtet worden, was die im Vergleich zu den *cmc*-Daten von CTAB relativ großen $c_T^{aq,sat}$ und $c_T^{aq,sol}$ -Werte, ermittelt aus der linearen Regression der Messpunkte bei größeren Lipidkonzentrationen, erklärt. Solubilisierungsstudien mit Gallensalzen^[136] und SDS bzw. DTAB mit DMPC in Wasser^[186] zeigen diese Abweichungen der Messdaten vom theoretisch linearen Verhalten der c_T^{sat} - und c_T^{sol} -Werte ebenfalls.

Aus der geringen Vergrößerung von $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ mit zunehmender Kettenlänge der Tenside bei 30 °C ist erkennbar, dass mehr Tensid pro Lipidmolekül eingebaut werden kann, je hydrophober das „Gastmolekül“ ist. Die CTAB/Lipidssysteme zeigen bei 60 °C jedoch keine Vergrößerung der $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ -Werte im Vergleich zu den TTAB/Lipidssystemen bei entsprechender Temperatur. Das abweichende Verhalten von CTAB bedeutet für das CTAB/Lipid-Verhältnis im MV bei 60 °C ein gleichbleibender bis geringerer Anteil an CTAB im MV und in der MM mit zunehmender Temperatur und damit eine vergrößerte Empfindlichkeit der Lipidvesikel gegenüber CTAB als gegenüber TTAB und DTAB bei 60 °C. Die genaue Ursache dafür ist z.Z. noch unklar. Die verstärkte Unordnung der Acylketten von CTAB bei hohen Temperaturen im Vergleich zu TTAB und DTAB kann zu einem verstärkt zerstörenden Einbau in die Lipidvesikel führen. Bei 60 °C wird der

Einfluss der Alkylkettenlänge des Tensides auf das Tensid/Lipid-Verhältnis in den Mischaggregaten geringer. Eine Temperaturerhöhung führt durch die Erhöhung des *trans-gauche*-Anteils der Kohlenwasserstoffketten zu einer größeren Beweglichkeit und damit zu einer verstärkten Fluidisierung der Alkylketten sowohl der Lipide als auch der Tenside, sodass sich mehr Tensid pro Lipidmolekül in die Vesikel bzw. Mizellen einbaut. Gleichzeitig bedeutet dies, dass bei höheren Temperaturen mehr Tensid zur Sättigung und Solubilisierung der Vesikel notwendig ist bzw. die MV bei 30 °C instabiler als bei 60 °C sind. Dies ist an den sich vergrößernden $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ -Werten des entsprechenden Tensid/Lipid-Systems von 30 °C zu 60 °C erkennbar.

Aus den Abb. 3.18– 3.20 ist ersichtlich, dass die Phasengrenzen der einzelnen Tensid/Lipid-Gemische bei 60 °C eine Aufweitung der Koexistenzbereiche im Vergleich zu den Phasengrenzen bei 30 °C aufweisen. Besonders bei großen Lipidkonzentrationen treten in einem weiten Konzentrationsbereich Mischvesikel neben Mischmizellen im Gleichgewicht bei höheren Temperaturen auf.

Eine wichtige Erkenntnis sind die mindestens doppelt so großen $R_T^{b,sat}$ - und $R_T^{m,sol}$ -Werte und damit größeren Tensid/Lipid Verhältnisse in den entsprechenden MV und MM der Tensid/DMPG-Gemische als in den Tensid/DMPC-Systemen. Dies zeigt, dass sich bedeutend mehr Tensid pro DMPG-Molekül in den Mischaggregaten befindet bzw. mehr Tensid zur Sättigung und Solubilisierung der DMPG- als der DMPC-Vesikel notwendig ist. $R_T^{b,sat}$ - und $R_T^{m,sol}$ der Tensid/DMPG-Gemische sind sowohl bei 30 °C als auch bei 60 °C > 1 , was zeigt, dass ein Überschuss an Tensidmolekülen im Mischaggregat vorliegt und die MV als auch die MM damit an der Sättigungs- und Solubilisierungsphasengrenze positiv aufgeladen sind. Die DMPC/DMPG-Mischvesikel weisen erwartungsgemäß eine „Zwischenstellung“ hinsichtlich der R_T -Werte auf.

Auch INOUE et al.^[137] ermittelte anhand von Solubilisierungsuntersuchungen mit dem negativen DLPA eine geringeres Solubilisierungsvermögen des kationischen Tensids TTAB im Vergleich zu verschiedenen zwitterionischen PL, was mit stark vergrößerten $R_T^{b,sat}$ - und $R_T^{m,sol}$ -Werten zwischen 1–3 einhergeht. Dies spricht auch in diesem System für eine nach der Ionenpaarbildung zusätzliche Einlagerung kationischer Tenside in die Vesikel, sodass diese vor der Umwandlung in MM eine kationische Ladung aufweisen.

Untersuchungen von URABNEJA^[143] et al. an zwitterionischen Ei-Phosphatidylcholin-Vesikeln bzw. an negativ geladenen Gemischen aus EPC/Dicetylphosphat-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB bei 25 °C in Wasser ergaben ebenfalls eine Verschiebung der c_T^{sat} - und c_T^{sol} -Werte zu größeren Tensidkonzentrationen mit negativ geladenen Vesikeln. Zwischen kationischen Vesikeln, bestehend aus EPC/Stearylamin und negativen Vesikeln besteht jedoch kein signifikanter Unterschied in der Lage der Solubilisierungs-„onset“- und -„offset“-Konzentration. In dieser Lichtstreu-Studie wurde jedoch ausschließlich mit einer Lipidkonzentration < 1 mM gearbeitet, sodass $R_T^{b,sat}$ - und $R_T^{m,sol}$ nicht berechnet werden konnten.

Insgesamt betrachtet, verschieben sich die Phasengrenzen mit zunehmender Hydrophobizität des Tensids zu geringeren Tensidkonzentrationen, was mit dem Verschie-

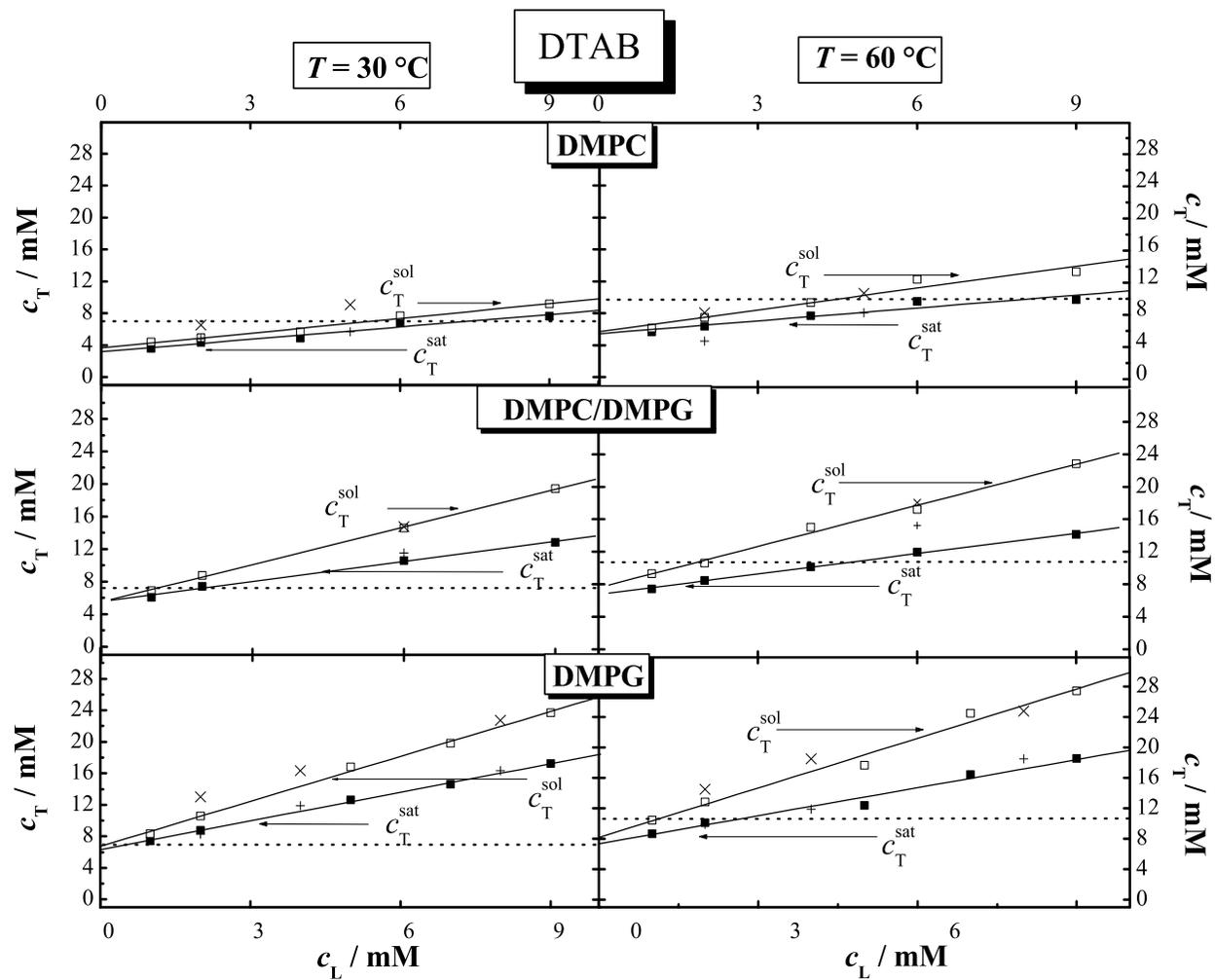


Abb. 3.18: Phasendiagramme der Vesikel-Mizell-Umwandlung von DTAB-DMPC (oben), DTAB-DMPC/DMPG (1:1) (mitte) und DTAB-DMPG (unten) bei $30\text{ }^\circ\text{C}$ (links) und $60\text{ }^\circ\text{C}$ (rechts) in 0.1 M NaCl : Tensidkonzentration c_T vs. Lipidkonzentration c_L in der Zelle; c_T^{sat} (geschlossene Symbole) und c_T^{sol} (offene Symbole); die durchgezogenen Linien sind durch lineare Regression der experimentellen Daten ermittelt, die Kreuze entsprechen den Werten von c_T^{sat} (+) und c_T^{sol} (\times), ermittelt durch DLS bei $30\text{ }^\circ\text{C}$ (links) und $55\text{ }^\circ\text{C}$ (rechts); die gestrichelten Linien entsprechen den cmc 's von DTAB bei $30\text{ }^\circ\text{C}$ bzw. $60\text{ }^\circ\text{C}$

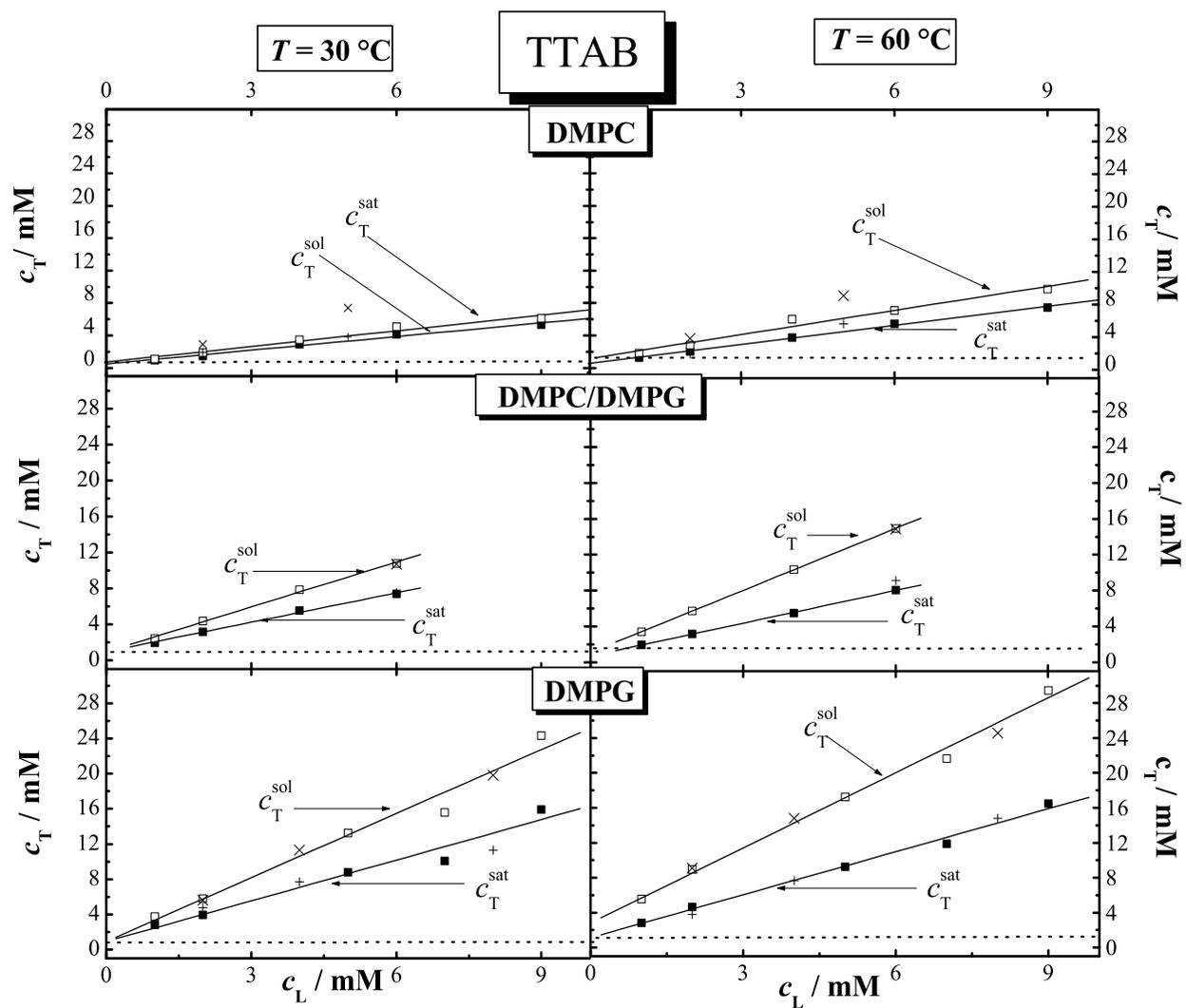


Abb. 3.19: Phasendiagramme der Vesikel-Mizzell-Umwandlung von TTAB-DMPC (oben), TTAB-DMPC/DMPG (1:1) (mitte) und TTAB-DMPG (unten) bei 30 °C (links) und 60 °C (rechts) in 0.1 M NaCl : Tensidkonzentration c_T vs. Lipidkonzentration c_L in der Zelle; c_T^{sat} (geschlossene Symbole) and c_T^{sol} (offene Symbole); die durchgezogenen Linien sind durch lineare Regression der experimentellen Daten ermittelt, die Kreuze entsprechen den Werten von c_T^{sat} (+) and c_T^{sol} (\times) ermittelt durch DLS bei 30 °C (links) und 55 °C (rechts); die gestrichelten Linien entsprechen den cmc's von TTAB bei 30 °C bzw. 60 °C

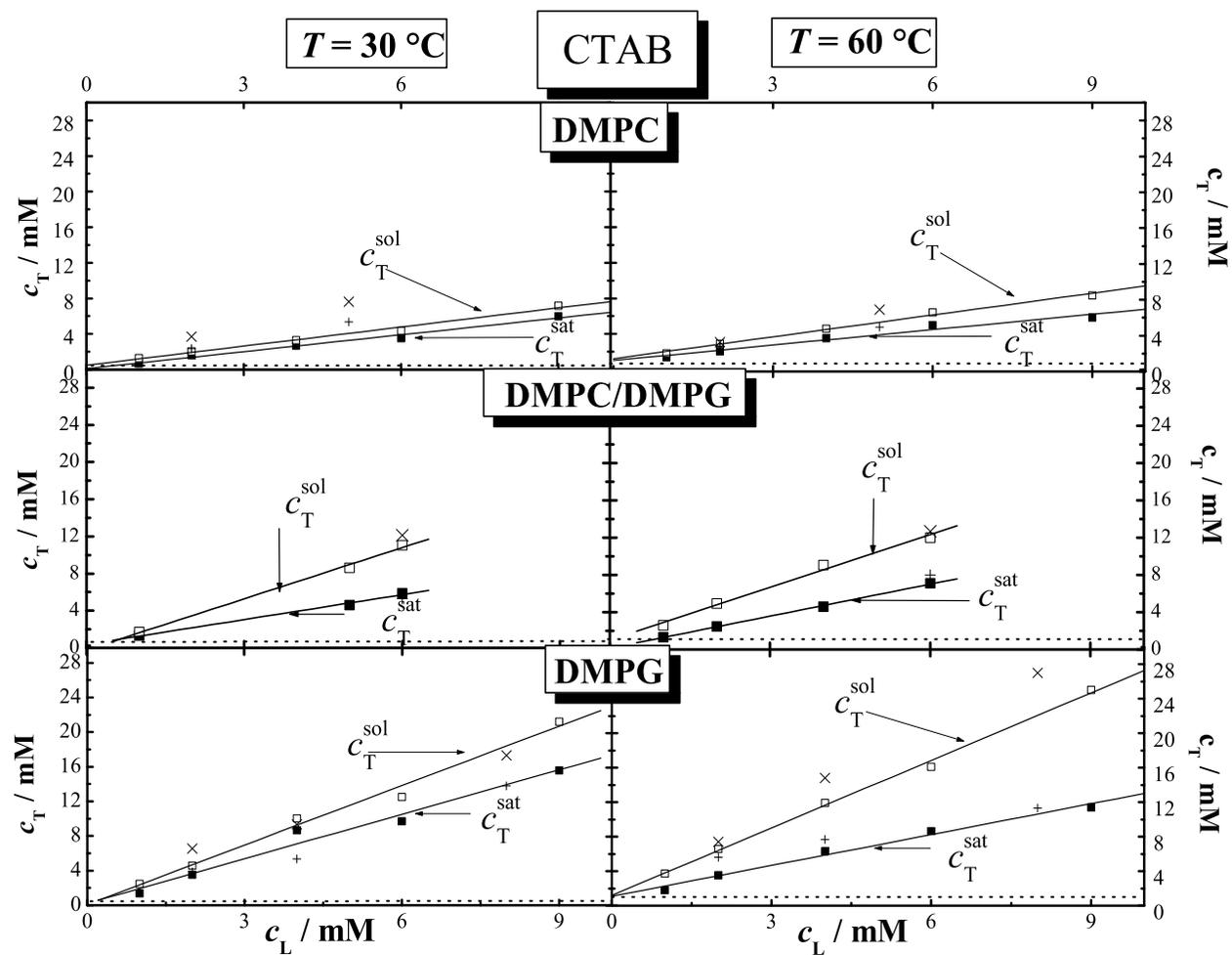


Abb. 3.20: Phasendiagramme der Vesikel-Mizell-Umwandlung von CTAB-DMPC (oben), CTAB-DMPC/DMPG (1:1) (mitte) und CTAB-DMPG (unten) bei 30 °C (links) und 60 °C (rechts) in 0.1 M NaCl: Tensidkonzentration c_T vs. Lipidkonzentration c_L in der Zelle; c_T^{sat} (geschlossene Symbole) and c_T^{sol} (offene Symbole); die durchgezogenen Linien sind durch lineare Regression der experimentellen Daten ermittelt, die Kreuze entsprechen den Werten von c_T^{sat} (+) and c_T^{sol} (×) ermittelt durch DLS bei 30 °C (links) und 55 °C (rechts); die gestrichelten Linien entsprechen den cmc 's von CTAB bei 30 °C bzw. 60 °C

ben der cmc zu geringeren Konzentrationen korreliert. Der Einfluss der Kettenlänge des Tensides wurde von URBANEJA^[143] durch Messungen an zwitterionischen EPC-Vesikel untersucht. Es ergab sich, wie auch die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, keine lineare Abhängigkeit der c_T^{sat} und c_T^{sol} -Werte von der Tensidkettenlänge sondern es wurden viel größere kritische Konzentrationen von DTAB als von TTAB bzw. CTAB beobachtet, wobei der Unterschied zwischen TTAB und CTAB geringer ist. Demnach sind bedeutend mehr DTAB- als TTAB- und CTAB-Moleküle zur Sättigung bzw. Solubilisierung Lipidvesikel notwendig. Dies spiegelt sich auch in der nicht-linearen Abhängigkeit der cmc der betreffenden Tenside wider (Tab.3.1). Mit zunehmender Temperatur sind die Phasengrenzlinien zu größeren Tensidkonzentrationen verschoben, was mit einer geringeren Verteilung der Tensidmoleküle zwischen Bulk- und Vesikel-Phase aufgrund der größeren Wasserlöslichkeit des Tensides bei höheren Temperaturen und der damit verbundenen Verschiebung der $c_T^{aq,sat}$ und $c_T^{aq,sol}$ -Werte zu größeren Konzentrationen einhergeht.

MAJHI et al.^[186] untersuchte die Solubilisierung von DMPC-Vesikeln mit DTAB in reinem Wasser bei 30 °C und 60 °C und ermittelte bei 30 °C $R_T^{b,sat}=0.26$ und $R_T^{m,sol}=0.36$ bzw. bei 60 °C $R_T^{b,sat}=0.4$ und $R_T^{m,sol}=0.64$. Die hier vorgestellten Ergebnisse der Solubilisierungsuntersuchungen in NaCl-haltigen Lösungsmitteln zeigen eine Verbreiterung des Koexistenzbereiches bei größeren Lipidkonzentrationen und größere $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ -Werte im Vergleich zu den ermittelten Werten für DMPC und TTAB in Wasser (TTAB/DMPC/Wasser/30 °C: $R_T^{b,sat}=0.46$, $R_T^{m,sol}=0.63$, $c_T^{aq,sat}=2.4$ und $c_T^{aq,sol}=2.4$)^[137]. Die größere Ionenstärke des Mediums verursacht eine Reduktion der elektrostatischen Wechselwirkungen und führt so zu einer Begünstigung der Aggregation, was anhand der cmc -Werte am Beispiel von CTAB in Wasser und NaCl (Abschnitt. 3.1.1) erläutert wurde. Die Verbreiterung des Koexistenzbereiches und die Verschiebung der Phasengrenzen zu geringeren Tensidkonzentrationen bei erhöhter Ionenstärke (Salz) im Lösungsmittel ist für ionische Tensid/PL-Gemische bekannt und hinreichend diskutiert^[136].

Untersuchungen an DMPC mit dem anionischen SDS in Wasser bei 60 °C ergaben $R_T^{b,sat}=0.59$ und $R_T^{m,sol}=0.63$ und in 0.1 M NaCl $R_T^{b,sat}=1.05$ und $R_T^{m,sol}=1.52$ ^[186]. Zwischen DTAB und SDS existiert kein Unterschied in der Kettenlänge, sie unterscheiden sich aber hinsichtlich der Ladung und der Größe der Kopfgruppe. Die Solubilisierungskennzahlen von DMPC-Vesikeln durch SDS stimmen gut mit den DTAB/DMPC-Werten ($R_T^{b,sat}=0.54$ und $R_T^{m,sol}=0.90$ bei 60 °C in NaCl) überein. Im Gegensatz dazu ermittelte VAUTIER-GIONGO^[289] am Beispiel des kürzerkettigen DHPC stärker attraktive Wechselwirkungen zwischen SDS und DHPC als zwischen DTAB und DHPC, was auf Unterschiede im Kopfgruppenbau beider Tenside zurückgeführt wurde. SDS besitzt eine kleinere Kopfgruppe (57\AA^2 ^[33]) als DTAB (63\AA^2 ^[4]). Untersuchungen von DMPC mit dem nicht-ionischen Tensid OG^[127] in Wasser bei 27 °C und 70 °C ergaben viel größere $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ -Werte, was zeigt, dass die Empfindlichkeit der DMPC-Vesikel gegenüber nichtionischer Tenside geringer ist.

Eine genauere Analyse des Solubilisierungsverhaltens der Lipid/Tensid-Systeme bietet der Vergleich der aus den Phasengrenzen ermittelbaren Verteilungskoeffizienten, die in Tab. 3.7 zusammengefasst sind. Aus den Anstiegen der Regressionslinien

der Phasendiagramme wurde der Tensidmolenbruch in den koexistierenden MV ($X_T^{b,sat}$) und MM ($X_T^{m,sol}$) nach folgenden Gleichungen berechnet:

$$X_T^{b,sat} = \frac{R_T^{b,sat}}{1 + R_T^{b,sat}} \quad X_T^{m,sol} = \frac{R_T^{m,sol}}{1 + R_T^{m,sol}} \quad (3.24)$$

Der Molenbruch-Verteilungskoeffizient der Tensidmoleküle ($P_T^{m/b}$) bzw. des DMPC oder DMPG ($P_L^{m/b}$) zwischen tensidgesättigten Vesikeln und lipidgesättigten Mizellen wurden folgendermaßen berechnet:

$$P_T^{m/b} \equiv \frac{X_T^m}{X_T^b} = \frac{X_T^{m,sol}}{X_T^{b,sat}} \quad P_L^{m/b} \equiv \frac{X_L^m}{X_L^b} = \frac{1 - X_T^{m,sol}}{1 - X_T^{b,sat}} \quad (3.25)$$

Der Tensidverteilungskoeffizient zwischen der wässrigen und der MV-Phase ($P_T^{b/aq}$) bzw. der MM-Phase ($P_T^{m/aq}$), wurde unter der Voraussetzung $c_W = 55555 \text{ mM} \gg \gg c_T^{aq,0}$ aus dem Verhältnis der Molenbrüche des Tensides im Bilayer bzw. in der Mizelle und dem Molenbruch in Wasser ($X_T^{aq,0} = \frac{c_T^{aq,0}}{c_W}$) ermittelt:

$$P_T^{b/aq} \equiv \frac{X_T^b}{X_T^{aq}} = \frac{X_T^{b,sat}}{X_T^{aq,0}} \quad P_T^{m/aq} \equiv \frac{X_T^m}{X_T^{aq}} = \frac{X_T^{m,sol}}{X_T^{aq,0}} \quad (3.26)$$

Der Molenbruch-Verteilungskoeffizient von DTAB und DMPC zwischen tensidgesättigten Vesikeln und lipidangereicherten Mizellen beträgt bei 30 °C $P_{DTAB}^{m/b} = 1.12$ bzw. $P_{DMPC}^{m/b} = 0.94$ und bei 60 °C $P_{DTAB}^{m/b} = 1.35$ bzw. $P_{DMPC}^{m/b} = 0.81$. Der Verteilungskoeffizient der kationischen Tenside zwischen MM und MV ist erwartungsgemäß >1 , da der Molenbruch des Tensides in der mizellaren Phase größer als der in der vesikulären Phase ist. Analog dazu ist der Verteilungskoeffizient des Lipides zwischen MM und MV <1 . Mit zunehmendem hydrophoben Molekülanteil im Tensid sollte der Verteilungskoeffizient des Tensides zwischen MM und MV abnehmen, weil der Molenbruch des Tensides in der vesikulären Phase ($X_T^{b,sat}$) zunimmt. Dies ist in jedem Fall für die TTAB/Lipid- im Vergleich zu den DTAB/Lipid-Systemen zutreffend. Die CTAB/Lipid-Systeme weisen diesen Trend zu niedrigeren $P_{CTAB}^{m/b}$ -Werten nicht auf, die mit DMPC einen Wert von $P_{CTAB}^{m/b} = 1.23$ und mit DMPG $P_{CTAB}^{m/b} = 1.33$ annehmen. Der Verteilungskoeffizient des Tensides zeigt tendenziell größere Werte mit DMPG- als mit DMPC-Vesikel. Der Verteilungskoeffizient des Lipids DMPG zwischen den Mischaggregaten variierten bei 30 °C und 60 °C zwischen $P_{DMPG}^{m/b} = 0.61 - 0.82$ und ist geringfügig kleiner als der Verteilungskoeffizient von DMPC $P_{DMPC}^{m/b} = 0.81 - 0.95$. Dies zeigt, dass von beiden gesättigten Lipiden das DMPC leichter als das DMPG in die mizellare Phase überführt werden kann. Die Ursache liegt in den elektrostatischen Anziehungen zwischen den

kationischen Tensidmolekülen und den negativen PL-Molekülen, die stabilere Vesikel bilden als die tensidangereicherten DMPC-Vesikel. Untersuchungen mit GS an Phosphatidylglycerol-Vesikel^[190] ergaben umgekehrt eine zu geringeren Tensidkonzentrationen verschobene Solubilisierung aufgrund der elektrostatischen Abstoßung zwischen den negativen Ladungen und größeren Hydratation der PL-Kopfgruppe. Daran wird deutlich, dass die Ladung des „Gastmoleküls“ und die Ladung des PL für die Solubilisierung von großer Bedeutung sind.

Der Verteilungskoeffizient von DTAB zwischen der wässrigen und der Vesikel- bzw. Mizellphase beträgt bei 30 °C $P_{DTAB}^{b/aq} = 5.6 \cdot 10^3$ bzw. $P_{DTAB}^{m/aq} = 6.2 \cdot 10^3$ und bei 60 °C $P_{DTAB}^{b/aq} = 3.4 \cdot 10^3$ bzw. $P_{DTAB}^{m/aq} = 4.6 \cdot 10^3$. Diese Werte sind kleiner als die mit SDS in POPC-Vesikeln ermittelten Werte von KELLER et al.^[288], die bei 65 °C $P_{SDS}^{b/aq} = 3.0 \cdot 10^4$ und $P_{SDS}^{m/aq} = 3.7 \cdot 10^4$ betragen, was am größeren Einlagerungsvermögen des ungesättigten POPC liegt. Insgesamt sind die Verteilungskoeffizienten aufgrund elektrostatischer Abstoßung zwischen den positiv aufgeladenen MV und MM infolge des Alkyltrimethylammoniumtensideinbaus in DMPC-Vesikel und bei großem Anteil von Tensid im DMPG-Vesikel kleiner als mit Korrektur der elektrostatischen Effekte, die zu viel größeren Verteilungskoeffizienten $P_T^{b/i}$ (Abschnitt 3.1.2) der Membranadsorption von DTAB aus der wässrigen Grenzschicht führen. Am Beispiel des DTAB/DMPC-Gemisches beträgt $P_{DTAB}^{b/i} = 2.5 \cdot 10^5$ bei 60 °C unter Annahme von $\gamma = 0.5$ (Verteilungsexperimente) bzw. $P_{DTAB}^{b/i} = 2.0 \cdot 10^5$ mit $\gamma = 1$ (vesikulärer Teil der Solubilisierungsexperimente). Wie für viele andere nichtionische Tenside existiert für die Verteilung der Alkyltrimethylammoniumbromide in DMPC- und DMPG-Vesikel eine nahezu lineare Abhängigkeit zwischen der Alkylkettenlänge des Tensides und der Freien molaren Standard-GIBBS-Enthalpie ($\Delta G_T^{o,b/i}$) der Membranbindung (Abb. 3.14). Auch die Verteilungskoeffizienten $P_T^{b/aq}$ und $P_T^{m/aq}$ vergrößern sich mit zunehmender Kettenlänge am Beispiel von DMPC bei 30 °C von $P_{DTAB}^{b/aq} = 5.6 \cdot 10^3$ bzw. $P_{DTAB}^{m/aq} = 6.2 \cdot 10^3$, über $P_{TTAB}^{b/aq} = 3.3 \cdot 10^4$ bzw. $P_{TTAB}^{m/aq} = 3.6 \cdot 10^4$ bis hin zu $P_{CTAB}^{b/aq} = 7.3 \cdot 10^4$ bzw. $P_{CTAB}^{m/aq} = 7.9 \cdot 10^4$.

In Abb. 3.21 sind die ermittelten Verteilungskoeffizienten der Tenside zwischen wässriger und Aggregat-Phase als Funktion der Kettenlänge der Alkyltrimethylammoniumbromide aufgetragen. Es ist auf dem ersten Blick erkennbar, dass sich die Verteilungskoeffizienten mit zunehmender Kettenlänge und damit größerer Hydrophobizität des Tensidmoleküls vergrößern (Ausnahme CTAB-DMPC 60 °C). Desweiteren sind die Verteilungskoeffizienten bei 60 °C kleiner als bei 30 °C, was mit der Vergrößerung der *cmc* der Tenside mit zunehmender Temperatur einhergeht. Erwartungsgemäß sind die Werte von $P_T^{m/aq}$ größer als die Werte von $P_T^{b/aq}$.

Gemäß der Tab. 3.5, in der am Beispiel des DTAB/DMPC-Gemisches die Thermodynamik der kalorimetrisch untersuchten Prozesse bei 60 °C zusammengefasst wurden, sind die Freien Standard-GIBBS-Enthalpien von DTAB aus der wässrigen Phase in die Aggregatphase als auch von der Vesikelphase in die Mizellphase $\Delta G_{DTAB}^{o,P1/P2}$ negativ und nehmen im Betrag in folgender Reihenfolge ab: DTAB-Übergang von der wässrigen in die reine, mizellare Phase (aq→m) > DTAB-Transfer von der wässrigen Grenzschicht in die Vesikelphase (i→b) > DTAB-Transfer aus der wässrigen Bulkphase in die Vesikelphase (aq→b) > DTAB-Transfer von der Vesikel-

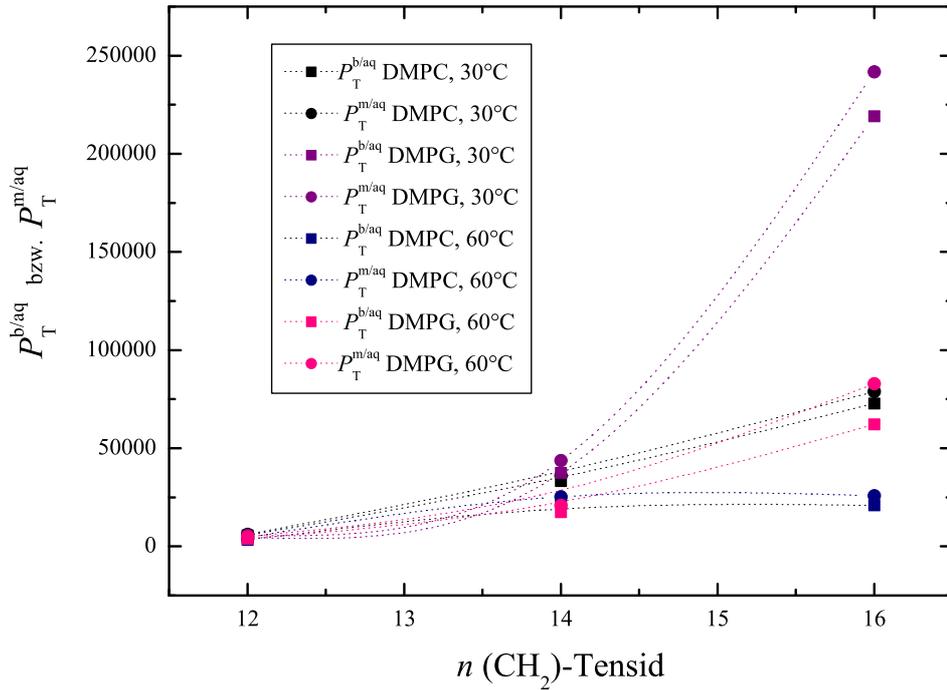


Abb. 3.21: Abhängigkeit der Verteilungskoeffizienten $P_T^{b/aa}$ und $P_T^{m/aa}$, berechnet nach Gl. 3.26, von der Kettenlänge des Tensides bei 30 °C und 60 °C in DMPC- und DMPG-Vesikel

phase in die Mizellphase (b→m). Die Verteilung von DMPC zwischen Vesikel und Mizelle ist im Gegensatz dazu durch einen positiven Wert der Freien Standard-GIBBS-Enthalpie gekennzeichnet. Die Vorzeichen und Größenordnung dieser Parameter entsprechen den Ergebnissen der SDS/POPC-Solubilisierungsstudien^[288].

Tab. 3.5: Thermodynamik der DTAB-Verteilung zwischen wässriger, mizellarer und vesikulärer Phase mit DMPC bei 60 °C; * siehe Tab. 3.1 und Tab. 3.2, (1) aus dem Verteilungsexperiment (Tab. 3.3), (2) aus dem Fit der Messpunkte des mischvesikulären Bereichs des Solubilisierungsexperiment berechnet (rote Kurve, Abb. 3.17)

Amphiphil	P1→P2	$X_T^{m/b}$	$P_{T;L}^{P2/P1}$	$\Delta G_{T;L}^{\circ P1/P2}$ kJ/mol
DTAB	aq→m*	1	$5.4 \cdot 10^3$	-37.5
	aq→m	$X_T^{m,sol}$	$4.6 \cdot 10^3$	-23.4
	aq→b	$X_T^{b,sat}$	$3.4 \cdot 10^3$	-22.5
	i →b ¹		$2.5 \cdot 10^5$	-34.3
	i →b ²		$2.0 \cdot 10^5$	-33.8
	b→m	$X_T^{b,sat}; X_T^{m,sol}$	1.35	-0.8
DMPC	b→m	$X_T^{b,sat}; X_T^{m,sol}$	0.81	+0.6

T °C	Lipid	Tensid	$R_T^{b,sat}$	$R_T^{m,sol}$	$c_T^{aq,sat}$ mM	$c_T^{aq,sol}$ mM	$X_T^{b,sat}$	$X_T^{m,sol}$
30	DMPC	DTAB	0.52	0.62	3.18	3.64	0.34	0.38
		TTAB	0.56	0.64	0.49	0.71	0.36	0.39
		CTAB	0.63	0.72	0.11	0.48	0.39	0.42
	DMPG	DTAB	1.21	1.90	6.35	6.72	0.55	0.66
		TTAB	1.54	2.42	0.90	0.90	0.61	0.71
		CTAB	1.71	2.29	0.23	0.09	0.63	0.70
	DMPC/ DMPG (1:1)	DTAB	0.82	1.54	5.53	5.48	0.45	0.61
		TTAB	1.09	1.67	0.94	0.91	0.52	0.63
		CTAB	0.89	1.81	0.37	(- 0.21)	0.47	0.64
60	DMPC	DTAB	0.54	0.90	5.64	5.89	0.35	0.47
		TTAB	0.79	0.98	0.79	1.39	0.44	0.49
		CTAB	0.57	0.81	0.96	0.96	0.36	0.45
	DMPG	DTAB	1.23	2.17	7.33	8.19	0.55	0.68
		TTAB	1.64	2.87	1.13	2.82	0.62	0.74
		CTAB	1.19	2.61	0.09	0.88	0.54	0.72
	DMPC/ DMPG (1:1)	DTAB	0.84	1.69	6.75	7.57	0.46	0.63
		TTAB	1.22	2.31	0.70	1.10	0.55	0.70
		CTAB	1.15	1.88	0.13	1.03	0.53	0.65

Tab. 3.6: ITC-Kenngrößen der Sättigungs- und Solubilisierungsphasengrenzen für die Solubilisierung von DMPC-, DMPG- und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 30 °C und 60 °C, die durch lineare Regression der experimentell ermittelten c_T^{sat} - und c_T^{sol} -Werte ermittelt wurden, $X_T^{b,sat}$ und $X_T^{m,sol}$ nach Gl. 3.24

T °C	Lipid	Tensid	$P_T^{m/b}$	$P_L^{m/b}$	$c_T^{aq,0}$ mM	$P_T^{b/aq}$	$P_T^{m/aq}$
30	DMPC	DTAB	1.12	0.94	3.41	$5.6 \cdot 10^3$	$6.2 \cdot 10^3$
		TTAB	1.09	0.95	0.60	$3.3 \cdot 10^4$	$3.6 \cdot 10^4$
		CTAB	1.08	0.95	0.30	$7.3 \cdot 10^4$	$7.9 \cdot 10^4$
	DMPG	DTAB	1.20	0.76	6.53	$4.7 \cdot 10^3$	$5.6 \cdot 10^3$
		TTAB	1.17	0.74	0.90	$3.7 \cdot 10^4$	$4.4 \cdot 10^4$
		CTAB	1.10	0.82	0.16	$2.2 \cdot 10^5$	$2.4 \cdot 10^5$
	DMPC/ DMPG (1:1)	DTAB	1.35	0.72	5.51	$4.5 \cdot 10^3$	$6.1 \cdot 10^3$
		TTAB	1.20	0.78	0.93	$3.1 \cdot 10^4$	$3.8 \cdot 10^4$
		CTAB	1.37	0.67	0.08	$3.3 \cdot 10^5$	$4.5 \cdot 10^5$
60	DMPC	DTAB	1.35	0.81	5.77	$3.4 \cdot 10^3$	$4.6 \cdot 10^3$
		TTAB	1.12	0.90	1.09	$2.2 \cdot 10^4$	$2.5 \cdot 10^4$
		CTAB	1.23	0.87	0.96	$2.1 \cdot 10^4$	$2.6 \cdot 10^4$
	DMPG	DTAB	1.24	0.70	7.76	$3.9 \cdot 10^3$	$4.9 \cdot 10^3$
		TTAB	1.20	0.68	1.98	$1.7 \cdot 10^4$	$2.1 \cdot 10^4$
		CTAB	1.33	0.61	0.49	$6.2 \cdot 10^4$	$8.3 \cdot 10^4$
	DMPC/ DMPG (1:1)	DTAB	1.38	0.68	7.16	$3.5 \cdot 10^3$	$4.9 \cdot 10^3$
		TTAB	1.27	0.67	0.90	$3.4 \cdot 10^4$	$4.3 \cdot 10^4$
		CTAB	1.22	0.75	0.58	$5.1 \cdot 10^4$	$6.3 \cdot 10^4$

Tab. 3.7: Verteilungskoeffizienten ermittelt aus ITC-Solubilisierungsexperimenten von DMPC-, DMPG- und DMPC/DMPG (1:1)-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 30 °C und 60 °C, $P_T^{m/b}$ und $P_L^{m/b}$ wurden nach Gl. 3.25 berechnet; $c_T^{aq,0} = (c_T^{aq,sat} + c_T^{aq,sol})/2$ unter der Annahme, dass $c_T^{aq,sat} = c_T^{aq,sol} = c_T^{aq,0}$; $P_T^{b/aq}$ und $P_T^{m/aq}$ nach Gl. 3.26

Untersuchungen mit DLS

DLS-Messungen an den Lipiddispersionen, bestehend aus DMPC-, DMPG- bzw. DMPC/DMPG-Vesikeln mit verschiedenem Tensidanteilen bei 30 °C sowie 55 °C wurden durchgeführt, um die mit ITC ermittelten Solubilisierungsphasengrenzen zu bestätigen und Informationen über die Partikelgrößen der Mischaggregate zu erhalten. In Abb. 3.18– 3.20 sind die Tensidkonzentrationen als Funktion der

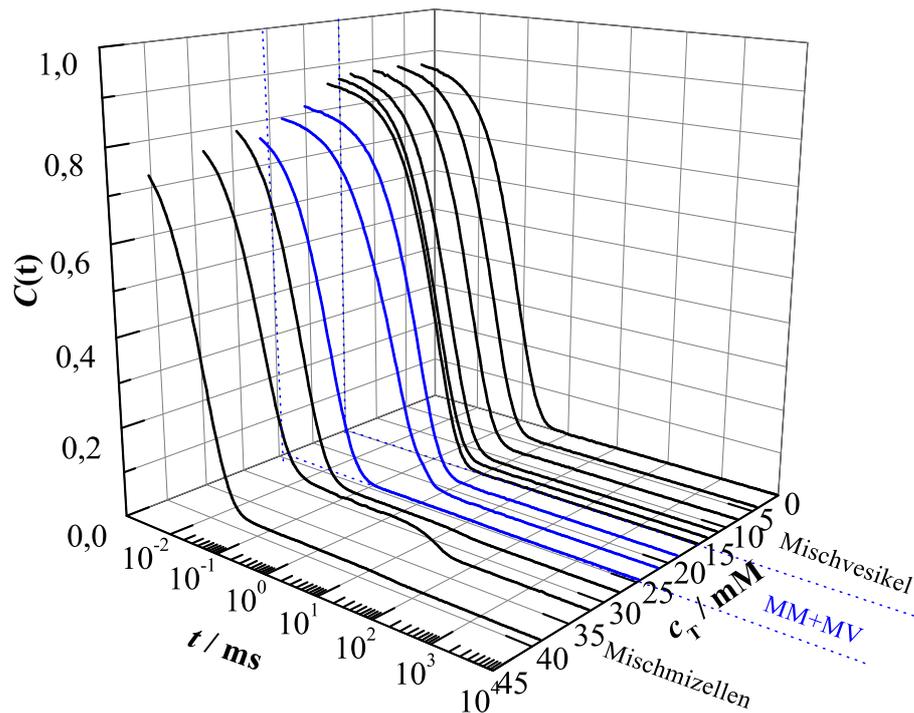


Abb. 3.22: DLS-Solubilisierungsexperiment: Titration (10–20 μ l) einer mizellaren TTAB-Lösung (200 mM) in DMPG-Vesikel (8 mM) in 0.1 M NaCl bei 55 °C: Autokorrelationsfunktion bei steigender Tensidkonzentration c_T , MV+MM: Koexistenzbereich

Lipidkonzentration, ermittelt an den Phasengrenzen mit DLS, als gekreuzte Symbole hinzugefügt. Zur Bestimmung der Phasengrenzen erfolgte die Titration der mizellaren Tensidlösung in 10–30 μ l Schritten zu den PL-Vesikeln bei 30 °C und 55 °C. Ein Beispiel der ermittelten Autokorrelationsfunktionen nach jeder schrittweisen Zugabe einer 200 mM TTAB-Lösung in DMPG-Vesikel (8 mM) bei 55 °C ist in Abb. 3.22 dargestellt. Es lassen sich deutlich die drei Bereiche des Phasendiagramms am Kurvenverlauf unterscheiden, deren Grenzen, markiert durch gestrichelte Linien, aus den entsprechenden ITC-Experimenten übernommen wurden. Für einige ausgewählte TTAB-Zugaben dieses Beispielerperimentes sind in Abb. 3.23 die Streuintensitätskurven in Abhängigkeit vom hydrodynamischen Radius R_h dargestellt.

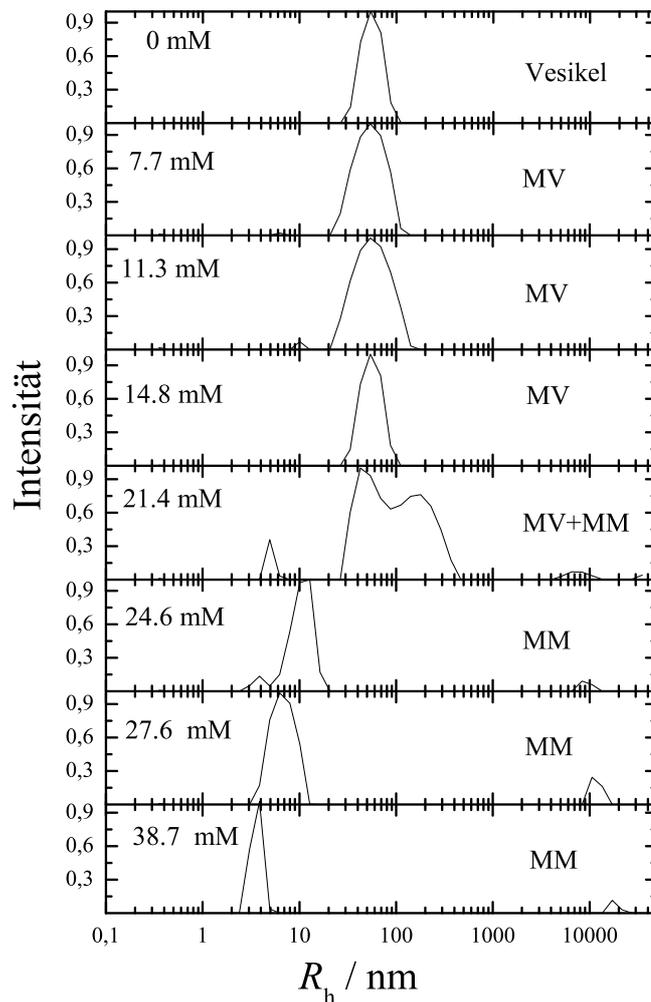


Abb. 3.23: DLS-Partikelgrößenverteilung (ungewichtet) der Solubilisierung von DMPG-Vesikeln (8 mM) mit TTAB (200 mM) in 0.1 M NaCl bei 55 °C: Änderung der Partikelgrößenverteilung mit steigender Tensidkonzentration, MV: mischvesikulärer Bereich MM: mischmizellarer Bereich, MV+MM: Koexistenzbereich

Die reinen Lipid-Vesikel weisen aufgrund der Extrusion durch ein Polycarbonatfilter mit einem Porendurchmesser von 100 nm einen durchschnittlichen initialen R_h -Wert von ≈ 50 nm mit einer schmaleren Verteilung im Vergleich zu ausschließlich durch Ultraschallbehandlung hergestellten Vesikeln auf. Im Gegensatz zu Untersuchungen mit GS an PL nach HILDEBRAND et al.^[136] ist zu Beginn der Titration die Partikelgröße der Vesikel durch den TTAB-Einbau kaum verändert. An der Sättigungsphasengrenze der PL-Vesikel steigt jedoch die Partikelgröße bis zu Radien von ≈ 100 nm an. Im Koexistenzbereich von MM und MV treten neben größeren Aggregaten von ca. 30–130 nm Radius kleinere Mischaggregate von ca. 3 nm auf. Des Weiteren existiert ab der Tensidkonzentration, bei der MM neben

MV vorliegen, ein weiterer, im Vergleich zu den Hauptfraktionen viel geringerer Anteil an sehr großen Aggregaten mit einem durchschnittlichen apparenten Radius von ca. 10000 nm, der bei allen untersuchten Tensid-Lipid-Systemen ab der Sättigungskonzentration des Tensides beobachtet wurde. Diese intermediär detektierbare Population großer Strukturen sind möglicherweise wurmartige Mizellen, die visuell durch Schlierenbildung innerhalb der Küvette einhergehend mit einer Viskositätszunahme beobachtet wurden.

Im MM-Bereich nimmt die Partikelgröße der MM mit zunehmender Tensidkonzentration von 10 nm bis 3 nm weiter ab und die Fraktion an großen Wurm-Mizellen bleibt bestehen. Die angegebenen Radien der Aggregate können insbesondere in der Nähe der Phasengrenzen nur als Orientierungshilfe dienen, weil während der Vesikel-Mizell-Umwandlung verschiedene Intermediate z. B. geöffnete Vesikel, stäbchenförmige Mizellen und Wurmmizellen auftreten, deren genaue Größe mit der DLS aufgrund der auf der STOKES-EINSTEIN-Beziehung basierenden Größenanalyse (sphärische Partikel, Gl. 2.26) nicht ermittelbar ist.

Die durchschnittlichen hydrodynamischen Radien der Aggregate der einzelnen Tensid-Lipid-Systeme mit verschiedenen Lipidkonzentrationen bei 55 °C ist in den Abb. 3.24– 3.26 zusammengefasst. Die Phasengrenzen werden aus dem Beginn bzw. dem Ende des steil abfallenden Kurvenabschnittes ermittelt. Die gestrichelten, senkrechten Linien stellen die durch die ITC ermittelten Sättigungsphasengrenzen für die mit DLS verwendete niedrigste Lipidkonzentration bzw. die Solubilisierungsphasengrenzen für die mit der DLS verwendete höchste Lipidkonzentration dar. Es lässt sich eine relativ gute Übereinstimmung der mit beiden Methoden erhaltenen Phasengrenzen in Abb. 3.18– 3.20 sowie Abb. 3.24– 3.26 erkennen, obwohl ein Temperaturunterschied von 5 °C zwischen den ITC- und DLS-Experimenten bei hohen Temperaturen besteht und eine unterschiedliche Präparation der Lipidvesikel (ITC: Ultraschall; DLS: Extrusion; Abschnitt A.3.2) zugrunde liegt. Die analogen Ergebnisse der Tensid-Lipid-Systeme für die bei 30 °C ermittelten Phasengrenzen sind im Anhang B Abb. B.5– B.7 gezeigt.

Im MV-Bereich, kurz unterhalb von c_T^{sat} , steigt die Größe der Vesikel sowohl bei 30 °C als auch bei 55 °C stark an. Mit zunehmender Lipidkonzentration ist das Anschwellen der Vesikel vergrößert, was besonders deutlich an den Untersuchungen mit DMPG-Vesikeln in Abb. 3.25 bei 55 °C, aber auch bei 30 °C im Anhang Abb. B.5 und B.6 ersichtlich ist. Bei einer DMPG-Konzentration von 8 mM entstehen mit CTAB bei 55 °C MV eines Radius von ca. 250 nm. Aber auch die Zugabe von Alkyltrimethylammoniumbromiden zu DMPC-Vesikeln führt zu einem enormen Größenwachstum der Vesikel bei Konzentrationen kurz unterhalb der Sättigungskonzentration. Sowohl mit DTAB, TTAB als auch mit CTAB bilden sich bei einer DMPC-Konzentration von 5 mM Vesikel von >100 nm.

Das Vermögen der lamellaren Phase, durch die Zugabe von CTAB zu DMPC-bilayer stark Wasser einzulagern, wurde auch von RYDHAG et al.^[191] sowohl in Wasser als auch in wässriger NaCl-Lösung durch Röntgenbeugung und DLS untersucht und bestätigt. Es wurde für die MV dieses Systems im Wasser bei 30 °C eine max. Anschwellung bis zu 99 % Wasserinhalt gemessen. Die Ursache des drastischen Anschwellens der lamellaren Phase durch die Zugabe der kationischen

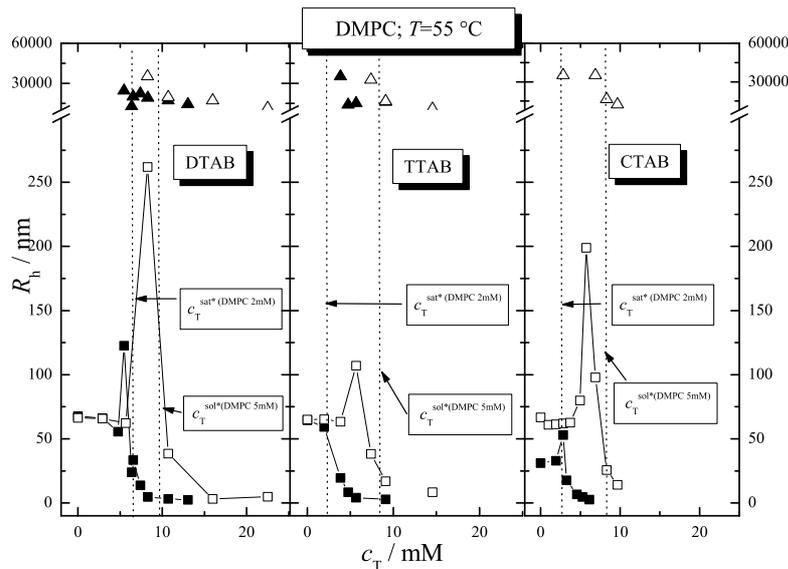


Abb. 3.24: DLS-Solubilisierung von DMPC-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 55 °C: hydrodynamischer Radius R_h vs. Tensidkonzentration c_T ; geschlossenen Symbole: $c_L=2$ mM, offene Symbole: $c_L=5$ mM, Quadrate: Hauptfraktion, Dreiecke: Nebenfraktion; senkrechte Linien entsprechen den ITC-Phasengrenzen für die Sättigung (sat^*) und Solubilisierung (sol^*) der entsprechenden Lipidkonzentration

Tenside liegt in der sehr hohen Oberflächenladungsdichte der Bilayer infolge des Einbaus der Tenside, die zu einer verstärkten Hydratation führt. Dieser Effekt ist nach diesen Untersuchungen größer in reinem Wasser als elektrolythaltigen Medien. Nach EKWALL^[290] beträgt die Querschnittsfläche von CTAB 0.25–0.30 nm² und von DMPC 0.68 nm² innerhalb der lamellaren Phase.

Bei $R_T^{b,sat}=0.63$ für CTAB/DMPC bei 30 °C in NaCl (Tab. 3.6) entspräche dies $1.2 \cdot 10^{14}$ Ladungen pro cm² Vesikeloberfläche. An jedes DTAB-Molekül werden nach kalorimetrischen, gravimetrischen und IR-spektroskopischen Untersuchungen von BINDER et al.^[291] zusätzlich 2.6 Moleküle Wasser gebunden. Die kationisch aufgeladenen Vesikel sind gegen Fusion elektrostatisch stabilisiert^[292], sodass nicht von einer Vergrößerung der Vesikel aufgrund der Zusammenlagerung der intakten Vesikel ausgegangen werden kann.

Auch Untersuchungen an Lecithin-Cetyltrimethylammoniumchlorid-Gemischen mit cryo-TEM^[162] und an POPC/DTAB und CTAB-Gemischen^[293] bestätigen diese signifikante Vergrößerung der Vesikel kurz unterhalb der kritischen Tensidsättigungskonzentration in den Bilayern. Des Weiteren zeigten diese Studien die Existenz intermediärer Strukturen, wie geöffneter Vesikel, sowie die zusätzliche Existenz von fadenförmigen, flexiblen, zylinderartigen MM ab $c_T^{b,sat}$. Nach NMR-spektroskopischen- und cryo-TEM-Untersuchungen von GUSTAFSSON et al.^[155, 196] liegt die Ursache des drastischen Vesikelwachstums von Lecithin/DTAB- und Lecithin/CTAB-Gemischen an der Bildung von Porendefekten in den Vesikeln infolge einer lokalen Entmischung innerhalb der Membran durch den Tensideinbau („edge-actant“).

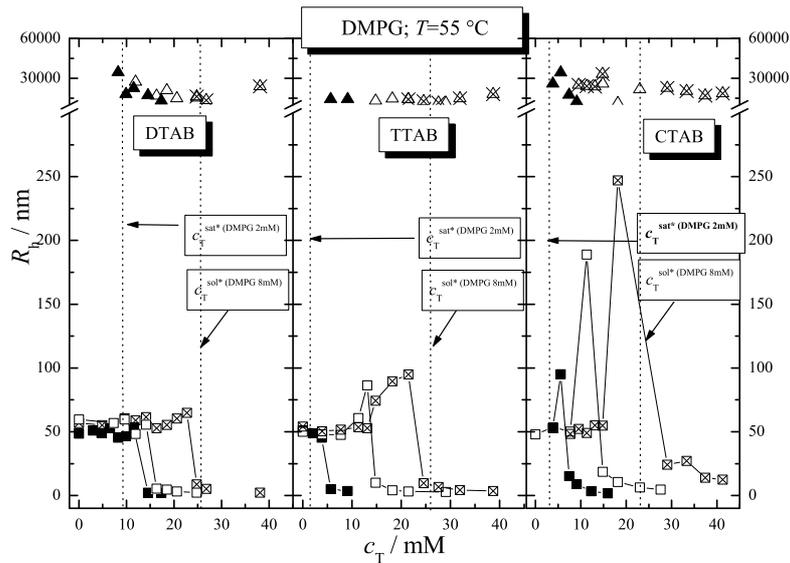


Abb. 3.25: DLS-Solubilisierung von DMPG-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 55 °C: hydrodynamischer Radius R_h vs. Tensidkonzentration c_T ; geschlossenen Symbole: $c_L=2$ mM, offene Symbole: $c_L=4$ mM, gekreuzte Symbole: $c_L=8$ mM, Quadrate: Hauptfraktion, Dreiecke: Nebenfraktion; senkrechte Linien entsprechen den ITC-Phasengrenzen für die Sättigung (sat^*) und Solubilisierung (sol^*) der entsprechenden Lipidkonzentration

Die so entstehenden offenen Vesikel verschmelzen darauf zu größeren Aggregaten. Die Bildung der „Membranlöcher“ wurde besonders mit CTAB und im geringeren Ausmaß mit DTAB beobachtet. Als Ursache wurde hier der zunehmende Unterschied zwischen der Kettenlänge des Tensides und des Lipides angenommen, der bei DTAB/EPC größer als bei CTAB/EPC ist. Je ungleicher die Packung der Moleküle innerhalb der Membran ist, desto schwerer bilden sich Entmischungsgebiete, sodass DTAB innerhalb der EPC-Vesikel weniger „kanten-aktiv“ wirksam ist.

DTAB bzw. CTAB weisen im Vergleich zum DMPC und DMPG eine um zwei Methyleneinheiten verkürzte bzw. verlängerte Kette auf und TTAB besitzt die gleiche Alkylkettenlänge wie die verwendeten PL DMPC und DMPG. Das Anschwellen der MV wurde jedoch in allen Systemen beobachtet, sodass der Einfluss der Kettenlängen dieser Systeme für das Größenwachstum weniger bedeutend ist.

Die DLS-Ergebnisse der DMPC/DMPG-Mischvesikel weichen von den Ergebnissen der reinen Lipide ab. Bei 55 °C sinkt mit Zugabe an Tensid zunächst der Vesikelradius, um sich dann auch in der Nähe von $c_T^{b,sat}$ stark zu vergrößern. Bei 30 °C weist nur das DTAB-DMPC/DMPG-Gemisch diesen Radianstieg mit zunehmender Tensidkonzentration auf.

Nach den DLS-Ergebnissen erfolgt der Vesikel-Mizell-Übergang mit zunehmender Tensidkonzentration von intakten Vesikel über stark angeschwollene Vesikel zu kleinen Mischmizellen. Der Prozess der stäbchenförmigen oder runden Mizellbildung ist in allen Systemen durch die gleichzeitige Bildung und Existenz von wurmartigen Superaggregaten gekennzeichnet. Es wurde keine deutliche Veränderung der Parti-

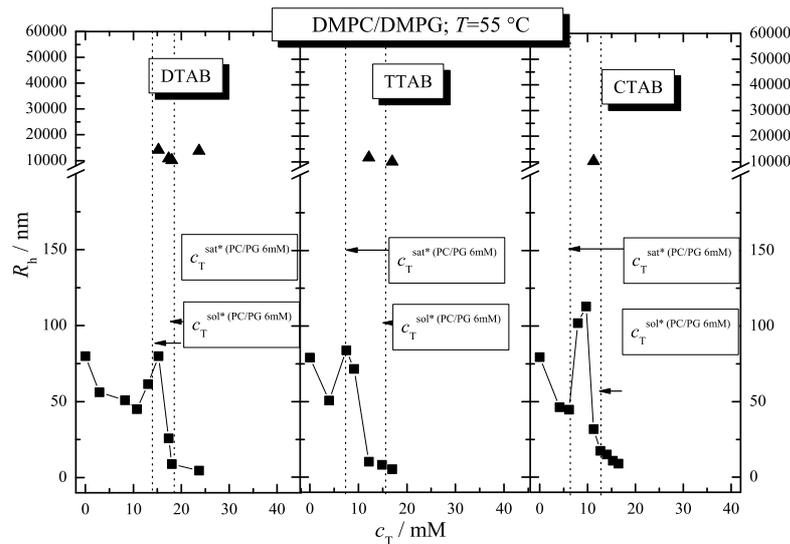


Abb. 3.26: DLS-Solubilisierung von DMPC/DMPG (1:1)-Mischvesikel (6 mM) mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 55 °C: hydrodynamischer Radius R_h vs. Tensidkonzentration c_T ; Quadrate: Hauptfraktion, Dreiecke: Nebenfraktion; senkrechte Linien entsprechen den ITC-Phasengrenzen für die Sättigung (sat*) und Solubilisierung (sol*) der entsprechenden Lipidkonzentration

kelgröße bei nur geringer Tensidkonzentrationen beobachtet, was in Übereinstimmung mit Untersuchungen von ALMGREN^[195] an EPC/CTAB steht.

Untersuchungen mit DSC

Die ITC- und DLS-Solubilisierungsstudien wurden sowohl bei 30 °C als auch bei 55 °C durchgeführt, beides Temperaturen oberhalb der Hauptphasenumwandlungstemperatur der reinen Lipide DMPC und DMPG, sodass sie vor dem Tensideinbau in der fluiden, flüssigkristallinen L_α -Phase vorliegen. Die DSC-Untersuchungen wurden durchgeführt, um den Einfluss der Tensidinkorporation in die Lipidmembran auf die Phasenumwandlungstemperatur des Lipides zu untersuchen. Gerade in Hinblick auf die lytische Wirkung der kationischen Tenside auf Membranen und der damit verbundenen Anwendungsmöglichkeiten ist die Phasenumwandlungstemperatur eine entscheidende Größe, da Membranen ihre biologische Funktionen meist nur in der flüssigkristallinen Phase aufrecht erhalten können. T_m von Membranen ist ein Maß für die Packungsdichte in der Gelphase. In der Gelphase kommt es zur Annäherung der *all-trans*-Kohlenwasserstoffketten und somit einem gegenüber dem Entropieverlust großen Gewinn an VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen. Bei der Auswertung von T_m wurde sich nur auf die Peakmaxima bezogen.

Die Experimente wurden unter Variation des Lipidtyps, Variation der Kettenlänge des Tensids sowie unter Tensidkonzentrationsänderung durchgeführt. Die Tensidkonzentrationen wurden so gewählt, dass entweder MV, MV neben MM oder ausschließlich MM vor dem Aufheizen der Probe vorlagen. Durch das Aufheizen der

Gelphasenvesikel, die ab bestimmten Tensidkonzentrationen mit MM koexistieren, erfolgt eine Umwandlung in den mischmizellaren Zustand.

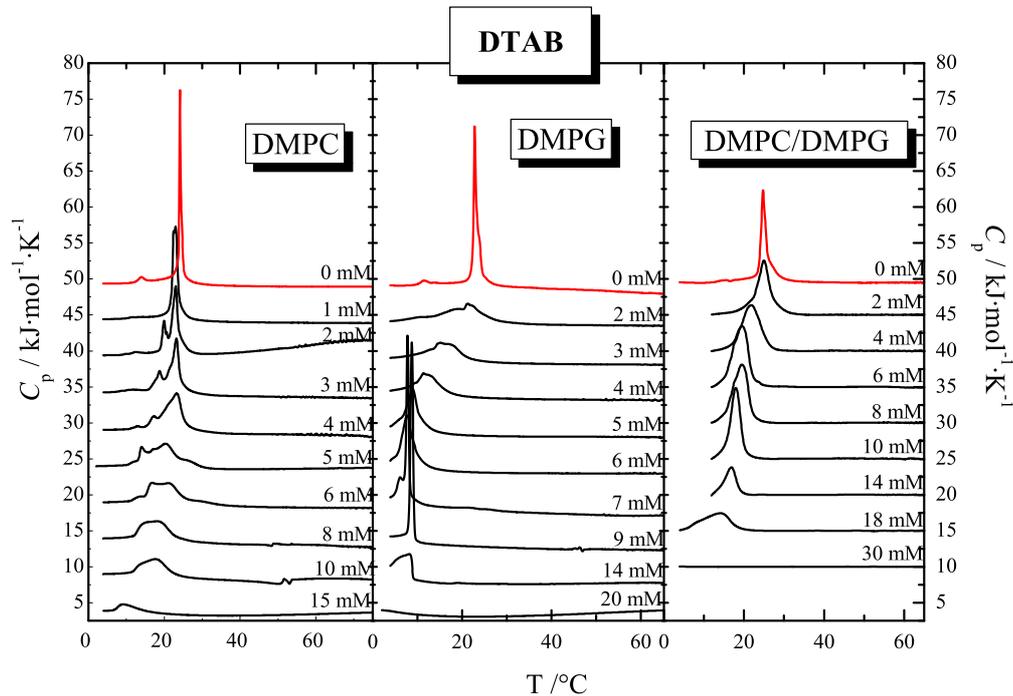


Abb. 3.27: DSC Aufheizkurven (zweiter Scan): Abhängigkeit der isobaren Wärmekapazität von der Temperatur von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmendem DTAB-Anteil in 0.1 M NaCl; zur besseren Sichtbarkeit wurden die Rohkurven entlang der Ordinatenachse verschoben

Für alle untersuchten Systeme sind die zweiten Aufheizkurven in Abb. 3.27, Abb. 3.30 und Abb. 3.31 mit unterschiedlichen Anteilen des jeweiligen Tensides dargestellt. Der erste Scan unterschied sich von den folgenden, weil die Zugabe des Tensids zu den vorpräparierten Vesikel zu Strukturen führte, die noch nicht im Gleichgewicht vorlagen. Dies liegt an der begrenzten Fähigkeit der Tensidmoleküle, sich in Lipidbilayer, die sich im Gel-Zustand befinden, einbauen zu können. Wenn diese Gemische über T_m erhitzt werden, kommt das System in den Gleichgewichtszustand und alle folgenden Scans sind reproduzierbar. Die Zusammensetzung der Gemische orientiert sich an den durch ITC ermittelten Phasendiagrammen, sodass Proben der Zusammensetzung des vesikulären Bereiches, der Koexistenzphase sowie der mischmizellaren Phase präpariert und vermessen wurden.

Die reinen Lipide DMPC bzw. DMPG (roten Kurven) weisen bei $T_p=14$ $^{\circ}\text{C}$ bzw. 11.4 $^{\circ}\text{C}$ die Vorumwandlungstemperatur ($L_{\beta'} \rightarrow P_{\beta'}$) und bei $T_m=24$ $^{\circ}\text{C}$ bzw. 22 $^{\circ}\text{C}$ die Hauptphasenumwandlungstemperatur ($P_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$) auf. Bei dem DMPC/DMPG-Gemisch (1:1) beträgt $T_m=24.7$ $^{\circ}\text{C}$ und die Vorumwandlung ist kaum noch erkennbar.

In Abb. 3.28 ist die Abhängigkeit von T_m mit zunehmendem DTAB-Anteil sowohl

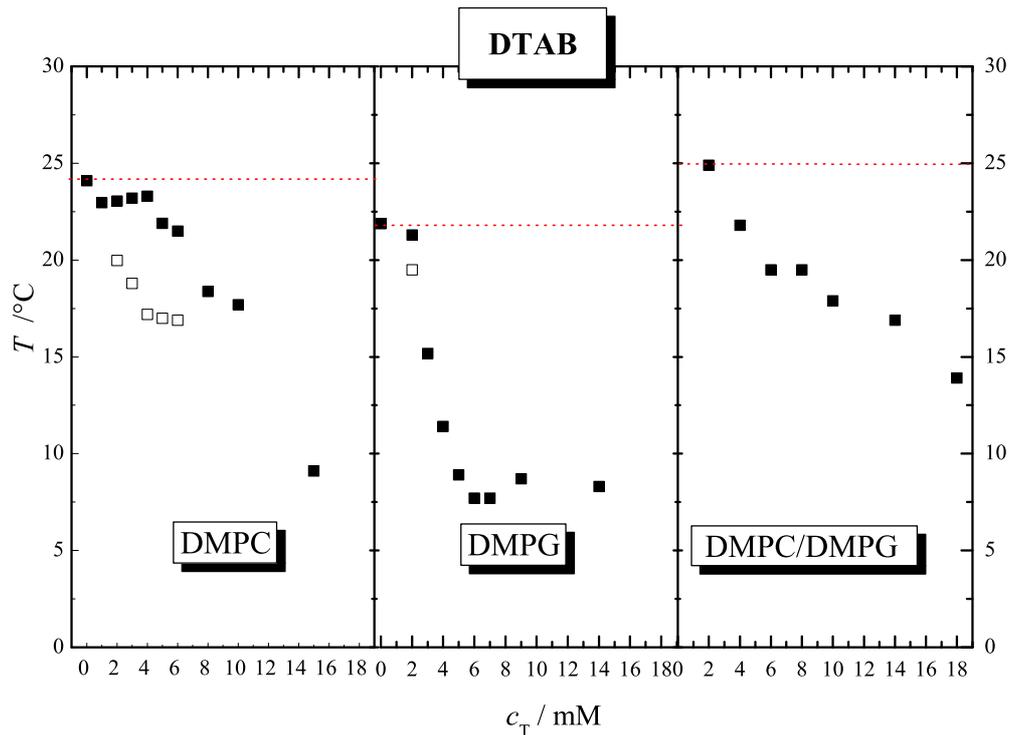


Abb. 3.28: DSC: Abhängigkeit der Phasenumwandelungstemperaturen (Peakmaxima) von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmendem DTAB-Anteil in 0.1 M NaCl; geschlossene Symbole: Umwandlung von $P_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$; offene Symbole: zweite Peak der Hauptphasenumwandlung; die roten Linien entsprechen T_m der reinen Lipide

von DMPC, DMPG als auch DMPC/DMPG (1:1) dargestellt. Es ist erkennbar, dass die T_m -Verschiebung zu tieferen Temperaturen in allen DTAB-Lipid-Systemen sowie ein vollständiges Verschwinden der Vorumwandlungspeaks vom DMPC und DMPG auftritt. Die Gelphase der PL wird aufgrund des Tensideinbaus destabilisiert.

Mit zunehmendem DTAB-Anteil (2–6 mM) in der 5 mM DMPC-Suspension spaltet sich der Hauptphasenumwandlungspeak in zwei Peaks (geschlossene Symbole und offene Symbole in Abb. 3.28 auf, was nicht nur auf die Koexistenz der DMPC-Vesikel in der Gel- und der flüssigkristallinen Phase zurückzuführen ist, sondern auf ein komplexeres Mehrphasengleichgewicht unterschiedlicher Strukturen. Dies kann mit der Bildung von tensidangereicherten und tensidarmen Regionen innerhalb des Vesikels interpretiert werden. Die Zugabe von Tensidmolekülen zu Lipidvesikeln führt zu einer Serie von verschiedenen Gleichgewichtszuständen bis schließlich die Bilayerstruktur der Vesikel zerstört wird.

Mit weiter zunehmenden DTAB-Konzentrationen bis ca. 15 mM sinkt T_m von DMPC als auch DMPG bis auf ≈ 10 °C. Der Umwandlungspeak verbreitert sich mit zunehmenden DTAB-Einbau in DMPC-Vesikel und die Umwandlungsenthalpie

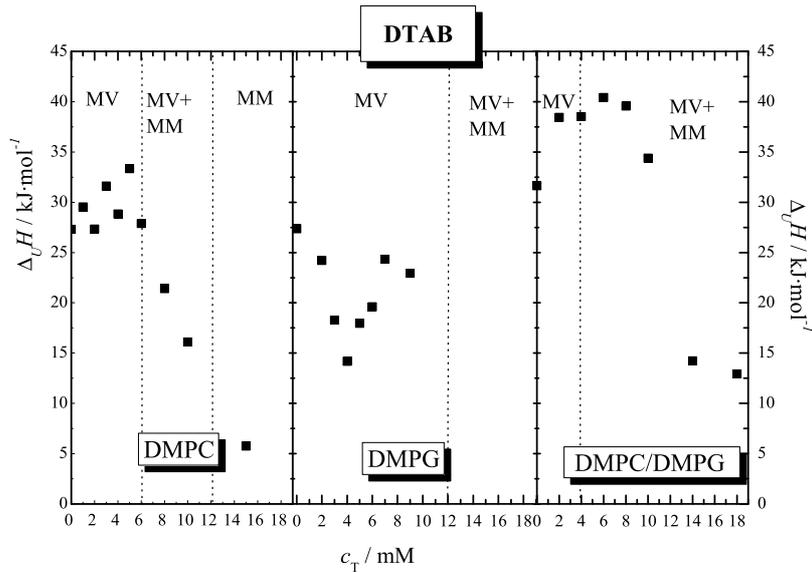


Abb. 3.29: DSC: Abhängigkeit der Phasenumwandlungsenthalpie $\Delta_U H$ von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmendem DTAB-Anteil in 0.1 M NaCl

entsprechend der Peakfläche verkleinert sich von 30 kJ/mol auf 5 kJ/mol (Abb. 3.29) aufgrund der Zerstörung der geordneten PL-Molekülanordnung in den PL-Vesikeln durch den DTAB-Einbau. Generell bedeutet eine Verbreiterung des Umwandlungspeaks eine Verringerung der Kooperativität der Phasenumwandlung. Die Umwandlungsenthalpie der Lipide sind im Wesentlichen durch die Änderung der VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen zwischen den Kohlenwasserstoffketten sowie der *trans-gauche*-Isomerisierungsenergie bestimmt, die beide vom Lateralabstand der Lipide abhängig sind. Eine Abnahme der Umwandlungsenthalpie kann demnach mit einer Erhöhung des Lipid-Lipid-Abstandes interpretiert werden, was durch die Einlagerung der Tensidmoleküle verständlich ist.

Der DTAB-Einbau in DMPG-Vesikel hingegen führt zunächst zu einem stetigen Abfall von T_m verbunden mit einer Verbreiterung des Umwandlungspeaks und einer Verringerung der Phasenumwandlungsenthalpie bis auf 15 kJ/mol bei $c_{DTAB}=4$ mM. Mit zunehmender DTAB-Konzentration steigt $\Delta_U H$ wieder auf einen Wert von 15 kJ/mol bei einer DTAB-Konzentration von 9 mM an und die Peakbreite verringert sich signifikant. Die DTAB-Konzentration entspricht an diesem eutektischen Punkt einem molaren Tensid/Lipid-Verhältnis von $\approx 2:1$. Vergrößert sich die Umwandlungsenthalpie, bedeutet dies eine zunehmende Kooperativität zwischen den DMPG-Molekülen, was auf eine Entmischung in PL-Regionen und Tensidregionen innerhalb der MV schließen lässt.

Das DTAB-DMPC/DMPG-Mischsystem zeigt keine Phasentrennung der Peaks, nur eine stetig abnehmende Umwandlungstemperatur und eine Verbreiterung der Umwandlung einhergehend mit einer geringen Zunahme von $\Delta_U H$ bis 40 kJ/mol bei $c_{DTAB}=6$ mM. Danach nimmt die Phasenumwandlungsenthalpie stetig ab bis auf

einen Wert von 12.5 kJ/mol bei $c_{DTAB}=18 \text{ mM}$.

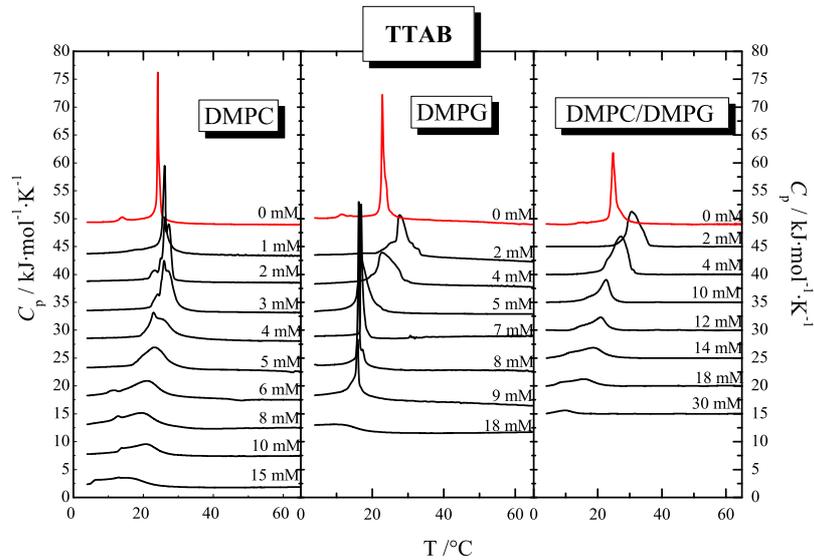


Abb. 3.30: DSC Aufheizkurve (zweiter Scan): Abhängigkeit der isobaren Wärmekapazität von der Temperatur von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmendem TTAB-Anteil in 0.1 M NaCl; zur besseren Sichtbarkeit wurden die Rohkurven entlang der Ordinatenachse verschoben

Die Analyse der Lipid-TTAB-Systeme in Abb. 3.30 lässt sowohl für DMPC, DMPG als auch DMPC/DMPG bis zu einer Tensidkonzentration von $c_{TTAB}=2 \text{ mM}$ eine T_m -Verschiebung zu höheren Temperaturen erkennen (siehe Anhang Abb. B.8). Aufgrund der Peakverschiebung zu tiefen Temperaturen wurde auf eine exakte Analyse der Phasenumwandlungsenthalpie der TTAB- und CTAB-Systeme verzichtet. Mit zunehmender TTAB-Konzentration sinkt die Hauptphasenumwandlungstemperatur bis zu Werten unterhalb der des reinen Lipides in allen Systemen verbunden mit einer Verkleinerung von $\Delta_U H$. Die Gel-Phase wird durch den TTAB-Einbau destabilisiert. TTAB/DMPG weist auch wie DTAB/DMPG bei $c_{TTAB}=8-9 \text{ mM}$ eine deutliche Verschmälerung des Phasenumwandlungspeaks einhergehend mit einer Enthalpievergrößerung auf. Das Eutektikum bildet sich bei einem TTAB/DMPG-Verhältnis von 1.6:1, was den ITC-Phasengrenzen mit $R_T^{b,sat} - R^{m,sol} \approx 1.5 - 1.6$ entspricht.

Der Einbau von CTAB in Lipidvesikel, bestehend aus DMPC und DMPG (Abb. 3.31), führt zu einer generellen Verschiebung von T_m zu höheren Temperaturen als die der reinen Lipide (Anhang Abb.B.9). CTAB stabilisiert somit stark die Gelphase der Vesikel. Bis zu einem Tensidanteil von 4–14 mM in DMPC 5 mM verschiebt sich T_m auf ca. 40–45 °C, der Umwandlungspeak ist sehr breit und weist verschiedene Schultern auf, was auch hier auf die Anwesenheit verschiedener Gleichgewichtsphasen schließen lässt. Mit zunehmendem Tensidanteil wird der Umwandlungspeak wieder schmaler, T_m nimmt ab und weist ab einem CTAB-Anteil von 18 mM einen scharfen Übergang bei $T_m \approx 28 \text{ }^\circ\text{C}$ auf. Die Umwandlungsenthalpien

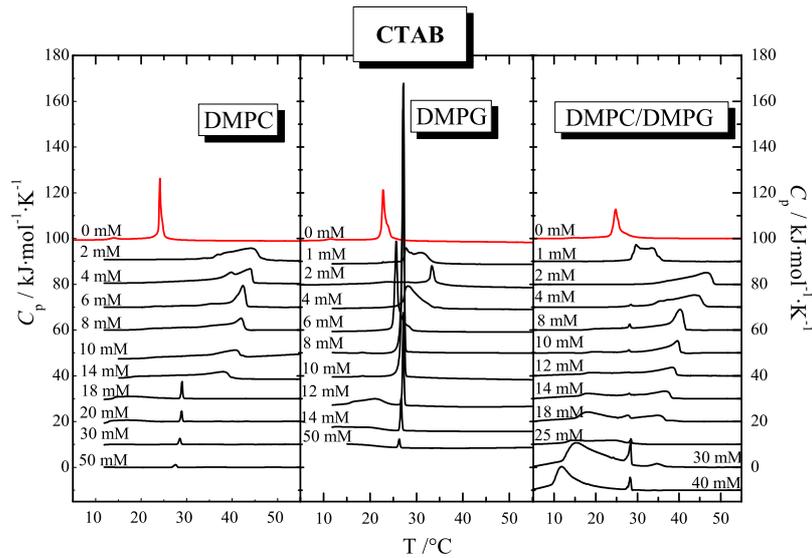


Abb. 3.31: DSC Aufheizkurve (zweiter Scan): Abhängigkeit der isobaren Wärmekapazität von der Temperatur von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmendem CTAB-Anteil in 0.1 M NaCl; zur besseren Sichtbarkeit wurden die Rohkurven entlang der Ordinatenachse verschoben

nehmen ab $c_{CTAB}=14$ mM ab. Wie auch im DTAB/DMPG- bzw. TTAB/DMPG-System ermittelt, ist bei einer Konzentration von $c_{CTAB}=9$ mM in DMPG-Vesikeln der scharfe Übergangspeak mit größter Phasenumwandlungsenthalpie beobachtet wurden. Ab dieser Konzentration nimmt $\Delta_U H$ stetig ab.

BLANDAMER et al.^[294] untersuchte die Wechselwirkungen des Modelllipids Dimethyldioctadecylammoniumbromid (DOAB) mit CTAB durch DSC. Der Einbau von CTAB in die DOAB-Membran führt zu einer Verschiebung von T_m zu kleineren Temperaturen. Der Einbau der CTAB (C_{16})-Kationen nachbarständig zu einem Lipid mit einer C_{18} -Kettenlänge führt zu einer Kettenlängenungleichheit innerhalb der Vesikelpackung, was die thermische Stabilität der Gelphasenvesikel erniedrigt. Umgekehrt ist der Effekt mit CTAB und einem Lipid kleinerer Kettenlänge, dem Didodecylphosphate (C_{12}). Hier wurde eine Phasenumwandlungstemperaturerhöhung um 10 °C ermittelt^[294] und damit eine Stabilisierung der Gelphase. Untersuchungen der PL-Phasenumwandlung mit n-Alkoholen und quarternären Alkyltrimethylammoniumbromiden verschiedener Kettenlänge^[295] bestätigen den Trend zur Erhöhung von T_m bei größerer Tensidkettenlänge im Vergleich zur Lipidkettenlänge und umgekehrt.

Das Kettenlängenverhältnis des Tensides zum verwendeten Lipid ist für die Lage von T_m entscheidend. An den hier vorgestellten Ergebnissen ist erkennbar, dass bei einer Vergrößerung der Tensidalkylkettenlänge im Vergleich zur Lipidalkylkettenlänge, eindeutig ein Trend zu höheren Phasenumwandlungstemperaturen zu verzeichnen ist, während umgekehrt bei kürzerer Tensidkettenlänge (DTAB (C_{12}) < DMPC/DMPG (C_{14})) eine Verschiebung zu niedrigeren Temperaturen er-

folgt. Die Konsequenz des Tensideinbaus mit kürzeren Alkylketten als die der PL in den Lipidvesikeln ist die Bildung von Fehlstellen^[296] zwischen den Alkylketten im Bilayer, die die umliegenden PL-Moleküle zu einer Umorientierung zwingen, um diese „Löcher“ zu verkleinern. Die Membran erfährt eine Ausdehnung und Störung der Ordnung hinsichtlich größerer Fluidität und geringerer Alkylkettenordnung innerhalb der PL-Doppelschicht. Die Richtung der T_m -Verschiebung ist dabei unabhängig von der Ladung der Kopfgruppe des Lipides. Die Quantität der Gelphasenstabilisierung von CTAB/DMPG ist im Vergleich zu CTAB/DMPC verändert. Der CTAB-Einbau in DMPG-Vesikel führt max. zu einer T_m -Erhöhung auf 35 °C bei einem CTAB-Anteil von 2mM. Dies zeigt, dass durch die CTAB-Einlagerung die elektrostatische Anziehung zwischen der kationischen und anionischen Ladung im Kopfgruppenbereich der MV die Gelphase weniger stabilisiert ist und damit die Alkylketten weniger dicht gepackt sind als durch die Einlagerung von CTAB in DMPC-Vesikel, wo eine positive Ladung in den zwitterionischen Kopfgruppenbereich der Vesikel eingeführt wird. Die Alkyltrimethylammonium-Kopfgruppe ist relativ voluminös, die die Positionierung direkt zwischen der PC- oder PG-Kopfgruppe erschwert, sodass nach Studien von ELIASZ et al.^[295] an DPPC-Vesikeln mit einer homologen Reihe von Alkyltrimethylammoniumbromiden sowie verschiedenen Fettsäuren und *n*-Alkoholen von einer Einlagerung der Kopfgruppe des Wirtsmoleküls, versetzt in Richtung Vesikelinnerem, ausgegangen wird. Dies erklärt auch die geringe Verschiebung von T_m zu höheren Temperaturen bei geringen TTAB-Konzentrationen trotz der Äquivalenz zwischen den Alkylkettenlängen der PL und TTAB. Die Ergebnisse von ELIASZ bestätigen diese Theorie. Bei Untersuchungen der pharmakologischen Eigenschaften der Alkyltrimethylammoniumbromide von JAKOB^[297] und CRAIG et al.^[298] ist bekannt, dass es eine optimale Kettenlänge für die pharmakologische Wirksamkeit als Ganglienblocker gibt. Danach ist die Erregungsübertragung an Nervenzellen besonders mit zunehmender Kettenlänge des Homologen gehemmt, was dadurch erklärt wird, dass ab einer bestimmten Kettenlänge die Tensidmoleküle innerhalb der Membran besonders stark der Orientierung der PL-Alkylketten angepasst sind und die Membran dadurch stabilisiert wird.

Zusammenfassung

In Abhängigkeit von der Kettenlänge des betreffenden Tensides verschieben sich die Sättigungs- und Solubilisierungsphasengrenzen der Vesikel-Mizell-Umwandlung von DTAB zum CTAB zu geringeren Tensidkonzentrationen. DMPG-Vesikel weisen einen breiteren Koexistenzbereich als DMPC-Vesikel auf. Die signifikant größeren $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ -Werte der DMPG/Tensid-Systeme zeigen, dass sich bedeutend mehr Tensid in die DMPG-Vesikel als in die DMPC-Vesikel an den Phasengrenzen einbaut. Diese Werte zeigen weiterhin, dass sich mehr Tensid als zur Erhaltung der Ladungsneutralität einlagert, sodass die MV an der Sättigungsphasengrenze eine positive Oberflächenladung aufweisen. Die Temperatur beeinflusst das Solubilisierungsverhalten entscheidend. Bei 30 °C sind die Phasengrenzen zu niedrigeren Tensidkonzentrationen als bei 60 °C verschoben. Am Beispiel des DTAB/DMPC-

Systems wurde ein komplettes thermodynamisches Profil mit der Berechnung der verschiedenen Verteilungskoeffizienten der Demizellisierung, Verteilung und Solubilisierung erstellt, dass in sich schlüssig ist.

Mit Hilfe der DLS-Untersuchungen konnten die kalorimetrisch ermittelten Phasengrenzen bestätigt werden. Es wurde in allen Systemen direkt vor der Sättigungsphasengrenze eine starke Vergrößerung der Vesikel infolge des Tensideinbaus beobachtet. Des Weiteren existieren ab dem Beginn des Vesikel-Mizell-Umwandlungsprozesses sehr große Aggregate, die vermutlich Wurmmizellen darstellen.

Die DSC-Studien dienten vor allem zur Untersuchung der Abhängigkeit der Hauptphasenumwandlungstemperatur der PL vom Tensidanteil in der Mischung. Hervorzuheben ist der Einfluss der Tensidkettenlänge auf T_m . Bei kleinerer Kettenlänge im Vergleich zum Lipid am Beispiel des DTAB sind die Kettenschmelztemperaturen des PL zu niedrigeren Werten verschoben und umgekehrt führt der Einbau längerer Tensidketten in die PL-Vesikel (CTAB) zu einer Erhöhung von T_m . Die Phasenumwandlung ist in jedem Fall endotherm und sehr komplex, was auf die Koexistenz verschiedener Gel-Phasen und flüssig-kristalliner Phasen der Vesikel bzw. Tensid- und PL- angereicherter Regionen innerhalb der Vesikel zurückzuführen ist. Die Tensid-DMPG-Systeme bilden bei einem molaren Verhältnis von ca. 2:1 ein charakteristisches Eutektikum.

3.2 Untersuchungen an der Wasser-Luft-Grenzfläche

3.2.1 Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie

Die Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie wurde zunächst zur Charakterisierung der Adsorption von DTAB, TTAB und CTAB aus der Subphase an die W/L-Grenzfläche genutzt. Des Weiteren wurden die durch das Spreiten der entsprechenden Substanz auf der Wasseroberfläche entstandenen reinen Monolayer, bestehend aus DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} , DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1) sowie DDAB, mit IRRAS untersucht.

Diese Informationen stellen wiederum die Grundlage für die Charakterisierung der Wechselwirkung der einzelnen Tenside mit den DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} sowie DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1)-Monolayern mit IRRAS dar. Es wurden isotopisch markierte PL verwendet, um zwischen den Alkylketten der Tenside und PL unterscheiden zu können. Mit Hilfe der IRRAS-Untersuchungen konnten somit separate Informationen über die einzelne Moleküle und Molekülteile an der W/L-Grenzfläche gesammelt werden.

Adsorptionsuntersuchungen an Gibbs-Monoschichten aus Tensiden

Untersuchungen des Oberflächendrucks Zur Charakterisierung der Tensidadsorption an der W/L-Grenzfläche wurden die mizellaren Tensidlösungen von DTAB, TTAB und CTAB schrittweise in die Subphase (0.1 M NaCl) titriert. Nach jeder Injektion wurde eine Equilibrierzeit von ca. 4 h eingehalten (Abschnitt A.4.2 und A.4.4).

Die Injektion von fünf Teilmengen in unterschiedlichen μl -Schritten der mizellaren DTAB-Lösung (400 mM) in die Subphase des Troges führte schließlich zu einer DTAB-Konzentration von 10 mM und kann in Abb. 3.32 anhand des Druck-Zeit-Verlaufs verfolgt werden.

Mit zunehmender Tensidkonzentration in der Subphase steigt der Oberflächendruck an und pegelt sich nach Einstellung des Gleichgewichtes zwischen DTAB-Molekülen in der W/L-Grenzfläche und in der Subphase auf einen konstanten Wert ein, der durch das Plateau gekennzeichnet ist. Mit Erreichen der cmc von DTAB (Abb. 3.32, $c_{DTAB}=7-10$ mM bei Injektion 4–5) steigt der Oberflächendruck nicht mehr mit fortschreitender DTAB-Injektion an, d. h. die W/L-Grenzfläche ist mit Tensidmolekülen gesättigt. Die cmc von DTAB wurde mit ITC ermittelt und beträgt bei 20 °C 8.5 mM (Abschnitt 3.1.1). Nach den ersten zwei Injektionen steigt der Oberflächendruck schnell zu einem Maximum an und fällt anschließend langsam durch die Verteilung der DTAB-Moleküle zwischen W/L-Grenzfläche und Subphase bis zur Einstellung des Gleichgewichts-Oberflächendrucks ab. Das π -Maximum direkt nach der Injektion wird durch das Einbringen und Entfernen der Spritze durch die Grenzfläche auf den Boden der Subphase verursacht, weil dadurch eine gewisse Anzahl an Tensidmolekülen von der Spritzennadel direkt auf die W/L-Grenzfläche

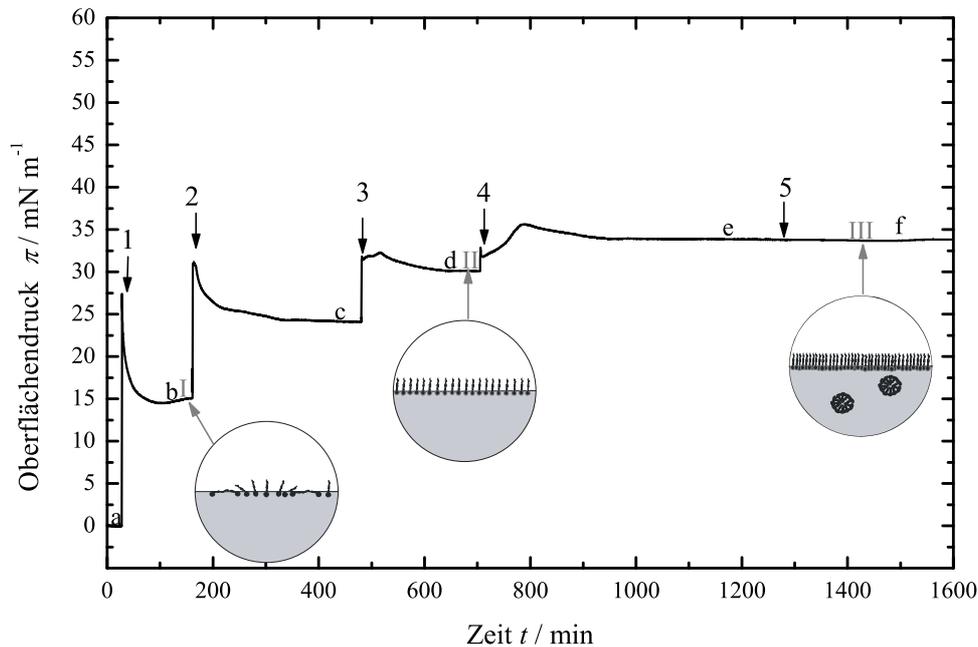


Abb. 3.32: Oberflächendruck π als Funktion der Zeit t nach der Injektion einer 400 mM DTAB-Lösung in 0.1 M NaCl, die zu verschiedenen Subphasenkonzentrationen von DTAB führt: (1) 1 mM, (2) 3 mM, (3) 5 mM, (4) 7 mM und (5) 10 mM mit Anordnungsvorschlägen (I-IV) der DTAB-Moleküle während des Adsorptionsprozesses an der W/L-Grenzfläche bei verschiedenen DTAB-Konzentrationen und Oberflächendrücken (Plateauwerte a-f)

transferiert werden. Eine weitere mögliche Ursache des langsamen Druckabfalls nach den ersten beiden Druckmaxima stellt die Bildung von „Oberflächenmizellen“ als zweidimensionale Eigenaggregate an der W/L-Grenzfläche dar, die erstmals von ALBRECHT^[84] und Yue^[299] beschrieben wurden und deren Bildung von ISRAELACHVILI^[300] ausführlich unter thermodynamischen Gesichtspunkten untersucht wurde. Im Gegensatz zu den zur Oberflächennormalen der W/L-Grenzfläche senkrecht orientierten klassischen Tensiden mit Kopf-Schwanz-Struktur, sind die Tensidmoleküle zur Bildung von Oberflächenmizellen parallel zur Grenzfläche angeordnet und bilden so plattenartige Mizellen auf der Oberfläche der Subphase. In Abb. 3.32 a–f sind zusätzlich Anordnungs- und Orientierungsvorschläge der DTAB-Moleküle während des Adsorptionsprozesses an der W/L-Grenzfläche bei verschiedenen DTAB-Konzentrationen skizziert. Diese Anordnungsannahmen wurden auf der Grundlage der detaillierten Analyse der OH- und CH₂-IR-Banden, die Informationen über die Struktur und Orientierung der Moleküle beinhalten, entwickelt und im Verlauf des Abschnittes separat diskutiert.

Zum Verständnis des π vs. t -Kurvenverlaufs ist eine Erläuterung zum Geschehen auf molekularer Ebene nach der Tensidinjektion notwendig. Werden die Tensidmizellen unterhalb der Wasseroberfläche eingespritzt, zerfallen diese in Monomere,

soweit die *cmc* des Tensides in der Subphase nicht überschritten ist. Nach dem Modell von ANIANSSON et al.^[301, 302] erfolgt die Demizellisierung in zwei Stufen: ein schneller Prozess, bei dem einzelne Moleküle aus den Mizellen als Monomere in die Lösung treten und umgekehrt sowie ein langsamer Prozess, bei dem die Mizellen vollständig zerfallen. Auch die Adsorption unterliegt zwei Teilprozessen: zunächst erfolgt die Diffusion der Tensidmonomere aus der Bulkphase in die Suboberfläche und danach erst die Adsorption in der W/L-Grenzfläche. Die Anreicherung der Tensidmoleküle in der Grenzfläche erfolgt unter einem Gewinn an Freier GIBBS-Enthalpie, die durch das Zusammenspiel des hydrophoben Effektes, der VAN DER WAALS-Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten und der intermolekular wirksamen elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen den Tensidkopfgruppen verursacht wird. Die Adsorptionskinetik von DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaBr an der W/L-Grenzfläche unterhalb und oberhalb der *cmc* wurde von VALKOVSKA et al.^[303] intensiv diskutiert und ein theoretisches Modell zur Beschreibung des Adsorptionsprozesses unter der Annahme einer langsamen, diffusionskontrollierten Adsorption entwickelt, das sehr gut mit den experimentellen Daten übereinstimmt.

MEISTER et al.^[304] untersuchte die Adsorptionskinetik von OG und SDS an der W/L-Grenzfläche. Der Verlauf der π vs. t -Kurve mit diesen Tensiden in Wasser ergibt deutliche Unterschiede. Die Gleichgewichtseinstellung nach jeder Injektion erfolgt bei den kationischen Tensiden in 0.1 M NaCl nach längeren Zeiten (200 min) als bei den von MEISTER et al. verwendeten nichtionischen und anionischen Tensiden in Wasser (Plateauwert nach ca. 30 min) unter sonst gleichen experimentellen Bedingungen. Demnach führt der größere Elektrolytgehalt in der Subphase zu einer verlangsamten Diffusionsrate der Tenside in die W/L-Grenzfläche und umgekehrt. Nach der ersten Injektion der kationischen Tenside DTAB, TTAB und CTAB konnte nicht, wie bei MEISTER et al. beobachtet, ein plötzliches Auftreten des zweiten Peaks ermittelt werden, was in dieser Publikation mit der Umorientierung der Tensidmoleküle in Oberflächenmizellen interpretiert wurde. Zu Beginn der Tensidadsorption von DTAB, TTAB und CTAB können sowohl Oberflächenmizellen als auch aufrecht orientierte Tensidmoleküle auf der W/L-Grenzfläche nebeneinander vorliegen.

Die beobachtete Adsorptionskinetik von TTAB und CTAB ähnelt der von DTAB, d. h. dass der Oberflächendruck mit zunehmender Tensidkonzentration in der Subphase zunimmt bis sich π bei ca. 30 mN/m mit dem Erreichen der *cmc* nicht mehr verändert.

Kombination des Oberflächendruckmessungen mit IRRAS Die Informationen über die Konformation und Orientierung der Alkyltrimethylammoniumbromide an der W/L-Grenzschicht konnte während der Oberflächendruckmessung mit Hilfe von IRRAS gewonnen werden. Hierfür wurden die antisymmetrische ($\nu_{as}(\text{CH}_2)$) und symmetrische ($\nu_s(\text{CH}_2)$) Methylen-Streckschwingungsbande der Alkylketten bei 2925 cm^{-1} bzw. 2850 cm^{-1} ausgewertet. Zusätzlich wurden die antisymmetrische und symmetrische Streckschwingung des Wassers ($\nu(\text{OH})$) bei einer Wellenzahl von 3600 cm^{-1} analysiert (Tab. 2.2).

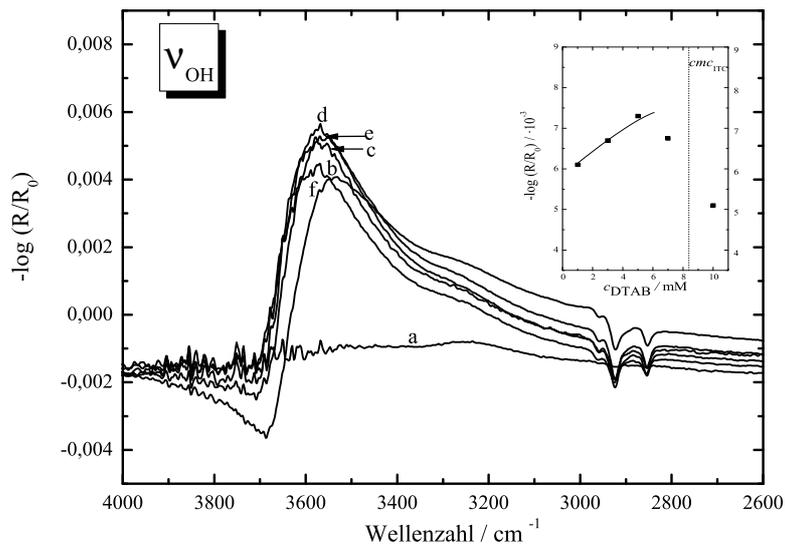


Abb. 3.33: IRRA-Spektren der antisymmetrischen und symmetrischen Streckschwingung des Wassers ($\nu(\text{OH})$) des DTAB-GIBBS-Monolayers auf 0.1 M NaCl bei verschiedenen DTAB-Konzentrationen: (a) 0 mM, (b) 1 mM, (c) 3 mM, (d) 5 mM, (e) 7 mM und (f) 10 mM; innere Abbildung: Funktion der Extinktion von $\nu(\text{OH})$ als Funktion von c_{DTAB}

Abb. 3.33 zeigt die Spektren der OH-Streckschwingungsbande der DTAB-GIBBS-Monoschicht bei den verschiedenen DTAB-Konzentrationen zwischen 1–10 mM. In der inneren Abbildung ist die Intensität der OH-Banden als Funktion der DTAB-Konzentration dargestellt, die mit zunehmender DTAB-Konzentration bis zu einem Maximum bei $c_{\text{DTAB}}=5$ mM ($<cmc_{\text{DTAB}}=8.5$ mM, Tab.3.1) steigt. Danach fällt die Intensität mit weiterer DTAB-Injektion bis zur cmc und darüber hinaus ab.

Die Intensität der OH-Bande des IRRA-Spektrums korreliert mit der Filmdicke, wie ausführlich von MEISTER et al.^[305] beschrieben wird und an dieser Stelle nur qualitativ interpretiert wird. Die durchschnittliche Schichtdicke der GIBBS-Monolayer von DTAB als auch von TTAB und CTAB (Abb. B.10 und B.11) nimmt bis zu einer Konzentration zu, die ungefähr halb so groß wie die cmc des betreffenden Tensides ist. Der darauffolgende Intensitätsabfall kann nicht zweifelsfrei mit der Abnahme der Schichtdicke interpretiert werden, da mit zunehmender Zeit eines Experimentes die Diffusion der Tensidmoleküle innerhalb der Subphase in den Nachbartrog an Bedeutung gewinnt. Verschiedene andere Untersuchungen an GIBBS-Monolayern mit SDS oder OG auf Wasser^[304, 305] ergaben ein Filmschichtdickenwachstum bis zum Erreichen der kritischen Mizellbildungskonzentration des Tensides. Die Intensität der OH-Bande der homologen kationischen Tenside DTAB, TTAB und CTAB auf 0.1 M NaCl kann so nur mit einer Zunahme der Schichtdicke der Monoschicht bis zur dritten Injektion interpretiert werden. Dies ist durch eine Veränderung der Molekülorientierung in der W/L-Grenzfläche erklärbar, und in Abb. 3.32 schematisch und sehr vereinfacht dargestellt. Mit der ersten Injektion von DTAB steigt die OH-Bandenintensität, verursacht durch die Adsorption erster Tensidmoleküle

in aufrechter Orientierung, stark an (I). Die zusätzliche Ausbildung von „Oberflächenmizellen“ ist des Weiteren möglich. Mit der zweiten und dritten Injektion erreichen weitere DTAB-Moleküle die Oberfläche, einhergehend mit einem Druckanstieg und einer Schichtdickenvergrößerung, verursacht durch die Umordnung der DTAB-Moleküle zu einer zur Oberflächennormalen senkrechten Orientierung und der Dissoziation der Oberflächenmizellen in Monomere. Die weitere DTAB-Zugabe führt zu einem Anstieg des Oberflächendrucks aber zu einer subjektiv wahrnehmbaren Verringerung der OH-Bandenintensität. Dies mit der Abnahme der Schichtdicke aufgrund einer Neigung der DTAB-Moleküle zur Oberflächennormalen zu interpretieren wäre spekulativ, da nach einer Zeit von ca. 10 h die Diffusion der Tensidmonomere in den Referenztrough messbar wird. Jedoch ergaben Neutronenreflektionsstudien an DTAB-Monoschichten der W/L-Grenzfläche von LYTTLE et al.^[306] bei größter Oberflächenkonzentration von DTAB eine Neigung aller Tensidalkylketten zur Oberflächennormalen, sodass eine Diffusion der Moleküle in den Referenztrough in Betracht zu ziehen ist, aber eine Orientierungsänderung der Moleküle an der W/L-Grenzfläche von senkrecht in geneigt zur Oberflächennormalen der W/L-Grenzschicht nicht ausgeschlossen werden kann. Mit dem Erreichen der *cmc* adsorbieren keine zusätzlichen DTAB-Moleküle an der Grenzfläche. Der Oberflächendruck steigt nicht weiter mit zunehmender DTAB-Konzentration an. Die OH-Bandenintensität nimmt deutlich infolge der einsetzenden Mizellbildung ab (III).

LYTTLE^[306] konnte anhand der Neutronenreflektionsmessdaten an DTAB, TTAB und CTAB-Monolayern auf 0.15 M NaBr für alle drei Tenside an der *cmc* eine Moleküllänge von 16–17 Å nachweisen. Es ergaben sich keine Unterschiede in der Schichtdicke von DTAB zum CTAB, was mit einer Zunahme der Oberflächenrauigkeit mit zunehmender Tensidkettenlänge erklärt wurde. Zusätzlich markierte LYTTLE et al. eine Hälfte der Alkylkette mit Deuterium, um genauere Informationen über die Alkylkettenordnung dieser Tenside in der Grenzphase zu erhalten. Als Ergebnis wurde für die obere Hälfte der Alkylkette eine stärkere Neigung zur Oberflächennormalen als für den unteren Alkylkettenteil beobachtet, wobei der Unterschied mit zunehmender Tensidkettenlänge stärker wird. Nach LU et al.^[307] beträgt die Alkylkettenlänge des kürzesten Tensids DTAB ca. 17.5 Å (2.5 nm·7) und die Länge des Gesamtmoleküls >19.25 Å (Distanz von N zu α -CH₂=1.75 nm). TANFORD^[308] publizierte für die vollständig ausgestreckten Alkyltrimethylammoniumbromide an der W/L-Grenzfläche variierende Moleküllängen zwischen 16.7, 19 bzw. 21 Å für DTAB, TTAB bzw. CTAB. Da die OH-Bandenintensität keine deutlichen Unterschiede zwischen DTAB, TTAB und CTAB aufweist, müssen die Moleküle nach TANFORD geneigt zu Oberflächennormalen orientiert sein.

Neben der Analyse der OH-Banden wurde die Adsorption der kationischen Tenside durch Untersuchung der antisymmetrischen und symmetrischen Methylen-Streckschwingungsbanden verfolgt, die in Abb. 3.34 für die verschiedenen DTAB-Konzentrationen zusammengefasst sind. Die Basislinien wurden zur Darstellung gering in vertikaler Richtung verschoben. Die Bandenfrequenz und -breite sind bekanntlich sensitiv gegenüber dem *trans-gauche*-Konformeren-Verhältnis der Methylengruppen in den Alkylketten, wobei die Verschiebung der Bandenmaxima in

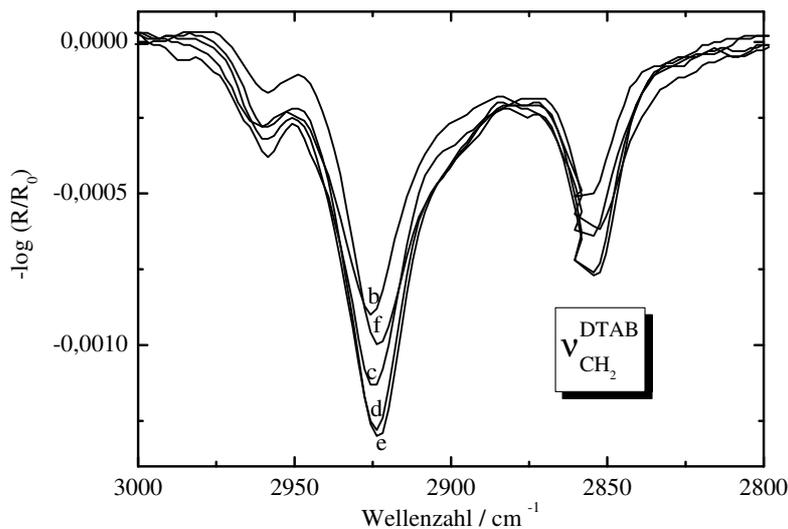


Abb. 3.34: IRRA-Spektren der Methylen-Streckschwingungsregion der DTAB-GIBBS-Monolayers auf 0.1 M NaCl bei verschiedenen DTAB-Konzentrationen: (b) 1 mM, (c) 3 mM, (d) 5 mM, (e) 7 mM und (f) 10 mM

Richtung niedrigerer Frequenzen charakteristisch für hochgeordnete Alkylketten mit einem großen Anteil an *trans*-Konformeren ist^[242, 309, 310]. Die Intensität der Methylenbanden nimmt mit zunehmender Tensidkonzentration bis hin zur *cmc* zu, was mit einer Zunahme an adsorbierten Tensidmolekülen einhergeht (Abb. 3.35, Anhang B.12, B.13, B.14). Eine Konzentrationsvergrößerung über die *cmc* hinaus führt bei allen untersuchten Tensiden zu einer Verkleinerung der Bandenintensität und damit verbunden zu einer Verringerung der Tensidmolekül-Oberflächenkonzentration. Im unteren Diagramm der Abb. 3.34 ist die Verschiebung der antisymmetrischen als auch symmetrischen Methylen-Streckschwingungsbanden von DTAB von 2926 cm^{-1} zu 2923.5 cm^{-1} bzw. von 2856 cm^{-1} zu 2852 cm^{-1} mit zunehmender Adsorption infolge der Konzentrationsvergrößerung von DTAB in der Subphase ersichtlich. Dies kennzeichnet eine Abnahme des Anteils an *gauche*-Konformeren in DTAB infolge der vergrößerten Oberflächenkonzentration von DTAB. Die dichtere, geordnetere Packung der Moleküle mit zunehmender Tensidkonzentration wurde auch während der Adsorption von TTAB und anhand der symmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande von CTAB beobachtet (Anhang Abb. B.13, B.14). Die Frequenz von $\nu_{as}(\text{CH}_2)$ des CTAB-Monolayers weist hingegen keine Veränderung mit zunehmender Tensidkonzentration und bei einer Wellenzahl von 2924 cm^{-1} einen hohen geordneten Zustand der Alkylkette von Beginn der Adsorption an auf. Dennoch sind die Querschnittsflächen der "löslichen" Tensidmoleküle im GIBBS-Monolayer größer als die der typisch „unlöslichen“ PL-Moleküle in dicht gepackten LANGMUIR-Filmen, sodass die Packung der Tensidmoleküle im Vergleich zu denen der PL-Moleküle als relativ locker verstanden werden kann.

Der Einfluss von zusätzlichem NaCl in der Subphase spiegelt sich neben der *cmc*-

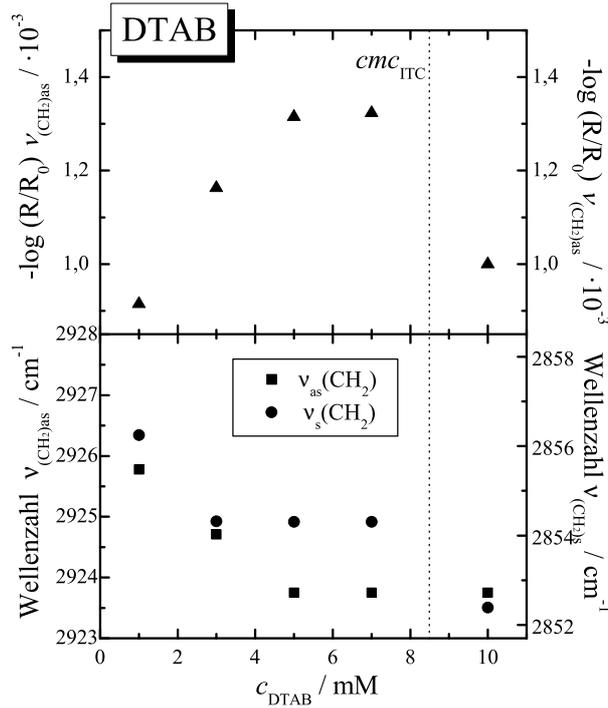


Abb. 3.35: Oben: Extinktionswerte der antisymmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande des DTAB-GIBBS-Monolayers als Funktion der DTAB-Konzentration. Unten: Abhängigkeit der Wellenzahl der antisymmetrischen (Quadrate) sowie symmetrischen (Kreise) CH_2 -Streckschwingungsbande als Funktion der DTAB-Konzentration; die gestrichelte Linie entspricht der ermittelten cmc von DTAB bei 20°C in 0.1 M NaCl mit ITC

Erniedrigung des Tensides auch in der Vergrößerung der Oberflächendichte der Tensidmoleküle an der W/L-Grenzfläche aufgrund der Abschirmung der kationischen Ladung durch Gegenionencondensation wider. Dies führt zu einer Verringerung der elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen den kationischen Kopfgruppen in der Grenzschicht. PROSSER et al.^[309] bestimmte für SDS in Gegenwart von NaCl eine kleinere Frequenzverschiebung der antisymmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande zu geringeren Wellenzahlen als in Wasser, was auch durch die Untersuchung von DTAB in NaCl und Wasser (Daten nicht aufgeführt) bestätigt wird.

Die während der Aufnahme der IRRA-Spektren gemessenen GIBBS-Adsorptionsisothermen (Gl. 2.3) von DTAB, TTAB und CTAB mit der WILHELMY-Filmwaage in 0.1 M NaCl bei 20°C sind in Abb. 3.36 (geschlossene Symbole) dargestellt und können durch folgende Gleichung in Gegenwart von zusätzlichen Elektrolyten berechnet werden^[51]:

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln c} \right)_T \quad (3.27)$$

wobei Γ der Oberflächenkonzentration, γ der Oberflächenspannung und c der Ten-

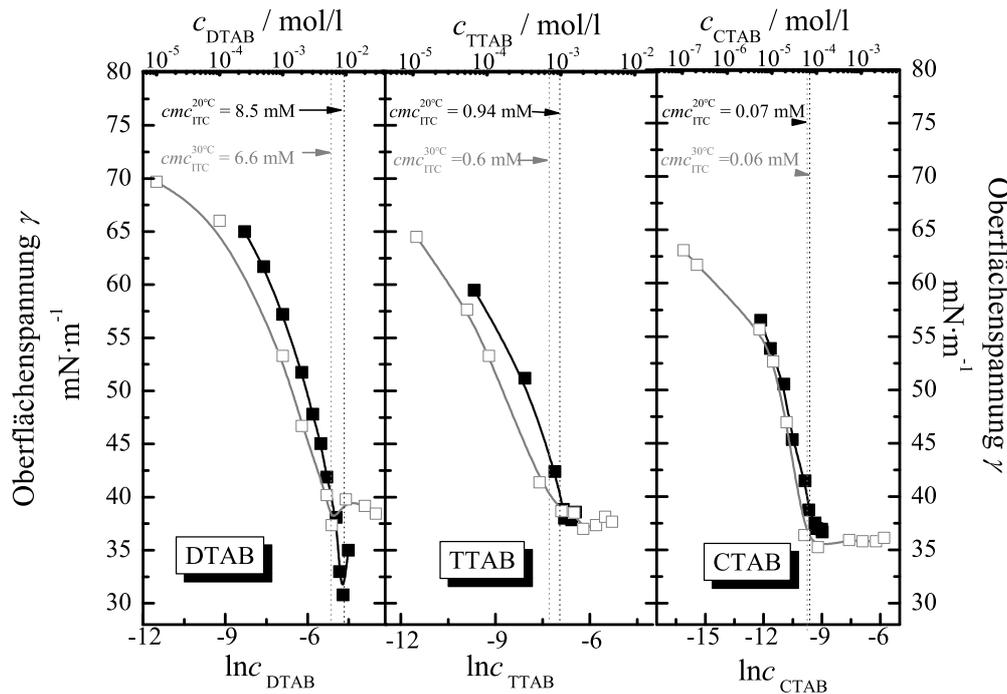


Abb. 3.36: Abhängigkeit der Oberflächenspannung der wässrigen DTAB, TTAB und CTAB-Lösung in 0.1 M NaCl als Funktion der Konzentration, gemessen mit der WILHELMY-Filmwaage während der Aufnahme der IRRA-Spektren (geschlossene Symbole) bei 20 °C und der DU NOÛY-Ringmethode (graue, offene Symbole) bei 30 °C; die gestrichelten Linien entsprechen der *cmc* der verwendeten Tenside in 0.1 M NaCl, die mit ITC bestimmt wurden

sidkonzentration in der Bulkphase entspricht. Die Oberflächenspannung nimmt bekanntlich mit zunehmender Tensidkonzentration bis zur *cmc*, der Sättigung der Adsorption des Tensides, ab. Zur Verifizierung der Ergebnisse, die durch die schrittweise Tensidinjektion unter die Subphasenoberfläche gesammelt werden konnten, wurde zusätzlich die DU-NOÛY-Ringmethode zur direkten Messung der Oberflächenspannung einer vorpräparierten Tensidlösung entsprechender Konzentration angewendet und deren Ergebnisse in Abb. 3.36 hinzugefügt. Es ist ersichtlich, dass die Ringmethode trotz einer Temperaturdifferenz von 10 °C vergleichbare Ergebnisse zeigt. Die so ermittelbaren *cmc*-Werte beider Messmethoden sind in guter Übereinstimmung mit Oberflächenspannungsuntersuchungen, die in der Literatur^[303, 311–313] existieren sowie mit den ermittelten *cmc*-Werten, die durch ITC (gestrichelte Linien) erhalten wurden.

Aus dem Fit der experimentell bestimmten Oberflächenspannungswerte γ als Funktion von $\ln c$ kann mit Gl. 3.27 die Oberflächenkonzentration Γ der jeweiligen Tenside berechnet werden, welche zwischen $4.5\text{--}5.5 \cdot 10^{-6}$ mol pro m² variierten (Abb. B.15). Nach MEDRZYCKA^[314] beträgt Γ für DTAB, TTAB und CTAB, untersucht auf der reinen Wasseroberfläche bei 25 °C, ($6\text{--}7.5 \cdot 10^{-6}$ mol pro m²). Die LANGMUIR-Isotherme beschreibt einen idealen Adsorptionsprozess unter Ver-

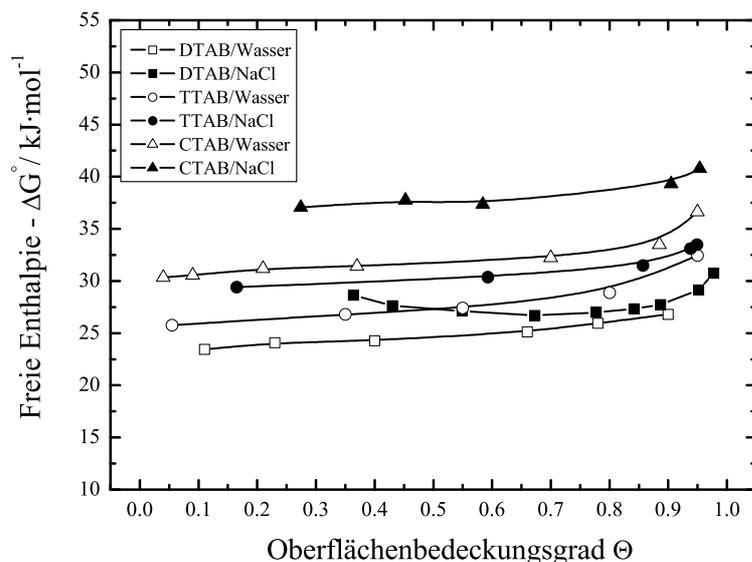


Abb. 3.37: Berechnete Freie Standard-GIBBS-Enthalpie der Adsorption von DTAB, TTAB und CTAB aus der NaCl-haltigen Subphase an die W/L-Grenzfläche (geschlossene Symbole) als Funktion des Oberflächenbedeckungsgrades bei 20 °C sowie aus reinem Wasser (offene Symbole) berechnet nach MEDRZYCKA et al.^[314] nach Gl. 3.28

nachlässigung der Wechselwirkungen zwischen den adsorbierten Molekülen. Mit Hilfe der Isotherme kann die Freie-GIBBS-Standard-Enthalpie der Adsorption ΔG° folgendermaßen berechnet werden:

$$\frac{\theta}{1 - \theta} = \frac{f_T c_T}{55.5} e^{-\frac{\Delta G^\circ}{RT}} \quad (3.28)$$

wobei θ dem Grenzflächenbedeckungsgrad ($\theta=1$ bei cmc), c_T der Tensidkonzentration in der Bulkphase, f_T dem Aktivitätskoeffizient des Tensides und 55.5 der molaren Konzentration des Wassers entspricht. Mit der vereinfachten Annahme, dass $f_T=1$ im Überschuss von Gegenionen in der Subphase, die die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Tensidmolekülen verringert, wurde $-\Delta G^\circ$ berechnet und als Funktion des Bedeckungsgrades θ in Abb.3.37 dargestellt. Die Freie Enthalpie ändert sich mit zunehmendem Bedeckungsgrad und nimmt die größten Werte mit -32 kJ/mol für DTAB, -34 kJ/mol für TTAB und -41 kJ/mol für CTAB bei einer vollständigen Bedeckung ein. Die Änderung der GIBBS-Standard-Enthalpie der Mizellisierung bei 25 °C in der NaCl-enthaltender Volumenphase ergab, berechnet mit ITC nach dem PS-Modell, etwas kleinere Werte (-34 kJ/mol für DTAB, -40.3 kJ/mol für TTAB und -44.6 kJ/mol für CTAB) und stimmen annähernd mit den berechneten Werten aus den Adsorptionsexperimenten überein. Wie auch schon mit der ITC ermittelt, sind die berechneten Beträge der GIBBS-Enthalpie aus den Adsorptionsuntersuchungen der einzelnen Homologen mit zunehmender Kettenlänge

innerhalb des gesamten Bereiches des Bedeckungsgrades größer. Ein Vergleich mit den $-\Delta G^\circ$ -Beträgen, die von MEDRZYCKA^[314] in Wasser bestimmt wurden, zeigt, dass mit zusätzlichem Salz in der Subphase $-\Delta G^\circ$ größer ist, wie es auch für die Mizellisierung in der Volumenphase beobachtet wurde (Abb 3.8).

Mit Hilfe der Oberflächenkonzentration Γ wurde die molekulare Fläche der Tensidmoleküle (A_T) an der W/L-Grenzfläche als Funktion des Oberflächendrucks π , der als Differenz der Oberflächenspannung von der unbedeckten Wassergrenzfläche γ_0 (72 mN/m) und der bedeckten Oberfläche γ definiert ist, berechnet (Abschnitt 2.2.2). Die molekulare Fläche A_T ist von der Oberflächendichte des Tensides an der Grenzfläche N_T durch $A_T = 1/N_T$ abhängig, welches selbst mit $N_T = \Gamma \cdot N_A$ berechnet wird. N_A entspricht hierbei der AVOGADRO-Konstante. Die so berechneten π/A_T -Isothermen sind in Abb. 3.38 zusammengestellt. An der *cmc* variiert die molekulare Fläche von DTAB, TTAB und CTAB zwischen 30 - 40 Å² pro Molekül. Diese Werte werden von Studien nach VALKOSVSKA et al. ^[303] bestätigt, die einen Querschnittsflächenbedarf der Trimethylammoniumkopfgruppe von 0.38 nm² berechnete. Nach vorliegenden Ergebnissen führt eine Verlängerung der Alkylkette zu einer Vergrößerung der Molekülfläche, obwohl die drei Tenside die gleiche Kopfgruppe besitzen. Dies ist nur mit stärker geneigten Alkylketten oder größerem Anteil an *gauche*-Konformeren innerhalb der Tensidalkylketten von DTAB zum CTAB erklärbar. In der Literatur existieren molekulare Flächenwerte an der *cmc* auf 0.15 M NaBr von 44 Å² pro DTAB-Molekül und auf reinem Wasser Werte für DTAB, TTAB und CTAB zwischen 40–50 Å² pro Molekül^[311, 315, 316].

Langmuir-Adsorptionsisothermen der reinen Lipide

In Abb. 3.38 sind die LANGMUIR-Adsorptionsisothermen der reinen Lipidfilme bestehend aus DMPC-*d*₅₄, DMPG-*d*₅₄ bzw. dem Lipidgemisch aus beiden in einem Verhältnis 1:1 auf 0.1 M NaCl bei 20 °C dargestellt. Während der Kompression der Lipidfilme nimmt der Oberflächendruck π bis zum Filmkollaps zu. Die DMPC-Monoschicht wird bei $\pi=44$ mN/m und $A_{DMPC}=51$ Å² pro DMPC-Molekül instabil, die DMPG-Monoschicht bei $\pi=40$ mN/m und $A_{DMPG}=66$ Å² pro DMPG-Molekül. Die Werte der gemischten Monoschicht liegen dazwischen. Entlang der Isothermen existiert ausschließlich die LE-Phase (Abschnitt 3.2.2). Die Querschnittsfläche pro Kohlenwasserstoffkette beträgt für eine hoch geordnete Monoschicht 21 Å² pro Dodecanol^[317]. Die verwendeten PL beanspruchen eine größere Querschnittsfläche von 42 Å² pro Molekül (Querschnittsfläche zweier Alkylketten), was zeigt, dass noch ein gewisser Anteil an *gauche*-Konformeren innerhalb der Alkylketten existiert und die Kopfgruppen der Lipide die Querschnittsfläche vergrößern. DMPG weist eine größere Fläche pro Molekül als DMPC auf, was trotz der Abschirmung durch den Überschuss an NaCl in der Subphase auf noch vorhandene elektrostatische Abstoßungskräfte zwischen den PL-Kopfgruppen hinweist. GARIDEL und BLUME^[318] beschreiben eine Filmexpansion von DMPG-Monolayern mit einer Zunahme der NaCl-Konzentration in der Subphase von 0–100 mM, verursacht durch die Ionisierung der Kopfgruppe und der Na⁺-Ionen-Penetration zwischen die anionischen Kopfgruppen der PL.

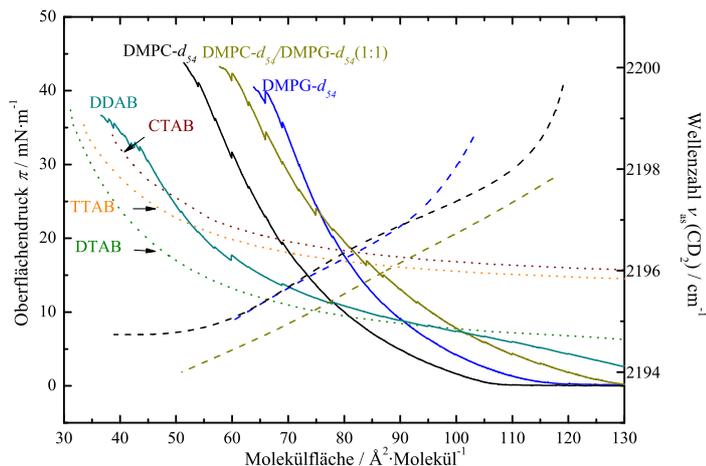


Abb. 3.38: Gepunktete Linien: berechnete Oberflächendruck/Molekülflächen-Isothermen der GIBBS-Monolayer von DTAB (grün), TTAB (orange) und CTAB (braun) auf 0.1 M NaCl an der W/L-Grenzfläche bei 20 °C; durchgezogene Linien: gemessene π/A -Isothermen von DMPC- d_{54} (schwarz), DMPG- d_{54} (blau), DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1) (gelb) und DDAB (cyan); gestrichelte Linien: Wellenzahl der antisymmetrischen CD_2 -Streckschwingungsbande von DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} bzw. DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1) vs. Molekülfläche

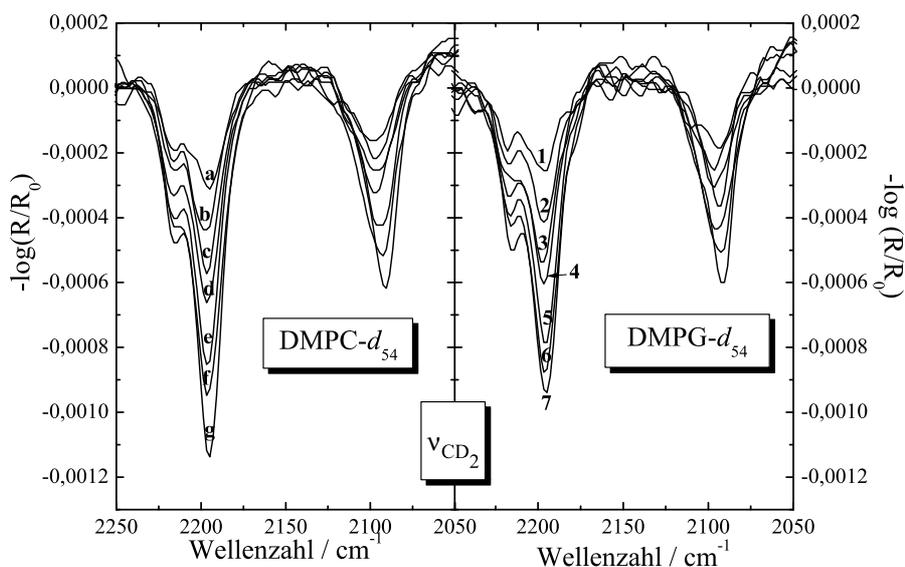


Abb. 3.39: IRRA-Spektren der CD_2 -Streckschwingungsbanden des reinen DMPC- d_{54} bei folgenden Oberflächendruck (mN/m): (a) 0, (b) 4.9, (c) 9.4, (d) 16.3, (e) 27.0, (f) 36.2 und (g) 46.3 sowie des reinen DMPG- d_{54} : (1) 0.2, (2) 4.8, (3) 10.1, (4) 18.0, (5) 27.0, (6) 37.5 und (7) 39.1

Um zwischen den Alkylketten der verwendeten Tenside und denen der PL unterscheiden zu können, wurden perdeuterierte PL verwendet, die die antisymmetrische (ν_{as}) und symmetrische (ν_s) Methylen-Streckschwingungsbande bei einer Frequenz von 2200 cm^{-1} bzw. 2195 cm^{-1} aufweisen. In Abb. 3.39 ist eine Auswahl der analy-

sierten CD_2 -Banden von DMPC und DMPG während der Filmkompression gezeigt (analog dazu für das DMPC/DMPG-Gemisch in Abb. B.17). Erwartungsgemäß nehmen die Intensitäten der antisymmetrischen und symmetrischen CD_2 -Banden mit zunehmender Kompression zu und die Wellenzahlen der antisymmetrischen Streckschwingungsbande nimmt ab (Abb. 3.38), was einen zunehmenden Anteil an geordneten *all-trans*-Konformeren in der LE-Phase der PL anzeigt.

Des Weiteren ist in Abb. 3.38 die Adsorptionsisotherme von DDAB dargestellt. Die Monoschicht wird bei $\pi=37 \text{ mN/m}$ und $A_{DDAB}=37 \text{ \AA}^2$ pro Molekül instabil, was in guter Übereinstimmung mit Studien an DDAB von HAC-WYDRO^[319] und VI-SEU^[320] ist. Die während der Kompression aufgenommenen CH_2 -Streckschwingungsbanden, deren Intensität mit zunehmender Flächenverkleinerung der DDAB-Moleküle größer wird, sind in Abb. B.16 zusammengefasst.

Einbau der Tenside in die Lipidmonolayer

Abb. 3.40 zeigt π als Funktion der Zeit für den Einbau von DTAB in DMPC- und DMPG-Monolayer, beginnend ab einem Oberflächendruck von $\approx 12 \text{ mN/m}$. Nach jeder DTAB-Injektion unter die Lipiddoppelschicht steigt der Oberflächendruck aufgrund des zunehmenden DTAB-Einbaus in die Monolayer an. Die jeweilige Sättigung der Lipidschicht mit DTAB ist durch die konstanten π -Werte nach der jeweiligen Injektion gekennzeichnet. Der maximale stabile Oberflächendruck beträgt sowohl für das DTAB/DMPC- als auch für das DTAB/DMPG-System 41 mN/m . Für die absolute Sättigung der DMPC-Monoschicht ist fast ein Drittel mehr an DTAB (3.4 mM bei 6) notwendig als für die Sättigung der DMPG-Monoschicht (2.6 mM bei IV), was dadurch verursacht wird, dass der DMPC-Film stärker kondensiert ist als der DMPG-Film und sich mehr Tensid in die DMPG-Monoschicht einlagern kann, als in die DMPC-Monoschicht. Dies hat, wie auch in der Volumenphase bei den DMPG-Vesikeln beobachtet, elektrostatische Ursachen, auf die bei der Diskussion der berechneten Verteilungskoeffizienten im fortführenden Teil des Abschnittes noch einmal eingegangen werden. Innerhalb des untersuchten DTAB-Konzentrationsbereiches wurde keine Zerstörung der Lipidschichten durch Solubilisierung beobachtet.

Die IRRA-Spektren, die während der Aufnahme des Oberflächendrucks in Abhängigkeit von der zugegebenen DTAB-Menge aufgenommen wurden, sind für die DTAB/DMPC und DTAB/DMPG-Mischmonolayer in Abb. 3.41 zusammengestellt. In den linken oberen und unteren Darstellungen sind die CD_2 -Banden der antisymmetrischen und symmetrischen Stretschwingung gezeigt. Es ist keine signifikante Veränderung der Bandenintensitäten mit zunehmender DTAB-Konzentration innerhalb der W/L-Grenzfläche erkennbar, was auf eine relativ konstante Oberflächendichte der DMPC- und DMPG-Moleküle in der Grenzschicht schließen lässt. Die Analyse der Bandenfrequenzen mit zunehmender DTAB-Konzentration (Abb. 3.42) zeigt nur eine sehr kleine Verschiebung zu niedrigeren Wellenzahlen beim DMPC und keine Veränderung beim DMPG. Die antisymmetrische CD_2 -Bande von DMPC verschiebt sich um 1 cm^{-1} , von 2197 cm^{-1} zu 2196 cm^{-1} , was eine

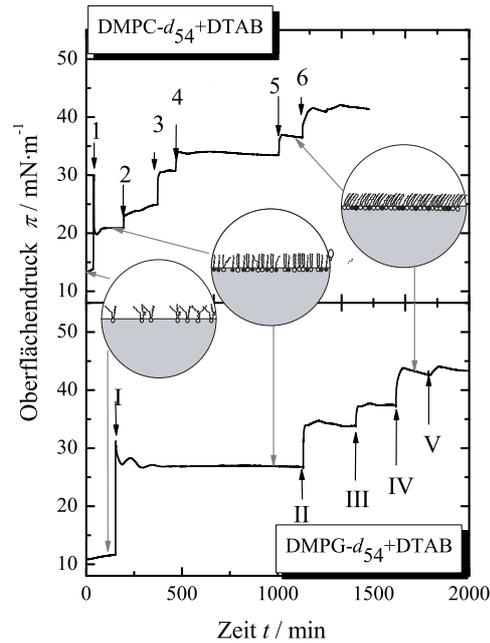


Abb. 3.40: Oberflächendruck als Funktion der Zeit nach der DTAB-Injektion unter die DMPC- d_{54} - (oberes Diagramm) bzw. DMPG- d_{54} -Monoschicht (unteres Diagramm) mit folgenden DTAB-Konzentrationen in der 0.1 M NaCl-Subphase: DMPC- d_{54} /DTAB: (1) 125 μM , (2) 320 μM , (3) 625 μM , (4) 1320 μM , (5) 2010 μM und (6) 3400 μM ; DMPG- d_{54} /DTAB: (I) 167 μM , (II) 667 μM , (III) 1170 μM , (IV) 2670 μM und (V) 4170 μM

nur geringe Vergrößerung der PC-Alkylkettenordnung infolge des DTAB-Einbaus anzeigt.

Andererseits vergrößert sich die Intensität der CH₂-Streckschwingungsbande (Abb 3.41) infolge des DTAB-Einbaus in die DMPC- und DMPG-Monoschicht drastisch. Dies ist verbunden mit einer Frequenzverschiebung von 1-2 cm⁻¹ (Abb 3.42), was eine zunehmende Ordnung der Alkylketten von DTAB mit zunehmender Oberflächenkonzentration bedeutet. Aus der Intensitätsänderung der OH-Banden auf der rechten Seite der Abb. 3.41 mit dem Einbau der DTAB-Moleküle in die DMPC- und DMPG-Monolayer wurden die Orientierungsmöglichkeiten der Amphiphile auf der W/L-Grenzfläche, dargestellt in Abb. 3.40, entwickelt. Bis zur Injektion 5 bzw. IV von DTAB unter die DMPC- bzw. DMPG-Lipidschicht, welche eine Subphasenkonzentration von 2.01 mM bzw. 2.7 mM kennzeichnen, nimmt die OH-Banden-Intensität und damit verbunden die Filmschichtdicke zu. Mit einer weiteren DTAB-Injektion, die den Oberflächendruck ansteigen lässt und die gleichzeitig mit einer Zunahme an DTAB-Molekülen in der W/L-Grenzschicht verbunden ist, verringert sich die Intensität der OH-Bande. Dies kann einerseits durch eine Umorientierung der senkrecht zur Oberflächennormalen gerichteten Amphiphile in eine geneigte Anordnung erklärt werden, andererseits muss jedoch auch die Möglichkeit der Diffusion der DTAB-Moleküle in den Nachbartrog in Betracht gezogen werden.

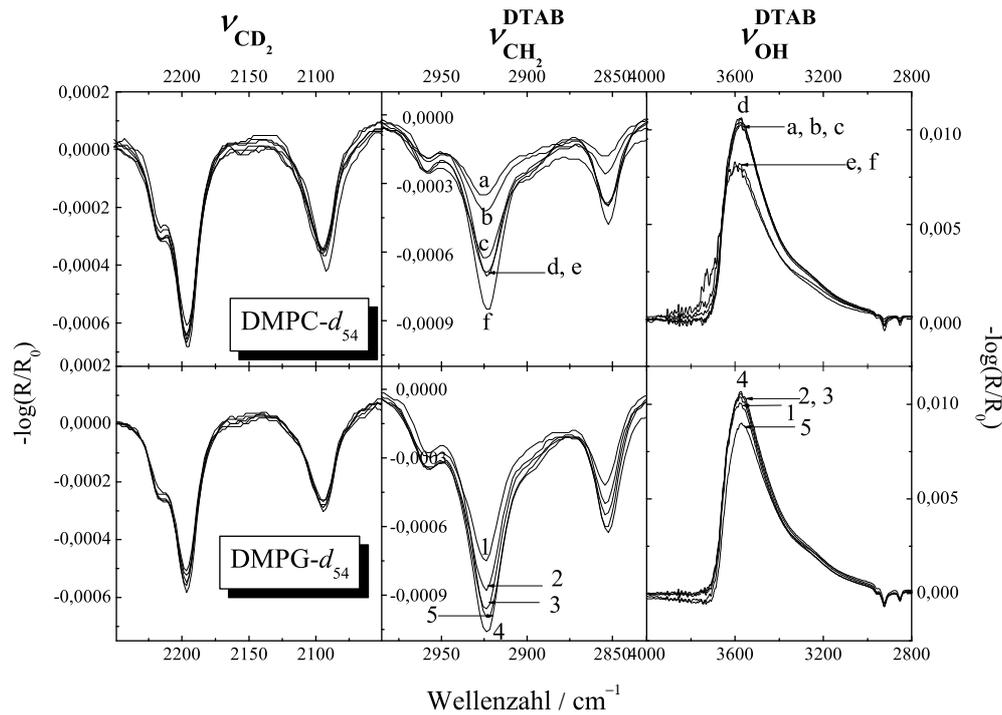


Abb. 3.41: IRRA-Spektren der OH-, CH₂-, CD₂-Streckschwingungsbanden; obere Diagramme: DMPC-*d*₅₄-Film nach dem DTAB-Einbau bei verschiedenen Oberflächendrücken und DTAB-Konzentrationen in der Subphase, gekennzeichnet durch (a) $\pi=20.9\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=125\ \mu\text{M}$, (b) $\pi=24.9\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=320\ \mu\text{M}$, (c) $\pi=30.9\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=625\ \mu\text{M}$, (d) $\pi=33.4\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=1320\ \mu\text{M}$, (e) $\pi=36.4\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=2010\ \mu\text{M}$ und (f) $\pi=40.9\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=3400\ \mu\text{M}$; untere Diagramme: DMPG-*d*₅₄-Film nach dem DTAB-Einbau bei verschiedenen Oberflächendrücken und DTAB-Konzentrationen in der Subphase, gekennzeichnet durch (1) $\pi=27.4\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=167\ \mu\text{M}$, (2) $\pi=33.8\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=667\ \mu\text{M}$, (3) $\pi=37.6\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=1170\ \mu\text{M}$, (4) $\pi=42.9\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=2670\ \mu\text{M}$ und (5) $\pi=42.5\text{ mN/m}$ und $c_{DTAB}=4170\ \mu\text{M}$

Berechnung der Verteilungskoeffizienten Die Berechnung der Verteilungskoeffizienten der Tensidmoleküle zwischen der Bulkphase und der Lipidmonoschicht auf der Basis der IRRA-Spektren erfolgte nach MEISTER et al.^[241, 305]. Hierfür wurde zunächst der Extinktionskoeffizient $\epsilon_{Molekuel}$ der individuellen Komponenten bestimmt. Es wurde angenommen, dass die Extinktionskoeffizienten der CD₂- und CH₂-Banden (ϵ_L und ϵ_T) der reinen Komponenten und der Lipid/Tensid-Mischmonolayer ($\epsilon_{L/T}$ und $\epsilon_{T/L}$) bei gleichem Oberflächendruck identisch sind (Gl. 3.30). Damit ist die Anzahl der Lipid- und Tensidmoleküle pro Å² im gemischten Monolayer ($N_{L/T}$ und $N_{T/L}$) direkt aus den Extinktionswerten der antisymmetrischen CD₂- und CH₂-Banden des Mischfilms ($Abs_{L/T}$ und $Abs_{T/L}$) berechenbar (Gl. 3.31). Die Ermittlung der Extinktionswerte der antisymmetrischen CD₂- und CH₂-Banden im Mischfilm erfordert wiederum die Berechnung der Extinktionskoeffizienten der reinen Komponenten (ϵ_L und ϵ_T) aus den ausgelesenen Extinktionswerten der reinen Komponenten (Abs_L und Abs_T) und der Anzahl der

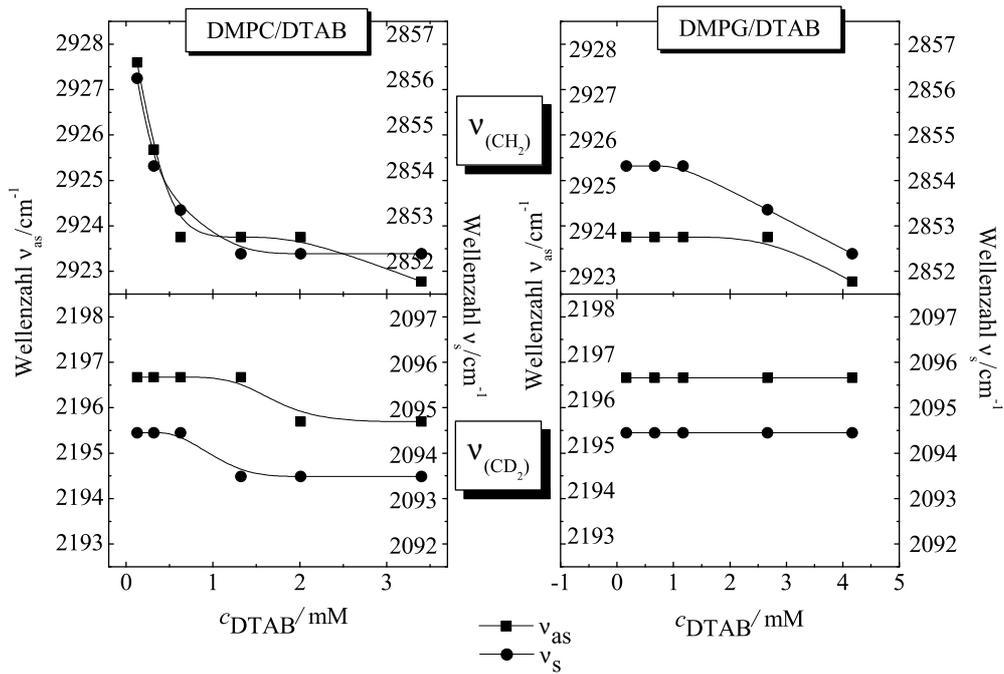


Abb. 3.42: Abhängigkeit der Wellenzahl der antisymmetrischen (Quadrate) und symmetrischen (Kreise) CH_2 - (obere Diagramme) und CD_2 - (untere Diagramme) Streckschwingungsbanden von der DTAB-Konzentration in der Subphase unterhalb eines DMPC- d_{54} -Films bzw. DMPG- d_{54} -Films

Moleküle pro \AA^2 (N_L und N_T), die direkt aus den Isothermen der reinen Komponenten abgelesen werden können (Abb. 3.38)(Gl. 3.29).

$$\epsilon_L = \frac{Abs_L}{N_L} \quad \text{und} \quad \epsilon_T = \frac{Abs_T}{N_T} \quad (3.29)$$

$$\epsilon_L = \epsilon_{L/T} \quad \text{und} \quad \epsilon_T = \epsilon_{T/L} \quad (3.30)$$

$$N_{L/T} = \frac{Abs_{L/T}}{\epsilon_{L/T}} \quad \text{und} \quad N_{T/L} = \frac{Abs_{T/L}}{\epsilon_{T/L}} \quad (3.31)$$

In Tab. 3.8 sind die abgelesenen π -Werte, Extinktionswerte (Abs_L), die berechnete Anzahl an Lipidmolekülen pro \AA^2 (N_L) sowie die berechneten Extinktionskoeffizienten (ϵ_L) des reinen DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} und DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1) auf 0.1 M NaCl an der W/L-Grenzfläche zusammengestellt. Die Anzahl der Lipidmoleküle pro Fläche beider reinen Lipide und des Gemisches nehmen mit

zunehmendem Oberflächendruck zu. Die Extinktionskoeffizienten sollten in erster Näherung unabhängig von der Konzentration sein, nehmen jedoch mit steigendem Oberflächendruck und größerer Moleküldichte ebenfalls zu, was auf Orientierungseffekte der Lipidmoleküle an der W/L-Grenzfläche im Verlauf der Kompression zurückzuführen sein könnte.

In Tab. 3.9 sind die korrespondierenden Werte von π , Abs_{DTAB} , N_{DTAB} und ϵ_{DTAB} bei zunehmenden DTAB-Konzentrationen in der Subphase (c_{DTAB}) aufgeführt. Unter Verwendung der Gl. 3.30 wurde die Oberflächendichte von DMPC, DMPG, DMPC/DMPG (1:1) ($N_{DMPC/DTAB}$, $N_{DMPG/DTAB}$ und $N_{PCPG/DTAB}$) sowie von DTAB ($N_{DTAB/DMPC}$, $N_{DTAB/DMPG}$ und $N_{DTAB/PCPG}$) in den gemischten Filmen in Tab.3.10 zusammengefasst. Die Extinktionswerte ($Abs_{DMPC/DTAB}$, $Abs_{DMPG/DTAB}$ bzw. $Abs_{DTAB/DMPC}$, $Abs_{DTAB/DMPG}$) wurden aus den antisymmetrischen CD_2 - und CH_2 -Banden der gemischten Filme abgelesen (Abb. 3.41). Der Molenbruch von DTAB im Lipidmonolayer ($X_{DTAB}^{monolayer}$) ist gegeben durch:

$$X_T^{monolayer} = \frac{N_{T/L}}{N_{T/L} + N_{L/T}} \quad (3.32)$$

Im letzten Schritt wurde der Verteilungskoeffizient von DTAB (P^{IRRAS}_{DTAB}) berechnet, der als Verhältnis des Molenbruches des Tensides im Lipidmonolayer zum Molenbruch des Tensides in der Subphase (X_{DTAB}^{NaCl}) ist definiert:

$$P_T^{IRRAS} = \frac{X_T^{monolayer}}{X_T^{NaCl}} \quad (3.33)$$

wobei der Molenbruch des Tensides in der Subphase von der Bulkkonzentration des Tensides ($X_T^{NaCl} = (c_T^{total} - c_T^{Grenzflaeche})/55.5$) abhängt.

Die berechneten Verteilungskoeffizienten der DTAB/DMPC, DTAB/DMPG und DTAB/DMPC/DMPG-Gemische nehmen mit zunehmendem Oberflächendruck ab und variieren im Bereich von $15.4 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^4$ für DTAB in DMPC-Monolayer, $20.9 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^4$ für DTAB in DMPG-Monolayer bzw. $13.1 \cdot 10^4 - 1.9 \cdot 10^4$ für DTAB in DMPC/DMPG (1:1)-Monolayer innerhalb des untersuchten Konzentrationsbereiches. Die Verteilungskoeffizienten des DTAB/DMPC-Systems sind etwas kleiner als die des DTAB/DMPG-Gemisches, wenn die Verteilungskoeffizienten bei gleicher DTAB-Subphasenkonzentration von ca. 0.6 mM verglichen werden ($4.3 \cdot 10^4 < 5.7 \cdot 10^4$). Die berechneten P-Werte von DTAB im Lipidgemisch-Monolayer aus PC und PG liegen zwischen den Werten von DTAB in den reinen Lipidmonolayern.

Zur Berechnung der Verteilungskoeffizienten von TTAB, CTAB und DDAB in die entsprechenden Lipidmonoschichten wurde das gleiche Verfahren angewendet und die dafür verwendeten Werte sind in den Abbildungen und Tabellen im Anhang (Abb. B.16, B.17, B.18, B.19, B.20, Tab. B.2, B.3, B.4, B.5, B.6, B.7) aufgeführt.

Der Vergleich der Verteilungskoeffizienten von DTAB mit denen von TTAB und CTAB zeigt auch eine Abnahme der P_T^{IRRAS} -Werte mit zunehmender Tensidkonzentration in der Subphase und zunehmenden Oberflächendrücken. Die Verteilungskoeffizienten der Tenside TTAB und CTAB weisen auch jeweils geringfügig größere Werte mit DMPG als mit DMPC auf. Bei vergleichbaren Tensidkonzentrationen von TTAB ($c_{TTAB}=0.063$ mM bzw. 0.069 mM) ist $P_{TTAB/DMPC}^{IRRAS}=57.3 \cdot 10^4$ bzw. $P_{TTAB/DMPC}^{IRRAS}=38.4 \cdot 10^4$. Bei einer CTAB-Konzentration von ($c_{CTAB}=0.0035$ mM bzw. 0.0057 mM) ist $P_{CTAB/DMPC}^{IRRAS}=1157 \cdot 10^4$ bzw. $P_{CTAB/DMPC}^{IRRAS}=539 \cdot 10^4$. Die Elektrostatik beeinflusst das Verteilungsverhalten der kationischen Tenside in DMPG und DMPC-Monolayern. Auch anhand der deutlich größeren Molenbrüche der Tenside zwischen Subphase und den DMPG-Lipidschichten im Vergleich zu den DMPC-Lipidschichten ist ersichtlich, dass sich mehr kationische Tensidmoleküle in die DMPG-Monolayer als in die DMPC-Monolayer einlagern. In der Volumenphase sind die ermittelten Molenbrüche der Tenside zwischen DMPG-Bilayer und Lösungsmittel größer als zwischen DMPC-Bilayer und Volumenphase (Tab. 3.6). Die Verteilungskoeffizienten, die mit IRRAS an der W/L-Grenzfläche direkt aus den Messdaten ermittelt wurden, zeigen ohne Korrektur der Elektrostatik größere Werte für den Tensideinbau in DMPG-Lipidmonolayer als in DMPC-Lipidmonolayer, weil durch den Einbau der kationischen Tenside in die anionischen PL-Monoschicht die Ladungen zunächst kompensiert werden und sich darüber hinaus zusätzlich Tensid bis zu einer positiven Überschussladung der Monoschichtoberfläche bis zur Sättigung einlagert. In die zwitterionischen DMPC-Monolayer hingegen baut sich ein geringerer Anteil an Tensidionen ein, weil dadurch die Monoschicht sofort kationische Oberflächenladungen aufweist und damit einem weiteren Tensideinbau aufgrund elektrostatischer Abstoßung entgegen wirkt. Diese Effekte sind trotz des Überschusses an Gegenionen in der Subphase wirksam. Des Weiteren sind die DMPG-Monolayer aufgrund der Abstoßung zwischen den anionischen Kopfgruppen weniger dicht gepackt, was die vermehrte Tensideinlagerung in die Lipidmonolayer verstärkt.

Ein Vergleich der P_{Tensid}^{IRRAS} -Werte vom DTAB zum CTAB zeigt eine Vergrößerung der Verteilungskoeffizienten mit zunehmender Kettenlänge aufgrund der kleineren cmc der Tenside und der verstärkten hydrophoben Wechselwirkungen sowie der VAN DER WAALS-Anziehungskräfte zwischen den Alkylketten der Tenside und PL. MEISTER et al.^[241, 305] berechneten die Verteilungskoeffizienten von SDS und NG in DMPC- und DMPG-Monolayer auf reinem Wasser und 0.1 M NaCl unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen. P_{SDS}^{IRRAS} variierte zwischen $0.39-8.07 \cdot 10^4$. SDS weist damit die gleiche Größenordnung der Verteilungskoeffizienten wie DTAB in entsprechende Monolayer auf. Es konnte in diesen Studien jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen der Verteilung von SDS in DMPC- und DMPG-Monolayer beobachtet werden. In Abb. 3.43 sind die berechneten Verteilungskoeffizienten der Tenside DTAB, TTAB und CTAB als Funktion des Oberflächendrucks dargestellt. Verschiedene Publikationen diskutieren den Bilayer-Monolayer-Äquivalenzdruck, der zwischen $\pi=30-35$ mN/m festgelegt wurde^[241, 305, 321]. Bei einem Druck von 33 mN/m betragen die Verteilungskoeffizienten: $P_{DTAB/DMPC}^{IRRAS}=2.8 \cdot 10^4$, $P_{DTAB/DMPG}^{IRRAS}=7.5 \cdot 10^4$, $P_{TTAB/DMPC}^{IRRAS}=19 \cdot 10^4$, $P_{TTAB/DMPG}^{IRRAS}=48 \cdot 10^4$, $P_{CTAB/DMPC}^{IRRAS}=\dots$

$552 \cdot 10^4$ und $P_{CTAB/DMPG}^{IRRAS} = 932 \cdot 10^4$. Ein Vergleich der P_T^{IRRAS} -Werte für die Lipidmonolayer mit den entsprechenden Lipidvesikeln in der Volumenphase (Tab. 3.3) zeigt einen ähnlichen Trend zu größeren P -Werten mit zunehmender Kettenlänge. Insgesamt betrachtet sind die mit ITC berechneten Verteilungskoeffizienten aus den Verteilungsexperimenten erwartungsgemäß größer aufgrund der Berücksichtigung der Elektrostatik in der Berechnung von $P_T^{b/i}$.

Die Verteilungskoeffizienten der Tenside in entsprechende Lipidvesikel bei 30 °C, die aus den Solubilisierungsphasengrenzen ohne Berücksichtigung der Elektrostatik berechnet wurden ($P_T^{b/aq}$ Tab. 3.7), sind um ein bis zwei Zehnerpotenzen kleiner. Da diese Verteilungskoeffizienten aber für die Phasengrenzen der Volumenphase berechnet wurden, d. h. völlig verschiedene Systeme miteinander verglichen werden (an der Sättigung bzw. Solubilisierung erfolgt der Tensid-“flip-flop“ von der äußeren in die innere Lipidschicht der Doppellayer, sodass die Verteilungskoeffizienten kleiner sind), weichen die Werte stark voneinander ab. Des Weiteren ist der Temperaturunterschied von 10 K zwischen 20 °C und 30 °C für die betreffenden Lipide aufgrund der Lage der Hauptphasenumwandlungstemperatur innerhalb dieses Bereiches kritisch. Werden jedoch die berechneten apparenten Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/aq}$) aus den Verteilungsexperimenten in der Volumenphase (Tab. 3.3), mit den Verteilungskoeffizienten im Monolayer verglichen, zeigt sich ein viel geringerer Einfluss der Elektrostatik bei der Verteilung der kationischen Tenside in die DMPC- und DMPG-Monolayer als in die Lipidvesikel. Während P_{DTAB}^{IRRAS} , berechnet ohne Korrektur der Elektrostatik, sowohl im DMPC als auch im DMPG bei dem einem Bilayer-Monolayer-Äquivalenzdruck Werte von $2.8 \cdot 10^4$ bis $7.5 \cdot 10^4$ aufweist, betragen die entsprechenden $P_T^{b/aq}$ -Werte in der Volumenphase mit DMPC $9.4 \cdot 10^4$ bzw. mit DMPG $4.4 \cdot 10^6$ bei 40 °C. Die Verteilungskoeffizienten von DTAB in DMPC sind sehr gut sowohl in der Volumen- als auch an der W/L-Grenzfläche miteinander vergleichbar, während eine der Verteilungskoeffizient von DTAB in DMPG-Vesikel DMPG ≈ 100 fach größer ist als im DMPG-Monolayer. Auch mit TTAB und CTAB sind die Verteilungskoeffizienten in DMPC-Vesikel als auch im DMPC-Monolayer in sehr guter Übereinstimmung und weisen in DMPG-Vesikel eine 100-fach größeren Verteilungskoeffizienten als in die DMPG-Monolayer auf.

Neben der Bestimmung der DTAB, TTAB und CTAB-Verteilungskoeffizienten in DMPC und DMPG wurden weiterhin die Verteilungskoeffizienten von DTAB und CTAB in PC/PG-Mischmonolayer (Tab. B.6) untersucht, die in ihren Werten zwischen denen von PC und PG liegen.

Für die Verteilung von DDAB zwischen DMPC und DMPG-Monolayer wurden für $\pi = 33 \text{ mN/m}$ (Abb. B.20) Verteilungskoeffizienten von $\approx 8000 \cdot 10^4$ in DMPC und $10000 \cdot 10^4$ in DMPG-Monolayern ermittelt, die in der gleichen Größenordnung wie die Verteilungskoeffizienten von DDAB in PC- und PG-Vesikel, berechnet anhand der ITC-Verteilungsstudien, liegen (Tab. 3.4).

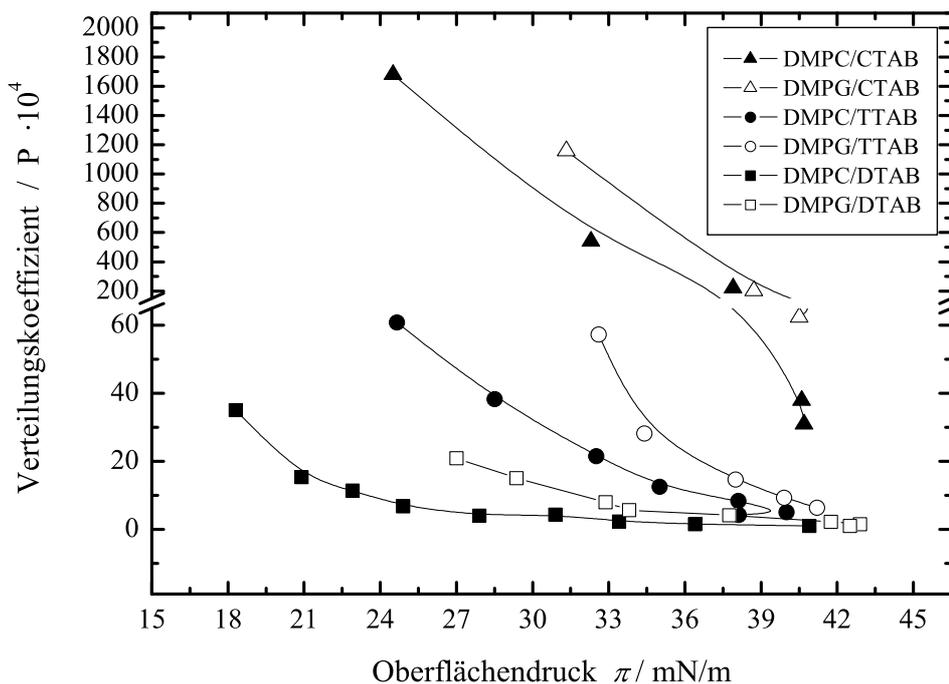


Abb. 3.43: Berechnete Verteilungskoeffizienten P_{IRRAS} der Tenside DTAB, TTAB und CTAB zwischen Subphase und der DMPC- d_{54} -Monolayer (geschlossene Symbole) sowie der DMPG- d_{54} -Monolayer (offene Symbole) als Funktion des Oberflächendrucks

	π mN/m	Abs_{Lipid} $\cdot 10^{-3}$	N_{Lipid} Molekül/Å ²	ϵ_{Lipid} Å ² /Molekül
DMPC- d_{54}	9.0	0.56	0.0123	0.0454
	19.4	0.73	0.0145	0.0500
	27.4	0.83	0.0159	0.0524
	32.2	0.95	0.0167	0.0568
DMPG- d_{54}	9.2	0.55	0.0111	0.0495
	20.3	0.68	0.0128	0.0530
	30.0	0.85	0.0139	0.0612
	35.7	1.03	0.0145	0.0711
DMPC- d_{54} / DMPG- d_{54} / (1:1)	9.8	0.65	0.0104	0.0619
	21.3	0.88	0.0128	0.0687
	30.4	1.12	0.0145	0.0776
	34.4	1.35	0.0152	0.0889

Tab. 3.8: IRRAS-Absorptionswerte Abs der antisymmetrischen CD_2 -Streckschwingungsbande, die molekulare Dichte N_{Lipid} und der Extinktionskoeffizient ϵ_{Lipid} der DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} -sowie der DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1)-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei unterschiedlichen Oberflächendrücken π

c_{DTAB} mM	π mN/m	Abs_{DTAB} $\cdot 10^{-3}$	N_{DTAB} Molekül/Å ²	ϵ_{DTAB} Å ² /Molekül
1	14.8	0.85	0.0183	0.0467
3	24.2	1.16	0.0254	0.0458
5	30.1	1.31	0.0287	0.0458
7	33.9	1.32	0.0307	0.0431

Tab. 3.9: IRRAS-Absorptionswerte Abs der antisymmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande, die molekulare Dichte N_{DTAB} und der Extinktionskoeffizient ϵ_{DTAB} des DTAB-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei unterschiedlichen Oberflächendrücken π

	c_{DTAB} mM	π mN/m	$Abs_{L/T}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{L/T}$ Molek./Å ²	$Abs_{T/L}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{T/L}$ Molek./Å ²	X_{DTAB}^{NaCl} $\cdot 10^{-5}$	$X_{DTAB}^{monol.}$	P_{DTAB}^{IRRAS} $\cdot 10^4$
DMPC	0.13	20.9	0.684	0.01344	0.333	0.0071	0.23	0.346	15.4
	0.32	24.9	0.701	0.01343	0.405	0.00861	0.57	0.391	6.8
	0.63	30.9	0.721	0.01330	0.595	0.01261	1.13	0.487	4.3
	2.01	36.4	0.653	0.01166	0.670	0.01411	3.62	0.548	1.5
	3.40	40.9	0.711	0.01235	0.860	0.01805	6.12	0.594	4
DMPG	0.17	27.0	0.575	0.00942	0.747	0.01588	0.30	0.628	20.9
	0.67	33.8	0.591	0.00889	0.903	0.01907	1.20	0.682	5.7
	1.17	37.6	0.577	0.00829	0.971	0.02045	2.10	0.712	3.7
	2.67	42.9	0.620	0.00840	1.08	0.02258	4.80	0.729	1.5
	4.17	42.5	0.544	0.00741	0.973	0.02041	7.50	0.734	1
DMPC/	0.14	24.5	0.614	0.00833	0.480	0.01022	0.25	0.523	13.1
DMPG	0.36	33.8	0.640	0.00782	0.489	0.01032	0.65	0.516	4.5
(1:1)	1.28	38.6	0.674	0.00783	0.457	0.00961	2.30	0.616	1.9

Tab. 3.10: Einfluss der DTAB-Subphasenkonzentration auf den Oberflächendruck (π), die Absorptionswerte der CD_2 - und CH_2 -Banden ($Abs_{Lipid/DTAB}$ bzw. $Abs_{DTAB/Lipid}$), die molekulare Dichte von DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} bzw. DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} 1:1 und DTAB in gemischten Lipid/DTAB-Monolayern ($N_{Lipid/DTAB}$ bzw. $N_{DTAB/Lipid}$), der Molenbruch von DTAB in der Subphase (X_{DTAB}^{NaCl}) und im Lipidmonolayer ($X_{DTAB}^{monolayer}$) sowie der Verteilungskoeffizient (P_{DTAB}^{IRRAS}) von DTAB im Lipidmonolayer

3.2.2 Brewsterwinkelmikroskopie

Die Filmwaageexperimente dienten der Untersuchung der reinen Lipidmonolayer auf 0.1 M NaCl sowie der gemischten Lipid/Tensid-Filme durch Spreiten des jeweiligen PL auf der Tensid enthaltenden Subphase in einer Konzentration unterhalb der *cmc* des Tensids (0.05 mM DTAB, TTAB, CTAB bzw. 0.001 mM DDAB) bei 20 °C (Abschnitt A.5). Während der Kompression der Monolayer wurden BAM-Aufnahmen von der W/L-Grenzfläche aufgenommen.

In Abb. 3.44 sind die ermittelten Isothermen des reinen DMPC im Vergleich zu den gemischten DMPC-DTAB, -TTAB, -CTAB bzw. -DDAB-Isothermen zusammengefasst. Die Kompression des gespreiteten DMPC-Filmes auf 0.1 M NaCl führt zu einem Anstieg des Oberflächendrucks π ab einer molekularen Fläche von 110 Å²/Molekül. Bei einer Temperatur von 20 °C liegt der DMPC-Film ausschließlich in der flüssig-expandierten (LE) Phase vor (Abb. 2.11). Die Temperaturabhängigkeit des Phasenverhaltens des reinen DMPC-Filmes auf Wasser wurde von GARIDEL^[199] ausführlich beschrieben. Der Kollaps des DMPC-Filmes findet bei einer Fläche von 44 Å²/Molekül und einen Oberflächendruck von 42 mN/m statt, was mit den Ergebnissen von ALBRECHT et al.^[84], Blume et al.^[322], URAGAMI et al.^[323] und KUBO et al.^[324] übereinstimmt.

Das Spreiten von DMPC auf der Subphase, welche die Tenside in einer Konzentration enthält, in der die Moleküle als Monomere innerhalb der Subphase bzw. adsorbiert an der W/L-Grenzfläche vorliegen, führt zu einer Veränderung des

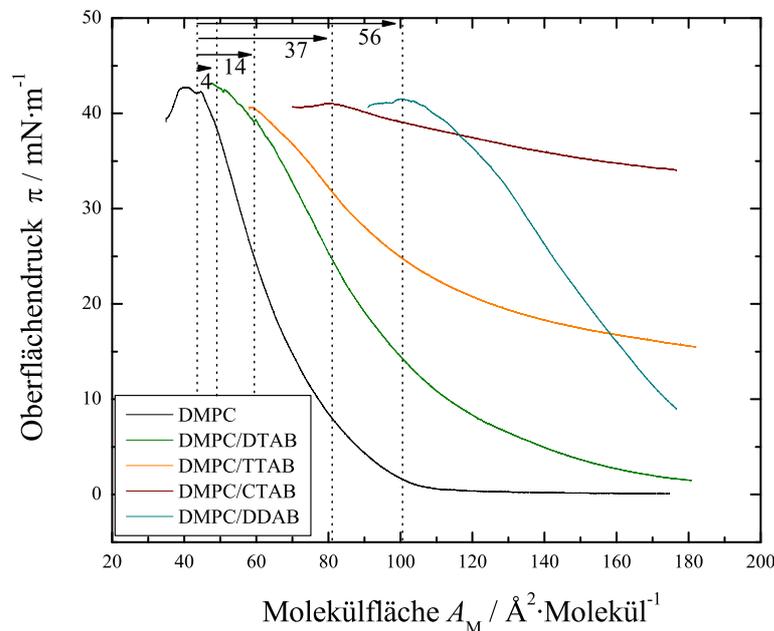


Abb. 3.44: DMPC-Isotherme auf wässriger 0.05 mM DTAB, TTAB, CTAB bzw. 0.001 mM DDAB-enthaltender Subphase in 0.1 M NaCl bei 20 °C

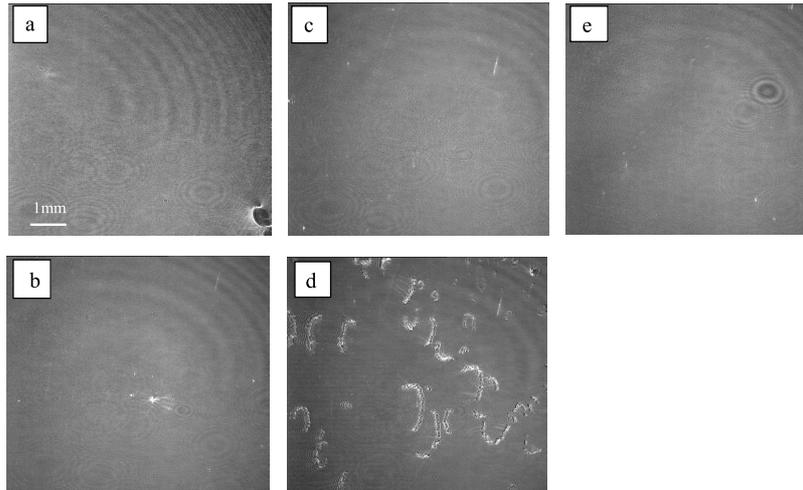


Abb. 3.45: BAM-Aufnahmen während der DMPC-Filmkompression: a: reines DMPC bei $\pi=14.6 \text{ mN/m}$, b: DMPC auf DTAB (0.05 mM) bei $\pi=8.4 \text{ mN/m}$, c: DMPC auf TTAB (0.05 mM) bei $\pi=9.5 \text{ mN/m}$, d: DMPC auf CTAB (0.05 mM) bei $\pi=34.4 \text{ mN/m}$, e: DMPC auf DDAB (0.001 mM) bei $\pi=39.5 \text{ mN/m}$

DMPC-Isothermenverlaufs. Mit zunehmender Kettenlänge des Tensids verschiebt sich der Druck vs. Flächen-Verlauf zu größeren Molekülflächen. Mit zunehmender Kettenlänge des Tensids vom DTAB zum CTAB steigt einhergehend mit der Erniedrigung der *cmc* vom DTAB zum CTAB der Anteil adsorbierter Tensidmoleküle an der W/L-Grenzfläche. Die Oberflächendrücke der reinen Tensidfilme bei einer Konzentration von 0.05 mM betragen zu Beginn des Experimentes für DTAB, TTAB und CTAB $\pi \approx 5 \text{ mN/m}$, $\pi \approx 12 \text{ mN/m}$ und $\pi \approx 20 \text{ mN/m}$. Vor dem Lipidauftrag wurde der Oberflächendruck manuell auf Null zurückgestellt. Aus den Ergebnissen in der Volumenphase ist bekannt, dass mit zunehmender Kettenlänge des Tensids die attraktiven Wechselwirkungen mit den PL-Molekülen zunehmen. Beim Spreiten des PL auf der tensidangereicherten Oberfläche steigt der Oberflächendruck vom DTAB zum CTAB an. Die Isothermen der DTAB/DMPC-Monolayer beginnen bei $\pi=1.5 \text{ mN/m}$, der TTAB/DMPC-Monolayer bei $\pi=16 \text{ mN/m}$, der CTAB/DMPC-Monolayer bei $\pi=34 \text{ mN/m}$ und der DDAB/DMPC-Monolayer bei $\pi=9 \text{ mN/m}$. Die Molekülfläche, bei der der DMPC/Tensidfilm kollabiert, ist größer als die des reinen Lipides. Mit zunehmender Tensidkettenlänge verschieben sich diese Molekülflächen des DTAB/DMPC-Filmes auf $48 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$, des TTAB/DMPC-Filmes auf $58 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$, des CTAB/DMPC-Filmes auf $81 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$ und des DDAB/DMPC-Filmes auf $100 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$, was durch die Koexistenz der Tensidmoleküle neben den PL-Molekülen an der W/L-Grenzfläche zurückzuführen ist. In Abb. 3.45 sind die einzelne Beispiele der BAM-Aufnahmen während der Kompression der Lipidfilme dargestellt. Der reine DMPC-Film zeigt während der gesamten Kompression eine homogene Oberfläche ohne erkennbare Oberflächenstrukturen, da das System einphasig ist. Im Gegensatz dazu sind in den Oberflächenaufnahmen der Tensid/Lipid-Gemische mit zunehmender Kettenlänge des Tensides größer werden-

de Oberflächenstrukturen bzw. Agglomerate direkt nach Auftrag des Lipidfilmes und weiterhin nach einer Equilibrierzeit von 30 min bis hin zum Filmkollaps erkennbar. Die Bilder zeigen Domänen, d. h., dass zwei verschiedene Phasen koexistieren. Die Form der Strukturen verändert sich mit dem Tensid. Während DTAB in DMPC eine sehr gleichmäßig verteilte körnige Struktur der Oberfläche zeigt, sind beim TTAB/DMPC Ringstrukturen erkennbar, die beim CTAB/DMPC größer werden und sich kettenartig zu gekrümmten Stäbchen formieren. Die Koexistenz der DDAB/DMPC-Moleküle in der W/L-Grenzfläche hingegen führt wieder zu einer gekörnten, ebenmäßigen Struktur, die mit der des DTAB/DMPC-Systems vergleichbar ist. Aus diesen erkennbaren Oberflächenstrukturen ist die Bildung von tensidreichen und lipidreichen Domänen innerhalb der Monoschicht ableitbar, die in Form und Größe stark von der Kettenlänge des Tensids abhängig sind. Die Bildung von Domänen durch die Adsorption von DTAB und SDS in DPPC-Monolayern wurde auch von MCCONLOGUE et al. ^[325] beobachtet.

Der Oberflächendruckverlauf als Funktion der Molekülfläche des DMPG ist in Abb. 3.46 dargestellt. Der Verlauf der Isotherme ähnelt der DMPC-Isotherme, d. h. auch der DMPG-Film durchschreitet bei 20 °C ausschließlich die LE-Phase, die direkt ohne Übergang in die LC-Phase bei $\pi=41.4 \text{ mN/m}$ und einer größeren molekularen Fläche ($A_M=59 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$) als der Fläche des reinen DMPC kollabiert. Bei einer Fläche von $150 \text{ \AA}^2/\text{Molekül}$ verlässt die Isotherme die Abzisse und verläuft mit fortschreitender Kompression zu größer werdenden Oberflächenendrücken, was in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von GARIDEL ist^[199], die den Einfluss vom NaCl-Gehalt in der Subphase auf den π/A_M -Verlauf von DMPG zeigen und eine geringe Expansion der Monolayer anhand des Isothermenverlaufs aufweisen. Die Präsenz der kationischen Tenside DTAB, TTAB, CTAB und DDAB beeinflussen die Eigenschaften der DMPG-Isothermen erwartungsgemäß in ähnlicher Weise wie die des DMPC. Auch hier verschieben sich die Anfangswerte des lateralen Oberflächendrucks der tensid-haltigen Subphase mit zunehmender Kettenlänge des Tensids und werden durch den Lipidauftrag noch einmal zusätzlich durch einen Betrag auf die in Abb. 3.46 Werte verschoben, sodass sich die Startwerte von $\pi=12 \text{ mN/m}$ für den DTAB/DMPG-Film, $\pi=23 \text{ mN/m}$ für den TTAB/DMPG-Film, $\pi=37.5 \text{ mN/m}$ für den CTAB/DMPG-Film bzw. $\pi=24.5 \text{ mN/m}$ für den DDAB/DMPG-Film ergeben. Insgesamt betrachtet, sind demnach die π -Startwerte trotz gleichbleibenden Konzentrationsverhältnisses der DMPC/Tensid- und DMPG/Tensid-Filme zu größeren Drücken verschoben, was durch eine größere Anzahl wechselwirkender Moleküle in den DMPG-Monolayern im Vergleich zu den DMPC-Monolayern verursacht wird. Die elektrostatische Anziehung zwischen den anionischen DMPG-Molekülen und den kationischen Tensidmolekülen führt trotz der elektrostatisch abschirmend wirkenden Na- und Cl-Ionen, die im Überschuss in der Subphase vorhanden sind, zu einer verstärkten Adsorption der Tenside in die W/L-Grenzschicht. Auch die Verschiebung der Molekülflächen am Filmkollaps zu größeren Werten ist bei den DMPG/Tensid-Monolayern im Vergleich zu den DMPC/Tensid-Flächen stärker ausgeprägt. Die einkettigen Alkyltrimethylammoniumbromide DTAB, TTAB und CTAB verschieben die Kollapsfläche der DMPG-Monolayer ungefähr doppelt so weit wie die entsprechenden Tenside innerhalb der DMPC-Monolayer in Richtung

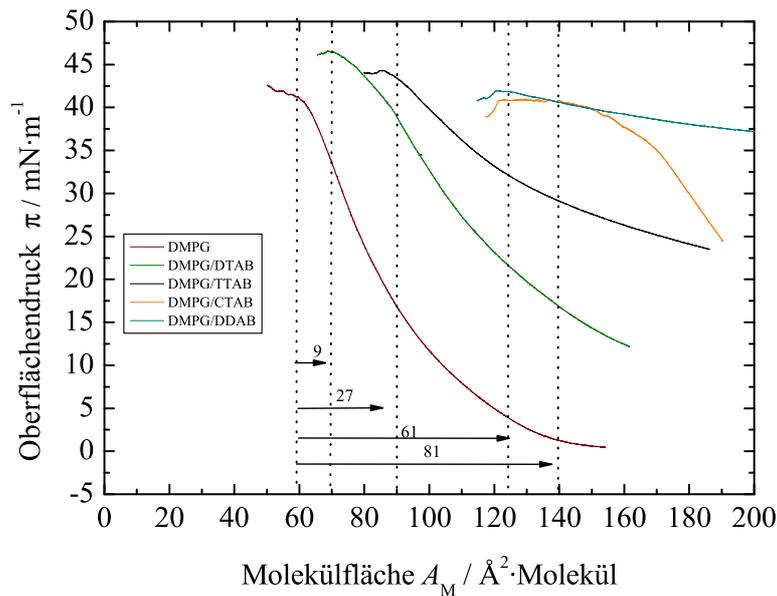


Abb. 3.46: DMPG-Isotherme auf wässriger 0.05 mM DTAB, TTAB, CTAB bzw. 0.001 mM DDAB-enthaltender Subphase in 0.1 M NaCl bei 20 °C

zunehmender molekularer Fläche, was ein weiteres Indiz für die verstärkte Ansammlung der Tenside innerhalb der DMPG-Monoschichten darstellt. Die BAM-Aufnahmen (Abb. 3.47) unterscheiden sich nur unwesentlich von denen der DMPC/Tensid-Systeme. Die Tenside TTAB und CTAB bilden auch innerhalb der DMPG-Monoschicht deutlich erkennbare Oberflächenstrukturen in Ring- bzw. Stäbchenform, während die Oberfläche der DMPG/DTAB- und DMPG/DDAB-Monolayer eine undeutliche, körnig inhomogene Struktur aufweist.

Die Kompressibilität der Lipidfilme, bestehend aus DMPC und DMPG auf NaCl-enthaltender Subphase, ist durch das Vorhandensein der kationischen Tenside erhöht. Durch die Kompression des Filmes werden die Tensidmoleküle nicht vollständig in die Subphase zurückgedrängt, was durch die größeren molekularen Flächen am Filmkollaps der gemischten Tensid/Lipid-Monolayer zum Ausdruck gebracht wird. Es ist eindeutig eine Abhängigkeit des π/A_M -Verlaufes von der Tensidkettenlänge und der Kopfgruppe des PL zu erkennen. Mit zunehmender Kettenlänge des Tensides ist zum einen die initiale Konzentration des Tensides in der W/L-Grenzfläche vergrößert, zum anderen aber die kohäsiven Wechselwirkungen infolge der VAN DER WAALS-Anziehung zwischen den Alkylketten der Tenside und PL während der Kompression stärker wirksam^[326], sodass beim CTAB die Kompressibilität im Vergleich zum DTAB und TTAB am größten ist. Die kleineren molekularen Flächen der DTAB/Lipid-Monoschichten direkt vor dem Filmzusammenbruch spiegeln kompaktere Filme als die der CTAB/Lipid-Monoschichten wider. Die Abhängigkeit der Molekülpackungsdichte von der Hydrophobizität des Tensidmoleküls wurde an DTAB sowie CTAB mit DMPC und DPPC-Monolayern in

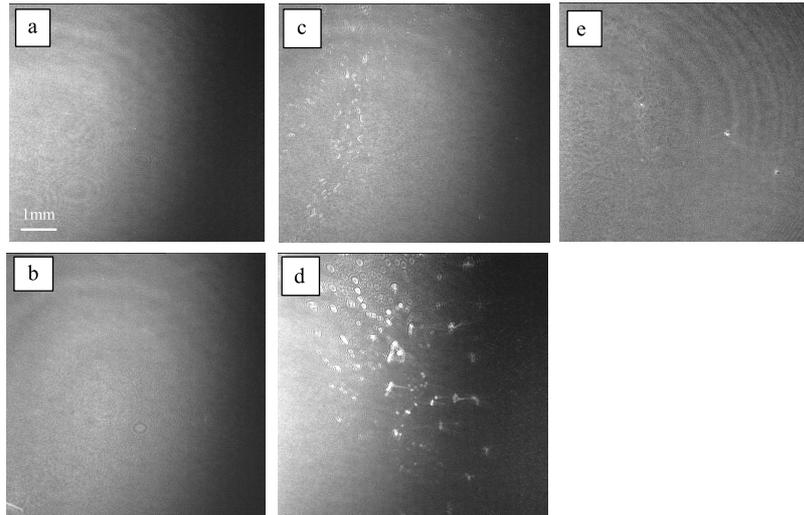


Abb. 3.47: BAM-Aufnahmen während der DMPG-Filmkompression: a: reines DMPG bei $\pi=14.6 \text{ mN/m}$, b: DMPG auf DTAB (0.05 mM) bei $\pi=24.5 \text{ mN/m}$, c: DMPC auf TTAB (0.05 mM) bei $\pi=32.2 \text{ mN/m}$, d: DMPC auf CTAB (0.05 mM) bei $\pi=38.7 \text{ mN/m}$, e: DMPC auf DDAB (0.001 mM) bei $\pi=15.4 \text{ mN/m}$

gleicher Weise von BAKSHI et al.^[327] beobachtet. Die elektrostatische Anziehung zwischen der Kopfgruppen der kationischen Tenside und DMPG ist die Ursache für die noch größere Kompressibilität des DMPG verglichen mit DMPC. Die Anwesenheit des dimeren Amphiphils DDAB in den PL-Filmen weist die größte Kompressibilität der Monolayer im Vergleich zu den anderen kationischen Tensiden auf.

Zusammenfassung

4

Die physikochemische Charakterisierung der homologen kationischen Tenside DTAB, TTAB und CTAB sowie deren Wechselwirkung mit Modellmembranen, bestehend aus DMPC und DMPG, erfolgte sowohl in der Volumenphase als auch an der W/L-Grenzfläche mit Hilfe der Kombination verschiedener Messmethoden.

In der Volumenphase wurde zur Untersuchung der Thermodynamik der Mizellierung von DTAB, TTAB und CTAB die ITC verwendet. Diese Untersuchungen bilden die Grundlage für die Interpretation der Verteilungs- und Solubilisierungsergebnisse der Tenside mit den Phospholipidvesikeln aus DMPC bzw. DMPG.

Mit der ITC wurde ein detailliertes thermodynamisches Profil der Demizellierung der Tenside in Abhängigkeit von der Temperatur, der Tensidkettenlänge und des Ionengehaltes im Lösungsmittel erstellt, wobei folgende Ergebnisse ermittelt wurden:

- Mit zunehmender **Tensidkettenlänge** nimmt die cmc des Tensids ab und der Verteilungskoeffizient des Tensids zwischen Mizelle und Wasser $P_T^{m/aq}$ wird größer. Die positiven Freien Enthalpie-Werte der Demizellierung ΔG_{demiz} nehmen wie die Demizellierungsenthalpie ΔH_{demiz} zu und die negativen $T\Delta S_{demiz}$ -Werte nehmen vom DTAB zum CTAB ab.
- Mit zunehmender **Temperatur** wird die cmc des jeweiligen Tensids ab einer Temperatur von 30 °C größer und die entsprechenden $P_T^{m/aq}$ -Werte nehmen ab. Gleichzeitig sind ΔH_{demiz} und $T\Delta S_{demiz}$ stark temperaturabhängig und vergrößern sich mit zunehmender Temperatur während ΔG_{demiz} nur gering temperaturabhängig ist.
- Mit dem **NaCl-Zusatz** im Lösungsmittel wird die cmc der ionischen Tenside kleiner und $P_T^{m/aq}$ damit größer. Die positiven ΔG_{demiz} -Werte nehmen zu und ΔH_{demiz} sowie $T\Delta S_{demiz}$ nehmen ab.

Die Änderung der Wärmekapazität der Tenside beim Transfer aus der Mizelle in eine wässrige Umgebung ergibt positive Werte und variiert für DTAB, TTAB und CTAB zwischen 280–620 J/mol·K. Die Berechnung der thermodynamischen Parameter der Demizellisierung erfolgte auf der Grundlage des „mass action“- sowie des „Pseudophasenseparations“-Modells. Beide Methoden ergaben eine zufriedenstellende Übereinstimmung der Ergebnisse. Die Aggregationszahl N wurde für DTAB, TTAB und CTAB genau an der cmc der Tenside ermittelt und ergab Werte zwischen 20–30 unabhängig von der Tensidkettenlänge und Temperatur.

Mit der ITC konnte des Weiteren temperaturabhängig die Verteilung der kationischen Tenside DTAB, TTAB, CTAB und DDAB zwischen wässriger- und Vesikelphase bestehend aus DMPC, DMPG bzw. DMPC/DMPG (1:1) charakterisiert werden:

- Die intrinsischen Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/i}$) nehmen mit zunehmender **Länge des hydrophoben Molekülanteils** im Tensid um eine Größenordnung zu: DTAB (10^5) < TTAB (10^6) < CTAB (10^7) \approx DDAB (10^7).
- Die $P_T^{b/i}$ -Werte der kationischen Tenside weisen keine deutliche Abhängigkeit von der **Lipidkopfgruppe** auf, sodass keine spezifischen Wechselwirkungen zwischen den Alkyltrimethylammoniumbromiden und Lipiden in Betracht gezogen werden können.
- Die korrespondierenden apparenten Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/aq}$) sind bei den Tensid-DMPC-Systemen aufgrund der elektrostatischen Abstoßung ca. zehnfach kleiner und bei den Tensid-DMPG-Systemen aufgrund der elektrostatischen Anziehung ca. zehnfach größer als die entsprechenden intrinsischen Verteilungskoeffizienten.
- Die Transferenthalpien des Tensids von Wasser in die Vesikelphase ($\Delta H_T^{b/aq}$) sind negativ und nehmen mit **Temperaturerhöhung** nur gering ab.
- Die Freien Transferenthalpien des Tensids ($\Delta G_{aq}^{b/i}$) sind negativ, gering abnehmend mit Temperaturerhöhung und stark abnehmend mit Tensidkettenverlängerung.
- Die Transferentropiewerte ($\Delta S_{aq}^{b/i}$) sind positiv, gering abnehmend mit Temperaturerhöhung und stark zunehmend mit Tensidkettenverlängerung.
- Die o. g. Transferenergien sind kaum von der PL-Kopfgruppenladung abhängig.

Anhand der Solubilisierungsstudien der Tenside DTAB, TTAB und CTAB mit DMPC-, DMPG und DMPC/DMPG-Vesikel bei 30 °C und 60 °C in 0.1 M NaCl (der LC-Phase der PL) konnten die Phasendiagramme erstellt werden, deren Analyse zu folgenden Ergebnissen führt:

- Aus den Werten der molaren Tensid-Lipid-Verhältnisse der Mischaggregate an der Sättigungs- und Solubilisierungsphasengrenze $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ ist

erkennbar, dass $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ von der **Lipidart** abhängig sind. Mit dem anionischen Lipid DMPG sind die Werte doppelt so groß wie mit DMPC. Die DMPG-Mischvesikel und Mischmizellen weisen demnach an den Phasengrenzen die doppelte Anzahl an Tensidmoleküle als die DMPC-Mischaggregate auf.

- $R_T^{b,sat}$ und $R_T^{m,sol}$ der DMPG-Mischaggregate sind unabhängig von der **Temperatur** und **Tensidart** und nehmen ausschließlich Werte >1 an, während die DMPC-Mischaggregate Werte <1 aufweisen (Mischvesikel aus DMPC/DMPG 1:1 nehmen eine Zwischenstellung ein), d. h. dass vor der Solubilisierung ein Überschuss an kationischen Tensidmolekülen in den DMPG-Mischaggregaten vorhanden ist.
- Die Lage der Phasengrenzen ist stark **temperaturabhängig**. Bei 30 °C liegen die Phasengrenzen bei niedrigeren Tensidkonzentrationen als bei 60 °C, d. h. dass bei niedrigeren Temperaturen weniger Tensid zur Sättigung und Solubilisierung der PL-Vesikel nötig ist.
- Mit zunehmender **Tensidkettenlänge** verschieben sich die Phasengrenzen zu niedrigeren Tensidkonzentrationen verbunden mit der *cmc*-Erniedrigung der reinen Tenside vom DTAB zum CTAB.
- Mit zunehmender **Tensidkettenlänge** steigt die Solubilisierungseffizienz des Tensides, wobei diese Abhängigkeit nicht linear, sondern der Unterschied zwischen TTAB und CTAB nur gering ist.
- Die Verteilungskoeffizienten des Tensides bzw. PL zwischen den beiden Mischaggregaten bestätigen die einfachere Solubilisierbarkeit der DMPC-Vesikel im Vergleich zu den DMPG-Vesikeln aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkungen, die zunehmende Solubilisierungseffizienz vom DTAB zum CTAB und eine geringere Solubilisierungseffizienz der Tenside bei 60 °C als bei 30 °C.
- Die Verteilungskoeffizienten der Tenside zwischen den Vesikeln und der wässrigen Phase variieren in einem Größenbereich von 10^3 und 10^4 und weisen größere Werte bei niedrigeren Temperaturen auf. Sie zeigen signifikant größere Werte vom DTAB zum CTAB aufgrund der zunehmenden Hydrophobie des Tensidmoleküls.

Am Beispiel des DTAB/DMPC-Systems wurde der vesikuläre Bereich des Enthalpogramms bei 60 °C quantitativ erfasst. Die aus der Kurvenanpassung der experimentell ermittelten Werte des Verteilungskoeffizienten ($P_T^{b/i} = 2.0 \cdot 10^5$) und der Transferenthalpie von DTAB in DMPC-Vesikel ($\Delta H_T^{b/aq} = -17.2 \text{ kJ/mol}$) stimmen gut mit den Werten der ITC-Verteilungsstudien ($2.5 \cdot 10^5$ bzw. -17.6 kJ/mol) überein.

Die DLS-Untersuchungen in der Volumenphase bestätigten die mit ITC ermittelten Solubilisierungsphasengrenzen und führten zu folgenden zusätzlichen Informationen:

- Aufgrund der starken Hydratation der MV infolge der hohen Oberflächenladungsdichte kommt es zu einem starken Anschwellen der Vesikel im MV-Bereich vor der Sättigungsphasengrenze bis zu einem Radius von 250 nm. Dies konnte unabhängig vom Tensid-Lipidsystem und der Temperatur beobachtet werden.
- Der Vesikel-Mizell-Übergang ist durch eine gleichzeitige Bildung von wurmartigen Superaggregaten gekennzeichnet.

Mit der DSC wurde der Einfluss des kationischen Tensideinbaus in die PL-Vesikel auf die Phasenumwandlungstemperaturen und Umwandlungsenthalpie untersucht, wobei folgende Ergebnisse ermittelt wurden:

- DTAB verursacht, eingebaut in den untersuchten PL-Vesikeln, eine Destabilisierung der Gelphase, was an der Verschiebung von T_m zu niedrigeren Temperaturen erkennbar ist.
- TTAB führt bei geringen Tensidkonzentrationen zu einer T_m -Verschiebung zu höheren und bei großen Tensidkonzentrationen zu niedrigeren Temperaturen.
- CTAB verursacht in allen Konzentrationsbereichen eine Verschiebung von T_m zu höheren Temperaturen, d. h. die Gelphase ist stark stabilisiert.
- Die DMPG-Tensidgemische weisen bei einem molaren Verhältnis von Tensid/Lipid $\approx 2:1$ eine deutliche Vergrößerung von $\Delta_U H$ aufgrund der Bildung eines Eutektikums auf.

Die Untersuchungen in der Volumenphase wurden mit Hilfe von BAM- und IRRAS-Untersuchungen an der W/L-Grenzfläche ergänzt.

Durch die Kombination der Filmwaagetechnik mit IRRAS konnten sowohl die GIBBS-Adsorptionsisothermen der kationischen Tenside als auch der Einbau der Tenside in die PL-Monolayer anhand der Analyse der antisymmetrischen und symmetrischen Methylen-Streckschwingungsbanden $\nu(\text{CD}_2)$ und $\nu(\text{CH}_2)$ sowie der Wasserbande $\nu(\text{OH})$ qualitativ und quantitativ charakterisiert werden:

- Die Untersuchungen erlaubten die Berechnung der GIBBSCHEN-Adsorptionsisothermen und Druck-Flächen-Isothermen der homologen Tenside.
- Die *cmc*-Kennwerte der Tenside an der W/L-Grenzfläche stimmen mit den ITC-Ergebnissen überein.
- Die GIBBS-Adsorptionenthalpie der Tenside an der W/L-Grenzfläche weist annähernd übereinstimmende Werte mit den korrespondierenden GIBBS-Mizellisierungsenthalpie des jeweiligen Tensids in der Volumenphase auf.
- Es wurden die Verteilungskoeffizienten der Tenside P_T^{IRRAS} in die PL-Monolayer, die am Bilayer-Monolayer-Äquivalenzdruck ($\pi=30-35 \text{ mN/m}$) für DTAB in DMPC $2.8 \cdot 10^4$ und für DTAB in DMPG $7.5 \cdot 10^4$ betragen, ermittelt.

- Die P_T^{IRRAS} -Werte sind zwischen DMPG-Monolayer und Wasser im Vergleich zu den DMPC-Monolayern vergrößert aufgrund der elektrostatischen Anziehung zwischen der anionischen PL- und der kationischen Tensid-Kopfgruppe.
- Die P_T^{IRRAS} -Werte vergrößern sich jeweils um eine Größenordnung mit zunehmender Tensidkettenlänge vom DTAB (10^4), TTAB (10^5), CTAB (10^6) zum DDAB (10^7).
- Die Auswertung der OH-Banden der IRRA-Spektren ermöglicht im begrenzten Rahmen qualitative Aussagen über die Orientierung der Tensidmoleküle in der W/L-Grenzfläche während der Adsorption und während des Einbaus in die Lipidmonoschichten
- Die DMPC-Tensid-Monolayer konnten auf kleinere Molekülflächen als die DMPG-Tensid-Monolayer komprimiert werden, was durch die vermehrte Einlagerung der Tensidmoleküle in die DMPG-Monoschicht verursacht wird und qualitativ mit den Ergebnissen in der Volumenphase übereinstimmt.
- Mit zunehmender Tensidkettenlänge sind die Isothermen zu größeren Molekülflächen aufgrund der zunehmenden hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Tensid und PL verschoben.
- Die BAM-Aufnahmen der PL-Tensid-Monolayer zeigen während der gesamten Kompression ein Auftreten von Mehrphasengebieten eventuell aufgrund der Bildung von tensidreichen und lipidreichen Domänen innerhalb der PL-Schicht.

Durch die Kombination verschiedener Techniken ist es gelungen, die physikochemischen Eigenschaften homologer kationischer Tenside sowohl in der Volumenphase als auch an der W/L-Grenzschicht zu charakterisieren. Diese Studien dienen als Grundlage für die systematischen Untersuchungen des Einbaus dieser Tenside in Modellmembranen, bestehend aus DMPC, DMPG und DMPC/DMPG (1:1), die, basierend auf der Kombination von kalorimetrischen und spektroskopischen Methoden, erstmalig ist. Es konnte gezeigt werden, dass die Tenside in Abhängigkeit ihrer Tensidkettenlänge stark variierende Inkorporations- und Lyseeigenschaften der Lipidaggregate aufweisen. Die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den kationischen Tensiden und den zwitterionischen (Abstoßung) sowie anionischen (Abstoßung) PL-Aggregaten sind trotz überschüssigem Elektrolytgehalt im Lösungsmittel wirksam. Es konnte ein verstärkter Tensideinbau in DMPG-Modellmembranen im Vergleich zu den aus dem zwitterionischen Referenzphospholipid DMPC bestehenden Modellmembranen sowohl in der Volumenphase als auch an der W/L-Grenzfläche nachgewiesen werden.

Methoden und Materialien



A.1 Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC)

A.1.1 Methode

Die isotherme Titrationskalorimetrie ist eine hochsensitive Methode zur thermodynamischen Charakterisierung von inter- und intramolekularen Wechselwirkungen von Biomakromolekülen in Lösung^[226]. Das Kalorimeter misst bei einer Bindung zwischen zwei Reaktionspartnern oder aber bei konzentrationsinduzierten Aggregationsprozessen die direkt freigesetzte oder absorbierte Wärme als Folge des schrittweisen Vermischens zweier Lösungen unterschiedlichen Inhaltes^[129, 219, 221, 328]. Die ITC ermöglicht so die Bestimmung thermodynamischer Parameter vieler biochemischer Molekül-Ligand-Interaktionen, wie z. B. Antigen-Antikörper, Lipid-Tensid, Lipid-Protein, Protein-DNA, Protein-Zucker, Enzym-Substrat oder Lipid-Arzneistoff^[328-331].

Die ITC-Messungen wurden mit Kalorimetern der Firma MicroCalTM Inc., Northampton, MA, USA durchgeführt: dem Omega-Titrationskalorimeter und dem VP-ITC, deren gemeinsame Funktionsweise auf dem Heizleistungs-Kompensations-Prinzip^[330] beruht.

Der schematische Aufbau der Messapparatur ist in Abb. A.1 dargestellt. Hauptsächlich besteht das Kalorimeter aus zwei identisch aufgebauten, münzenförmigen Zellen, der Referenzzelle und der Messzelle, die jeweils ein Volumen von ca. 1.3 ml fassen. Diese bestehen aus HastaloyTM, einer speziellen korrosionsresistenten Nickel-Molybdän-Chrom-Legierung und sind in einer von einem inneren und äußeren Isoliermantel aus Aluminium und Polyurethan umgrenzenden, adiabatischen Umgebung zentral im Kalorimeter fixiert. Die Zellen werden durch eine Kapillare von außen vollständig befüllt, wobei die Referenzzelle das Lösungsmittel der Probe enthält, während in die Messzelle die Lösung bzw. Dispersion des einen Reaktionspartners eingebracht wird. In die Messzelle taucht eine Hamilton-Spritze, welche

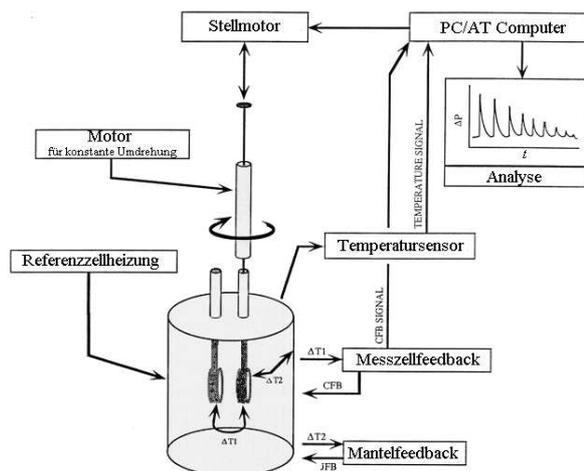


Abb. A.1: Schematischer Aufbau eines Titrationskalorimeters^[332]

die Applikation eines definierten Volumens des zweiten Reaktionspartners in bestimmten Zeitintervallen gestattet. Die verwendete Spritze fasst ein Volumen von $250\ \mu\text{l}$ und rotiert während des Experimentes motorgetrieben mit einer konstanten Geschwindigkeit von $310\ \text{U}/\text{min}$, sodass eine gleichmäßige Durchmischung des Messzellinhaltes zur Vermeidung von Temperatur- und Konzentrationsgradienten in der Probenzelle auch während der Injektion gewährleistet wird. Das abgeflachte Nadelende der Spritze dient dabei zusätzlich als Rührpaddel.

Die Referenzzelle wird ständig mit einer geringen konstanten Heizleistung, angesteuert mit dem sogenannten „Referenzoffset“ (RO) von wenigen μW beheizt, sodass die Temperatur der Zellen während einer Messung um ca. $0.002 - 0.04\ \text{K}/\text{h}$ steigt. Das Kalorimeter arbeitet demnach „quasi-isotherm“^[333]. Die Temperaturdifferenz ΔT_1 zwischen Mess- und Referenzzelle wird mit einem zweiten, an der Messzelle positionierten Heizsystem über ein aktiviertes „Cell Feedback“ (CFB)-Netzwerk auf Null reguliert. Ein drittes Heizsystem, welches mit dem „Jacked Feedback“ (JFB) angesteuert wird, dient dem Ausgleich der Temperaturdifferenz ΔT_2 zwischen Zellen und Mantel^[334, 335]. Durch eine exo- bzw. endotherme Reaktion in der Messzelle verändert sich die Temperatur der Messzelle. Ein der Temperaturdifferenz ΔT_1 proportionales, elektrisches Signal wird über einen Temperatursensitiven Halbleiter (Bismut-Tellurid-Kristalle) erzeugt, welches die Heizleistung an der Messzelle verringert bzw. verstärkt. Die Spannung proportional dieser Heizleistung wird als Funktion der Zeit aufgezeichnet. Ein Maß für die umgesetzte Wärme in der Probenzelle stellt das Integral der Spannung über die Zeit dar^[219, 228, 336-339].

Die Kalibrierung der Kalorimeter erfolgt computergesteuert als auch extern durch die Zuführung definierter Wärmemengen von $5 - 25\ \mu\text{cal}/\text{s}$. Die Kalorimeter arbeiten in einem Temperaturbereich zwischen $2 - 80\ ^\circ\text{C}$, wobei die Temperatur mit einem Peltier-Element (VP-ITC) oder einem zirkulierenden Wasserbad (Omega-ITC) ein-

gestellt wird. Mit der ITC können Temperaturänderungen bis 10^{-6} K erfasst werden. Sie weisen eine Sensitivität von weniger als $1 \mu\text{cal}$ auf^[340]. Es wurde darauf geachtet, dass das Signal-Rausch-Verhältnis der Basislinie kleiner $\pm 5 \text{ nanocal}/\text{sec}$ bei einer Rührgeschwindigkeit von $310 \text{ U}/\text{min}$ ist.

A.1.2 Probenpräparation

Mit der ITC wurden Demizellierungsexperimente der kationischen Tenside DTAB, TTAB bzw. CTAB in 100 mM NaCl und Wasser und Verteilungs- als auch Solubilisierungsexperimente binärer Systeme, bestehend aus DTAB, TTAB und CTAB bzw. DDAB, mit den Phospholipiden DMPC, DMPG sowie dem Lipidgemisch DMPC/DMPG (1:1) untersucht. Die Identität und Reinheit der Tenside wurde unter Verwendung von MS-HPLC überprüft und bestätigt.

Das Herstellen der Proben erfolgte durch Lösen bzw. Dispergieren der Substanzen bei Raumtemperatur im Lösungsmittel (100 mM NaCl oder Wasser). Die Tensidlösungen DTAB, TTAB bzw. CTAB sowie die DDAB-Dispersion wurden ca. 5 min auf dem Vortexer geschüttelt und vor jeder Messung 10 min unter Rühren entgast.

Die Lipiddispersionen wurden auch zunächst 5 min auf dem Vortexer geschüttelt, danach im Ultraschallbad bei 40°C , einer Temperatur weit oberhalb der Phasenumwandlungstemperatur der Lipide, 15 min beschallt. Bei einer Lipidkonzentration von 20 mM wurde die Beschallzeit um 30 min verlängert. Durch die Ultraschallbehandlung entstehen in der Probe aus den Lipiden SUV bzw. IUV^[99, 341] (Abschnitt 2.2.2). Nach dem Abkühlen wurden die Proben 10 min unter ständigem Rühren entgast. Die Lipiddispersionen wurden vor jeder Messung frisch präpariert.

Für die Präparation der Mischvesikel, bestehend aus DMPC und DMPG im Verhältnis 1:1, wurden zunächst die Stammlösungen des jeweiligen Lipids in ultrareinem Chloroform/Methanol (V/V 2:1) hergestellt. Nach dem Mischen entsprechender Volumina der beiden organischen Lösungen, wurde das Lösungsmittel durch Erwärmung im Wasserbad auf 70°C und unter Stickstoffstrom abgedampft. Die so erhaltene Lipidmischung wurde weiterhin für 4 h in Vakuumtrockenschrank bei 60°C temperiert, um eine vollständige Entfernung der Lösungsmittelreste gewährleisten zu können. Danach wurden die Proben, wie oben beschrieben, präpariert. Nach der Herstellung der Lipidvesikel wurde deren Größenverteilung mittels dynamischer Lichtstreuung überprüft. Die Vesikeldurchmesser variierten zwischen 70 nm und 120 nm .

Die Einstellung der pH-Werte der Proben auf 6.4 erfolgte unter Verwendung des pH-Meters mit 0.1 N NaOH .

A.1.3 Versuchsdurchführung

Die Ordinatenachsenkalibrierung der Kalorimeter wurde regelmäßig mit Hilfe der geräteinternen Wärmepulszufuhr überprüft.

In die Referenzzelle wurde ultrareines, entgastes Wasser gefüllt und mit einem Teflonstopfen verschlossen. Die Messzelle enthielt die wässrige Probe mit einem Reaktionspartner. In die 250 μl Hamilton-Spritze wurde die wässrige Lösung des zweiten Reaktionspartners gefüllt und in die Messzelle gesetzt. Die Rotationsgeschwindigkeit während der Messungen betrug 310 U/min . Jede Messung wurde mindestens einmal wiederholt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse garantieren zu können. Mit dem VP-ITC wurde der Feedbackmodus „High“ mit der schnellsten Reaktionszeit gewählt, da die untersuchten Prozesse eine schnelle Reaktionskinetik aufweisen. Die Filterperiode wurde mit 2 Sekunden sowohl beim VP- als auch Omega-ITC festgelegt, um ausreichend Datenpunkte zur Präsentation der Messkurve zu erhalten. Für die Datenauswertung wurde die MicroCalTM ORIGINTM ITC-Software, Version 5.0 verwendet. Zur Kurvenanpassung der Demizellierungsdaten wurde ein in „C“-programmiertes Tool, für die Verteilungsmessdaten Microsoft[®] Excel 2000 bzw. für die Solubilisierungsdaten ScientistTM, Version 2.1 genutzt.

A.1.3.1 Demizellierungsexperimente

Für die Demizellierungsexperimente wurde die mizellare Tensidlösung von DTAB (100 – 150 mM), TTAB (50 mM) bzw. CTAB (5 – 15 mM) in die Injektionsspritze gefüllt. In der Messzelle wurde 0.1 M NaCl bzw. Wasser vorgelegt. In 100 Injektionsschritten von jeweils 2.5 μl wurde die Tensidlösung in die Messzelle mit Zeitintervallen von 4 min zwischen jeder Injektion titriert. Die Experimente wurden in einem Temperaturbereich von 20 – 60 °C durchgeführt.

A.1.3.2 Verteilungsexperimente

Bei den Verteilungsexperimenten befand sich die 20 mM Lipiddispersion, bestehend aus DMPC und DMPG, bzw. die 9 mM DMPC/DMPG (1:1)-Vesikeldispersion in der Spritze und die Tensidlösung von DTAB, TTAB bzw. CTAB in Monomerenkonzentrationen von jeweils 0.05 mM-0.5 mM in der Messzelle. Die Messungen erfolgten in einem Temperaturbereich von 40 – 60 °C. Es wurden verschiedene Volumina von 25–30x1 μl bis 25 x 10 μl der Vesikeldispersion in die Messzelle mit Zeitintervallen von 4 – 5 min zwischen jeder Injektion injiziert. Zur Untersuchung des Verteilungsverhalten von DDAB in DMPC- bzw. DMPG-Vesikel in 0.1 M NaCl wurde eine 20 mM Lipiddispersion in 30 x 3 μl -Schritten in die 0.1 mM DDAB enthaltende Reaktionszelle injiziert. Die Messungen wurden zwischen 40–60 °C durchgeführt.

A.1.3.3 Solubilisierungsexperimente

Für die Durchführung der Solubilisierungsexperimente wurde die mizellare Tensidlösung von DTAB (250 – 400 mM), TTAB (150 – 250 mM) bzw. CTAB (60 – 150 mM) in die Injektionsspritze gefüllt, während die Lipiddispersion in verschiedenen Konzentrationen von 1 – 9 mM in der Messzelle vorgelegt wurde. Es wurden

mit verschiedenen Injektionsanzahlen jeweils 1 – 2.5 μl injiziert und ein Zeitintervall von 4 – 5 min gewählt. Die Verdünnungswärmen wurden durch analoger Titration einer 0.05 mM Tensidlösung in das Lösungsmittel erhalten und von den Reaktionswärmern abgezogen.

A.2 Differentialscanningkalorimetrie (DSC)

A.2.1 Methode

Die DSC-Methode ermöglicht die Untersuchung von temperaturinduzierten Zustandsänderungen von Biomolekülen, wie z. B. Polynukleotiden, Polypeptiden, Kohlenhydraten und Lipiden. Dabei können Denaturierungs- und Entfaltungsprozesse, Schmelzvorgänge oder PL-Phasenübergänge detektiert werden. Des Weiteren ist die DSC eine konventionelle Methode zur Stabilitäts-, Reinheits- und Identitätsprüfung^[342–346] z. B. von PL, deren Kettenlänge, Kopfgruppe, mögliche Ligandenwechselwirkungen und Lösungsmiteleigenschaften stark die lyo- und thermotrope Mesomorphie beeinflussen. Die Messungen wurden mit dem VP-DSC der Firma MicroCalTM Inc., Northhampton, MA, USA durchgeführt, welches, wie das ITC, nach dem Heizleistungs-Kompensations-Prinzip agiert.

Im Inneren des Gerätes sind zwei identisch geformte Zellen aus einer Nickel-Tantal-Legierung, die Probenzelle und Referenzzelle angeordnet ($V = 0.5 \text{ ml}$), die von einem adiabatischen Mantel aus Aluminium von der Umgebung abgeschirmt sind. Ein internes Überdrucksystem (0–45 psi) erlaubt das Vermessen von Lösungen oberhalb ihrer Siedetemperatur. Analog der Funktionsweise der MicroCal Titrationskalorimeter sind zwei Heizsysteme, die über das „CFB“ bzw. „JFB“ angesteuert werden, für die Regulierung der Temperaturdifferenzen ΔT_1 und ΔT_2 zwischen Mess- und Referenzzelle bzw. zwischen Mantel und Zellen zuständig^[345, 347, 348].

Die Referenz- als auch Messzelle werden kontinuierlich mit einer konstanten Rate beheizt oder abgekühlt. Die Thermostatierung erfolgt mit einem Peltier-Element. Die Differenzheizleistung, die nötig ist, um ΔT_1 konstant auf Null zu halten, wird als Funktion der Zeit aufgezeichnet. Mit der bekannten Heizrate und Konzentration der Probe wird daraus computergesteuert die molare Wärmekapazitätsdifferenz bei konstantem Druck ΔC_p zwischen Proben- und Referenzzelle als Funktion der Temperatur aufgezeichnet^[233, 349, 350]. Die softwareimplementierte Integration von ΔC_p über die Temperatur ermöglicht anschließend die Bestimmung der Umwandelungsenthalpie $\Delta_U H$.

Der zulässige Temperaturbereich des VP-DSC variiert zwischen $-10 \text{ }^\circ\text{C}$ und $+130 \text{ }^\circ\text{C}$. Die Scanrate der Apparatur ist von $0 - 90 \text{ }^\circ\text{C/h}$ frei wählbar und der Basislinienstreubereich ist $< 2.5 \text{ } \mu\text{cal}/\text{min}$ bei einem verwendeten Datenpunktfiler von 15 s ^[351, 352].

A.2.2 Probenpräparation

Die DSC wurde genutzt, um den Solubilisierungsprozess der binären Phospholipid-Tensid-Gemische, die auch schon mit der ITC untersucht wurden, zu charakterisieren. Die aus DMPC, DMPG und DMPC/DMPG(1:1) bestehenden Dispersionen in NaCl (100 mM) wurden analog der Titrationsexperimente hergestellt. Zu den Dispersionen wurde die entsprechende Menge an Tensid gegeben, sodass die verschiedenen Bereiche des Solubilisierungsphasendiagramms charakterisiert werden konnten. Die Probe wurde anschließend auf 40 °C erwärmt und mit dem Vortexer 5 min geschüttelt. Der pH-Wert wurde auf 6.4 mit 0.1 N NaOH eingestellt. Vor jeder Messung wurde die Probe 10 min entgast und vor jeder Messung frisch präpariert.

A.2.3 Versuchsdurchführung

In die Referenzzelle wurde Wasser eingefüllt, in die Probenzelle das jeweilige Phospholipid-Tensid-Gemisch. Bei einem konstanten Druck und einer Heizrate von 1 K/min wurde in einem Temperaturbereich von 10–80 °C bzw. 90 °C die Probe vermessen. Der Feedback-Modus „High“ wurde gewählt, da die Phospholipidpeaks einen ausreichend scharfen Übergang aufweisen.

Es wurden jeweils sechs Scans, drei Aufheiz- und drei Abkühlkurven, aufgenommen, wobei jeweils der zweite Scan zur Auswertung diente. Die Datenanalyse erfolgte mit der MicroCal ORIGIN™ DSC Software, Version 5.0. Das reine Lösungsmittel wurde im gleichen Temperaturbereich vermessen und diente als Basislinie, welche zur Auswertung von der DSC-Kurve subtrahiert wurde.

A.3 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

A.3.1 Methode

Zur Aggregatgrößenbestimmung der kolloidalen Systeme wurde der „ALV-NIBS/-HPPS High Performance Particle Sizer“ der Firma ALV-Laservertriebsgesellschaft m.b.H., Langen, Deutschland verwendet, dessen schematischer Aufbau in Abb. A.2 dargestellt ist.

Als Lichtquelle dient ein HeNe Laser mit ca. 3 mW Ausgangsleistung und einer Wellenlänge von 632.8 nm. Über zwei Spiegel wird der kohärente, monochromatische Lichtstrahl zur Küvettenaufnahme, montiert auf einem Verschiebetisch mit integrierter Heiz- bzw. Kühleinheit, geleitet^[235]. Passiert der Lichtstrahl eine Probe, die Teilchen mit einem optisch aktiven Durchmesser in der Größenordnung der Wellenlänge des Lichtes enthält, wird dieser in Abhängigkeit von der Teilchengröße und optischen Sichtbarkeit eines Teilchens gestreut. Die faseroptische Detektion des Streulichtes erfolgt über eine nicht-invasive Rückstremethode, bei der mittels einer speziellen Optik ein Streuwinkel von 173° realisiert wird. Des Weiteren

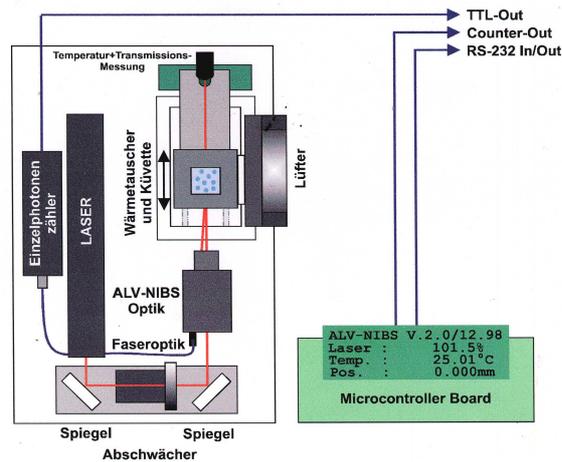


Abb. A.2: Schematischer Aufbau des ALV-NIBS/HPPS^[235]

wird eine fokussierende Optik zur Laserbeleuchtung und Streulichtdetektion verwendet, was eine Detektionsempfindlichkeit von Teilchen einer Größe <10 nm bis 5000 nm ermöglicht. Ein Photomultiplier, der die einzelnen, gestreuten Lichtquanten in elektrische, der Streuintensität proportionale Impulse umwandelt, dient als Einzelphotonenzähler.

Dabei wird die Schwankung der Streulichtintensität, verursacht durch die Brownsche Molekularbewegung der Teilchen in der Probe, als Funktion der Zeit gemessen, weshalb die Methode auch als Photonenkorrelationspektroskopie bezeichnet wird^[233].

Als Spektralanalyseverfahren der Streulichtfluktuationsfunktion dient die Digitalkorrelations-Methode. Aus dem Verlauf der daraus resultierenden Autokorrelationsfunktion wird die mittlere Fluktuationszeit des Lichtes und damit über die STOKES-EINSTEIN-Beziehung des Diffusionskoeffizienten D mit dem hydrodynamischen Radius R_h unter Berücksichtigung der Temperatur sowie der Viskosität der Probe ermittelt. Des Weiteren werden Informationen über die Größenverteilung der Partikel einer Probe gewonnen.

A.3.2 Probenpräparation

Die DLS diente der Charakterisierung der Solubilisierung der DMPC, DMPG und DMPC/DMPG (1:1) Lipidvesikel mit DTAB, TTAB bzw. CTAB bei Temperaturen von 30 °C und 55 °C.

Die DMPC-Lipiddispersionen kamen in den Konzentrationen 2 mM und 5 mM, die DMPG-Dispersionen in den Konzentrationen 2 mM, 4 mM und 8 mM und die DMPC/DMPG (1:1) Dispersionen in einer 6 mM Konzentration zum Einsatz. Die Herstellung erfolgte durch Extrusion der im Lösungsmittel dispergierten Lipide entsprechender Konzentration. Die im Wasserbad auf 40 °C erwärmten PL-Proben wurden zunächst 10 min auf dem Vortexer geschüttelt und danach durch zwei Membranfilter mit einem Porenradius von 50 nm bei einer Temperatur von 40 °C im

Wasserbad extrudiert. Die zugegebene Tensidvolumina betragen 10 - 30 μl . Nach der Injektion wurde eine Equilibrierzeit von mindestens 3 min vor jeder Messungen festgelegt.

Um staubfreie Proben vermessen zu können, war eine gründliche Reinigung der Küvetten notwendig. Zusätzlich musste die Ansammlung von Staubpartikeln durch Filtration des Lösungsmittels vor der Präparation der Proben durch Nylon-Spritzenfilter der Porengröße 0.2 μm vermieden werden. Die präparierten Tensidlösungen wurden vor dem Vermessen noch einmal zusätzlich filtriert und direkt in die Multistep-Applikationspipette (Multipette[®]) gefüllt, die mit einem 1 ml- Pipettieraufsatz eine schrittweise Applikation der Tensidlösung von wenigstens 10 μl gewährleistet.

A.3.3 Versuchsdurchführung

Die Proben wurden in verschließbaren Quarzglasküvetten (HELLMA GmbH & Co. KG, Müllheim) vermessen. Jedes Experiment wurde mindestens zweifach durchgeführt. Die Messdauer eines Experimentes betrug 30 s. Die Solubilisierungsexperimente wurden bei 30 °C und 55 °C durchgeführt.

Die Datenauswertung erfolgte über die ALV-5000/E/EPP (Version 3.0) Software. Die Verteilungsfunktionsanalyse erfolgte mit dem numerischen, linearen Regularisierungsverfahren CONTIN^[353], mit dessen Routine die Korrelationsfunktion einer beliebigen Größenverteilung an die Messdaten angepasst wird. Sie eignet sich für multimodale Verteilungen. Die präsentierten Ergebnisse wurden durch die „ungegewichtete“ Verteilung ermittelt, welche die Streuintensität der jeweiligen Partikelgrößenart wiedergibt.

A.4 Externe Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS)

A.4.1 Methode

Die Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS) kombiniert die Filmwaagetechnik mit der IR-Spektroskopie, sodass während der Aufzeichnung von π/A -Isothermen simultan IRRA-Spektren akkumuliert werden. Dies ermöglicht Informationen über die Konformation, Orientierung und intermolekulare Wechselwirkungen der Moleküle an der Wasser-Luft-Grenzfläche zu sammeln. Aufgrund des hohen Informationsgehaltes dieser Technik ist die IRRAS-Methode für vielfältige Untersuchungen an verschiedenen Substanzklassen verwendet worden, wie z. B. an Fettsäuren und deren Derivate^[354], an PL^[355-357], an Tensiden^[304, 309, 358, 359] und PL-Tensid-Gemischen^[241, 305], an Peptiden^[360, 361] und an Proteinen^[362].

Die verwendete IRRAS-Apparatur, schematisch dargestellt in Abb. A.3, wurde von KERTH^[363] optimiert. Die IRRAS-Filmwaage der Firma Riegler & Kirstein,

Berlin, besteht aus einem größeren Probentrog ($300 \times 60 \times 3 \text{ mm}^3$) und einem kleineren Referenztrug ($60 \times 60 \times 3 \text{ mm}^3$), die beide mit Teflon beschichtet sind. Durch drei schmale Röhren sind Proben- und Referenztrug miteinander verbunden, sodass eine gleiche Flüssigkeitsstandhöhe in beiden Trögen während einer Messung gewährleistet wird. Die Teflonbarrieren des Probentrogs werden computergesteuert mit frei wählbarer Geschwindigkeit bewegt. Das Trogsystem ist auf einer fahrbaren Bühne montiert, wodurch die Tröge abwechselnd in den IR-Strahlengang geschoben werden können. Durch diese „Shuttle“-technik wird die spektrale Interferenz infolge der Wasserdampfabsorption im IR-Strahl reduziert^[360]. Als Wilhelmyplättchen zur Oberflächendruckaufnahme dient ein Filterpapierstück. Die Thermostatierung erfolgt über ein externes Wasserbad.

Ein IR-Strahl, erzeugt mit einem Equinox 55 FT-IR-Spektrometer der Firma Bruker, Karlsruhe, wird über planar angeordnete Spiegel in einen Arm eingekoppelt, dessen Einfallswinkel zwischen $20 - 80^\circ \text{C}$ verstellbar ist. Über einen hochfokussierenden Spiegel und einem rotierenden KRS-5-Polarisator ($> 98\%$ Polarisationsgüte, der s- und p-polarisiertes Licht generiert) wird der Strahl auf die Wasseroberfläche reflektiert. Der an der Wasser-Luft-Grenzfläche reflektierte Strahl wird über ein analog aufgebautes System von Spiegeln in einen zweiten Arm, der die gleiche Winkeleinstellung wie der erste Arm aufweist, zum externen MCT-Detektor geführt. Die Kühlung des Detektors erfolgt mit flüssigem Stickstoff.

Eine aus Plexiglas gefertigte Haube über dem Trogsystem und der externen Reflexionseinheit XA 511 der Firma Bruker dient der Abschirmung vor äußeren Einflüssen und zur Konstanthaltung der Luftfeuchtigkeit im System.

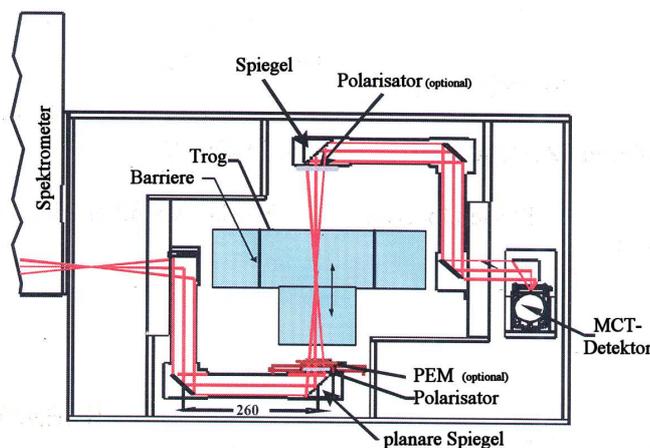


Abb. A.3: Schematischer Aufbau der IRRAS-Apparatur^[363]

A.4.2 Probenpräparation

Die externe Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie wurde verwendet, um die Adsorption der kationischen Tenside DTAB, TTAB und CTAB bzw. DDAB an der Wasser-Luft-Grenzfläche zu charakterisieren und deren Wechselwirkung mit

Phospholipidmonolayern bestehend aus DMPC- d_{54} , DMPG- d_{54} und einem Gemisch aus DMPC/DMPG (1:1) zu untersuchen.

Die mizellaren Tensidlösungen wurden durch Lösen der entsprechenden Substanzmenge in 0.1 M NaCl hergestellt. Folgende Konzentrationen wurden verwendet:

- Adsorption der reinen Tenside:
DTAB: 400 mM; DTAB (in Wasser): 750 mM; TTAB: 100 mM; CTAB 25 mM;
DDAB (in Chloroform/Methanol 9:1) 0.85 mM.
- Wechselwirkung der Tenside mit den Phospholipidmonolayer:
DTAB: 400 mM; DTAB (in Wasser): 750 mM; TTAB: 100 mM; CTAB 25 – 50 mM; DDAB 0.1 mM.

Die organische Lösung der perdeutერიerten Phospholipide zum Spreiten auf der W/L-Grenzfläche wurde durch Lösen entsprechender Menge an Phospholipid in einem Lösungsmittelgemisch aus Chloroform/Methanol 9:1 (V/V) hergestellt. Die Konzentration der Lipide betrug jeweils 0.85 mM.

A.4.3 Versuchsdurchführung

A.4.4 Probenpräparation

Das „Trog-Shuttle-Prinzip“ ermöglicht den Wechsel des IR-Strahlenganges zwischen Proben- und Referenzrog. Nach Aufnahme des Probenspektrums R erfolgt das Vermessen des Reflektivitätsspektrums R_0 mit einer jeweiligen Wartezeit von 10 s. Der Winkel des einfallenden IR-Strahles beider Einkanalspektren in Bezug auf die Wasseroberflächennormale betrug 40° . Es wurde s-polarisiertes Licht verwendet. Für jedes Spektrum wurden 1000 Scans mit einer spektralen Auflösung von 4 cm^{-1} und mit einem „Zerofilling-Faktor“ von 2 aufgenommen. Die Aquisitionszeit für ein aus 1000 Scans ermitteltes Reflexions-Absorptions-Spektrum ($-\log(R/R_0)$), berechnet aus dem Verhältnis des Reflektionsspektrums des Monolayers und des Reflektionsspektrums des reinen Subphase, betrug 4.5 min.

Für die Adsorptionsuntersuchungen der reinen Tenside an der W/L-Grenzfläche und für die Wechselwirkungsexperimente der Tensidmoleküle mit den verschiedenen Lipidmonolayern wurden jeweils sechs individuell aufgenommene IRRA-Spektren der π -Plateauregion zur Auswertung gemittelt, wodurch die Präzision der Spektren erhöht werden konnte.

Die Adsorptionsexperimente der reinen Tenside erfolgte im kleineren Trog. Dabei wurde die mizellare Tensidlösung schrittweise durch verschließbare Zugänge innerhalb der Plexiglashaube in die 0.1 M NaCl-Subphase bzw. in reines Wasser unter die Oberfläche injiziert. Nach jeder Injektion erfolgte eine Equilibrierzeit von mindestens 4 h bis der Oberflächendruck konstant blieb.

Die Untersuchungen der Tensid-PL-Monolayer-Wechselwirkungen wurden auch im kleineren Trog der IRRAS-Apparatur durchgeführt. Zunächst erfolgte das Spreiten der Lipidlösung mit einer Dosierspritze (Hamilton) auf der Subphase bis zum Erreichen eines Oberflächendrucks von 12 mN/m . Nach der Aufnahme mehrerer Lipidfilmspektren wurde schrittweise die mizellare Tensidlösung durch den Lipidfilm in die Subphase injiziert. Die Equilibrierzeit nach jeder Injektion betrug 3 – 6 h.

Die Aufnahme der Oberflächendruck/Flächen-Isotherme der reinen Lipidfilme und des DDAB-Films wurde im großen Trog durchgeführt. Ein Volumen von $21.45 \mu\text{l}$ der in Chloroform/Methanol gelösten Proben wurde auf der Subphase mit der Mikrospritze gespreitet. Die Filmkompression erfolgte mit einer Barrieren-Geschwindigkeit von $17 \text{ \AA}^2 \cdot \text{Molekül}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

Mit dem gewählten IRRAS-Messprogramm wurde ein Start-Flächenwert von $120 \text{ \AA}^2 \cdot \text{Molekül}^{-1}$ für den Beginn der IRRA-Spektrenaufnahme festgelegt. Die Schrittweite zwischen den anzufahrenden Flächen betrug 0.01 nm^2 und für jedes fünfte bzw. dritte Spektrum wurde ein neues Hintergrundspektrum gemessen.

Die Temperatur der Subphase aller Messungen wurde auf $20 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt. Die Mittelung der Spektren und Basislinienkorrektur nach der Gummibandmethode erfolgte mit OPUS, Version 4.2 (Bruker Optik GmbH). Außerdem wurde die Origin[®](OriginLab Corporation) Software zur Datenauswertung genutzt.

A.5 Filmwaageexperimente mit Brewsterwinkel-mikroskopie (BAM)

A.5.1 Methode

Die Aufnahme von π/A -Isothermen erfolgte mit einer Wilhelmy-Filmwaage der Firma Riegler & Kirstein, Berlin, ($300 \times 60 \times 3 \text{ mm}^3$), dessen Temperatur über ein externes Wasserbad gesteuert wurde. Als Druckaufnehmer diente ein Filterpapierplättchen. Zur Veränderung der molekularen Fläche einer oberflächenaktiven Substanz sind die Trogbarrieren computergesteuert beweglich.

Die Brewstermikroskopieaufnahmen an der Wasser-Luft-Grenzfläche erfolgten mit dem MiniBAM, Nanofilm Technologie GmbH, Göttingen. Das Messprinzip leitet sich vom Reflexionsverhalten an der Grenzfläche von einem optisch dünneren Medium und einem optisch dichteren Medium (Luft/Wasser) ab. Eine Monoschicht kann als drittes optisches Medium mit einem dritten Brechungsindex betrachtet werden. Wird diese in den einfallenden Strahl des Lichtes gebracht, kommt es zur Reflexion des Lichtstrahles, die mit einer Kamera detektiert werden kann (Abb. A.4). Ein fast p-polarisierter Lichtstrahl (die Polarisationssebene liegt parallel zur Einfallsebene bzw. senkrecht zur Grenzfläche) aus einer Laserdiode ($p/s \approx 100/1$) trifft auf die Grenzfläche, wird dort reflektiert und von einem Analysator, der auf p-Position gestellt ist, aufgenommen. Eine schwarze Glasplatte, die innerhalb des Strahlenganges des Lasers auf den Trogboden platziert wird und an einer Seite abgeflacht

ist, dient der Reflexion der Reststrahlung aus dem zu analysierenden optischen Achsen. Die Auflösung der Bildaufnahmen ist $< 20 \mu\text{m}$. Es wird eine Oberfläche von $4.8 \times 6.4 \text{ mm}^2$ analysiert^[364].

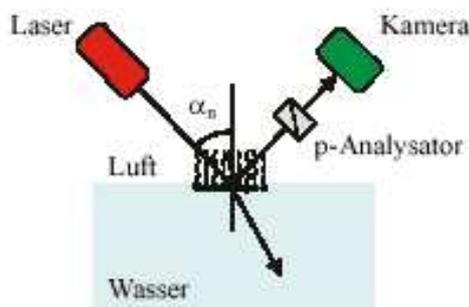


Abb. A.4: Funktionsweise des Brewster-Winkel-Mikroskops

A.5.2 Probenpräparation und Versuchsdurchführung

Die Filmwaageuntersuchung diente zur Charakterisierung der gemischten Monoschichten, bestehend aus DTAB, TTAB, CTAB bzw. DDAB und DMPC bzw. DMPG. Während der Monolayerkompression wurden BAM-Aufnahmen zur Visualisierung der Filmoberfläche angefertigt.

Die Kalibrierung der Apparatur erfolgte durch das Vermessen der π/A -Isotherme der Arachidinsäure^[365, 366], da diese nahezu temperaturunabhängig bei $\pi = 25.6 \text{ mN/m}$ den Phasenübergang vom flüssiganalogen zum festanalogen Zustand aufweist. Der Flächenbedarf pro Molekül beträgt an diesem Knickpunkt der π/A -Isotherme $20 \pm 1 \text{ \AA}^2 \cdot \text{Molekül}^{-1}$.

Die zu spreitende DMPC- bzw. DMPG-Lösungen wurden analog der Lösungen für die IRRAS-Experimente hergestellt. Als Subphase diente 0.1 M NaCl bzw. die monomolekular konzentrierte Lösungen der Tenside DTAB, TTAB und CTAB in 100 mM NaCl : 0.05 mM ; DDAB 0.001 mM .

Die Phospholipide wurden vorsichtig mit einer Hamilton-Spritze auf die Subphase gespreitet und zur vollständigen Verdampfung des Lösungsmittels eine Equilibrierzeit von 10 min eingehalten. Jede Messung wurde dreifach mit einem frisch präparierten Film durchgeführt. Bei exakter Reinigung des Troges und Konstanthaltung der äußeren Bedingungen konnten die Isothermen mit einer Präzision von $\pm 1 \text{ \AA}^2$ ermittelt werden. Die Geschwindigkeit der Kompression betrug $2.5 \text{ \AA}^2 \cdot \text{Molekül}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Die Temperatur der Subphase wurde auf $20 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt. Als Messprogramm zur Festlegung der Parameter diente die Software FLOWER, entwickelt von Karl Spratte für die Wilhelmy-Filmwaage der Firma Riegler & Kirstein.

A.6 Weitere verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Ringtensiometer	K8, Krüss, Hamburg
Reinstwassersystem Clear-UV plus	SG Wasseraufbereitung und Re- generierstation GmbH, Hamburg-Barsbüttel
Feinwaage	Mettler AT 261 Delta Range® FACT Zürich, Schweiz
Vortexer	Janke&Kunkel IKA®-Labortechnik VF2
Magnetrührer mit Entgasung	Thermolyne®, Nuova™ Magne- tic Stirrer, Barnstead/Thermolyne, Dubuque, IA, USA
Ultraschallbad	Elma Transsonic 310/H, Singen
Vakuumentrockenschrank	Heraeus Instruments
Heiz-Evaporationsgerät	Pierce Reacti-Therm™, Heating/Stirring Module, Pierce Chemical Company, Rockford, IL, USA
pH-Elektrode	pH-Meter pMX 3000/pH: WTW, Weilheim
Thermostate	Haake, Karlsruhe
Dosierspritzen mit Gewindekolben	Hamilton, Darmstadt

A.7 Chemikalienverzeichnis

Substanz	Hersteller	M_r g/mol
<i>N</i> -Dodecyl- <i>N,N,N</i> -tri-methylammoniumbromid (DTAB)	Merck	308.35
<i>N</i> -Tetradecyl- <i>N,N,N</i> -tri-methylammoniumbromid (TTAB)	Merck	336.38
<i>N</i> -Cetyl- <i>N,N,N</i> -trimethyl-ammoniumbromid (CTAB)	Merck	364.46
<i>N,N</i> -Didodecyl- <i>N,N</i> -dimethyl-ammoniumbromid (DDAB)	Fluka	462.65
1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine (DMPC)	Genzyme	677.96
1,2-Dimyristoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoglycerol, Natrimsalz (DMPG)	Sygena	688.85
1,2-Dimyristoyl- d_{54} - <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine (DMPC- d_{54})	Avanti® Polar Lipids	
1,2-Dimyristoyl- d_{54} - <i>sn</i> -glycero-3-phosphoglycerol, Natriumsalz (DMPG- d_{54})	Avanti® Polar Lipids	732.28 743.28
Natriumchlorid (NaCl)	Roth	58.4
Chloroform (CHCl ₃)	Roth	119.38
Methanol (CH ₃ OH)	Roth	32.04
Natriumhydroxid (NaOH)	Merck	40.0

Zusatzinformationen

B

B.1 Literaturwerte der Demizellisierung

	T/°C	cmc/mM	$\Delta H_{T;demiz}^{m/aq}$	$\Delta G_{T;demiz}^{\circ;m/aq}$	$\Delta S_{T;demiz}^{\circ;m/aq}$
DTAB*	20 ^[367]	14.66	2.2	37.2	-117.3
	25 ^[247]	13.5	1.87		
	25 ^[171]	8.0			
	30 ^[368]	15.98	5.1	18.4	-43.9
	30 ^[246]	15.51	3.45	36.36	-108.55
	55 ^[68]	18.5	14.18		
TTAB*	25 ^[247]	3.8			
	25 ^[171]	3.0			
	25 ^[369]	4.11	4.49		
	30 ^[370]	3.99	8.5	24.0	-51.2
	30 ^[368]	3.98	8.51	24.1	-51.5
	30 ^[246]	3.93	6.96	42.47	-117.36
	55 ^[68]	4.9	19.94		
CTAB*	25 ^[247]	0.97	10.19		
	25 ^[254]	0.89	9.16	28.0	-62.0
	25 ^[369]	1.02	8.5		
	25 ^[371]	0.89	10.9	51.7	-136.8
	30 ^[370]	1.05	14.3	27.4	-43.1
	30 ^[368]	1.03	13.9	34.0	-66.3
	30 ^[246]	0.95	11.07	48.76	-124.4
	55 ^[68]	1.33	27.03		
CTAB**	25 ^[254]	0.12	4.9	33.0	-93.0
CTAB***	25 ^[70]		3.4		

Tab. B.1: Literaturübersicht zu *cmc* und Energiekennwerten der Demizellisierung von DTAB, TTAB und CTAB in Wasser (*), 0.05 M NaBr (**), 0.1 M NaCl durch mikrokalorimetrische Untersuchungen basierend auf dem PS-Modell bzw. dem „ma“-Modell^[246, 367, 371]

B.2 ITC-Solubilisierung

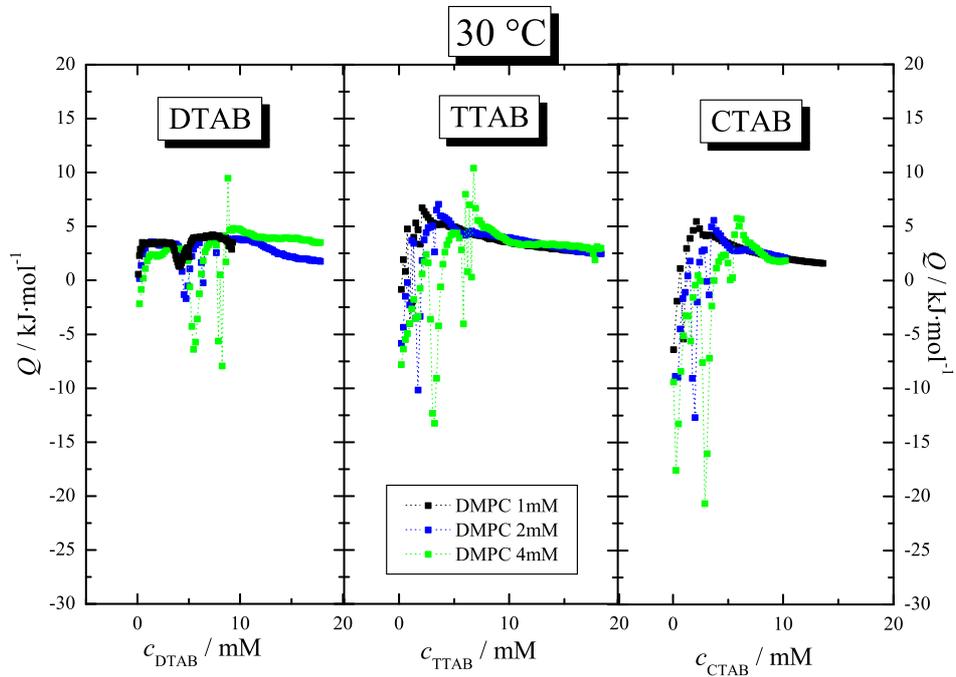


Abb. B.1: ITC-Solubilisierungsexperiment: Reaktionsenthalpie Q vs. Tensidkonzentration c_T in der Reaktionszelle durch die Titration der mizellaren Tensidlösung DTAB (links), TTAB (mitte) und CTAB (rechts) in DMPC-Vesikel bei 30 °C mit verschiedenen vorgelegten DMPC-Konzentrationen

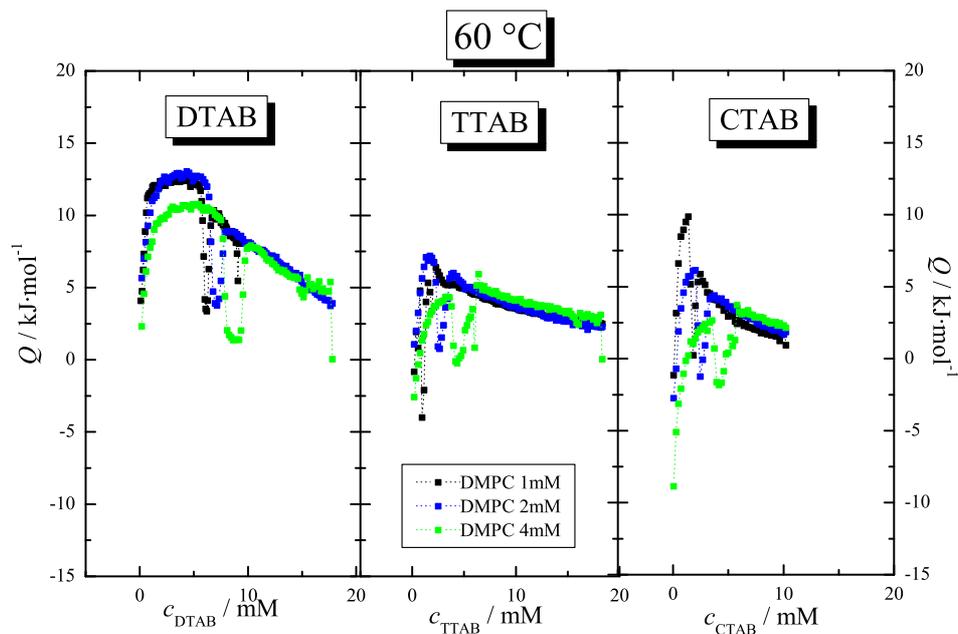


Abb. B.2: ITC-Solubilisierungsexperiment: Reaktionsenthalpie Q vs. Tensidkonzentration c_T in der Reaktionszelle durch die Titration der mizellaren Tensidlösung DTAB (links), TTAB (mitte) und CTAB (rechts) in DMPC-Vesikel bei 60 °C mit verschiedenen vorgelegten DMPC-Konzentrationen

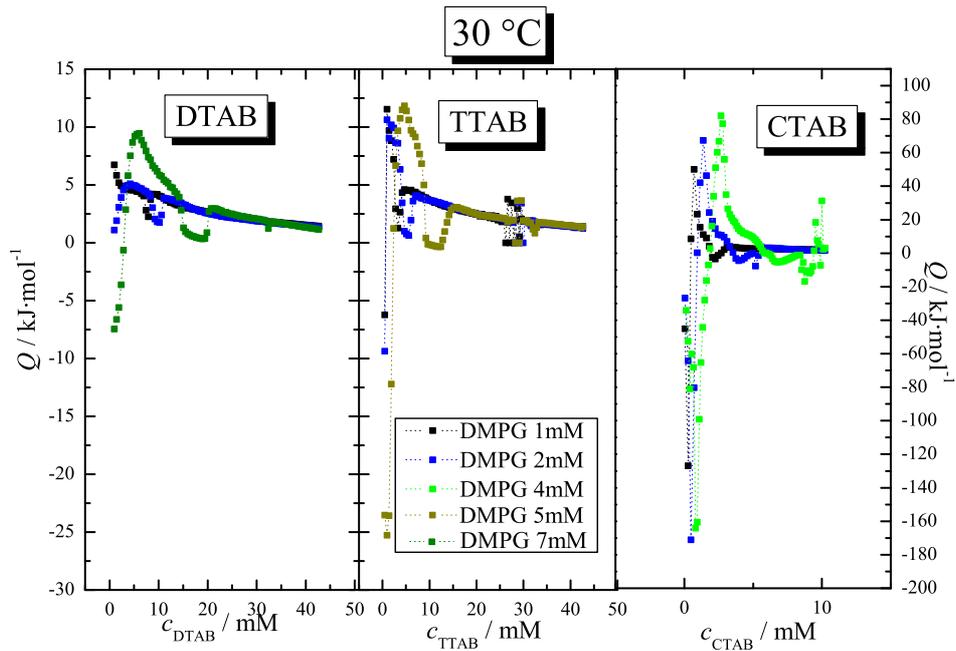


Abb. B.3: ITC-Solubilisierungsexperiment: Reaktionsenthalpie Q vs. Tensidkonzentration c_T in der Reaktionszelle durch die Titration der Mizellaren Tensidlösung DTAB (links), TTAB (mitte) und CTAB (rechts) in DMPG-Vesikel bei 30 °C mit verschiedenen vorgelegten DMPG-Konzentrationen

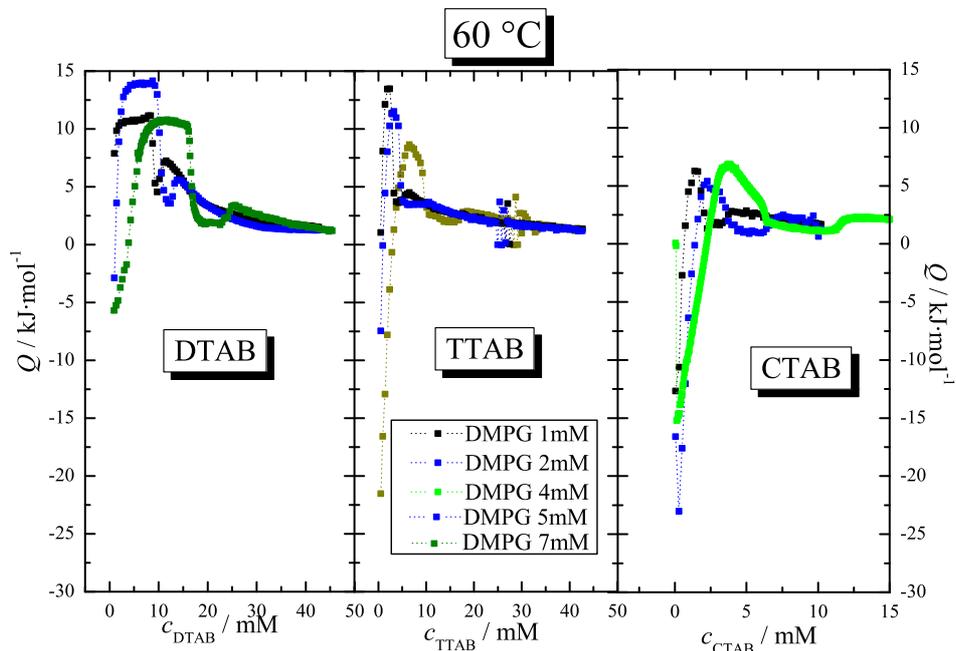


Abb. B.4: ITC-Solubilisierungsexperiment: Reaktionsenthalpie Q vs. Tensidkonzentration c_T in der Reaktionszelle durch die Titration der Mizellaren Tensidlösung DTAB (links), TTAB (mitte) und CTAB (rechts) in DMPG-Vesikel bei 60 °C mit verschiedenen vorgelegten DMPG-Konzentrationen

B.3 DLS-Solubilisierung

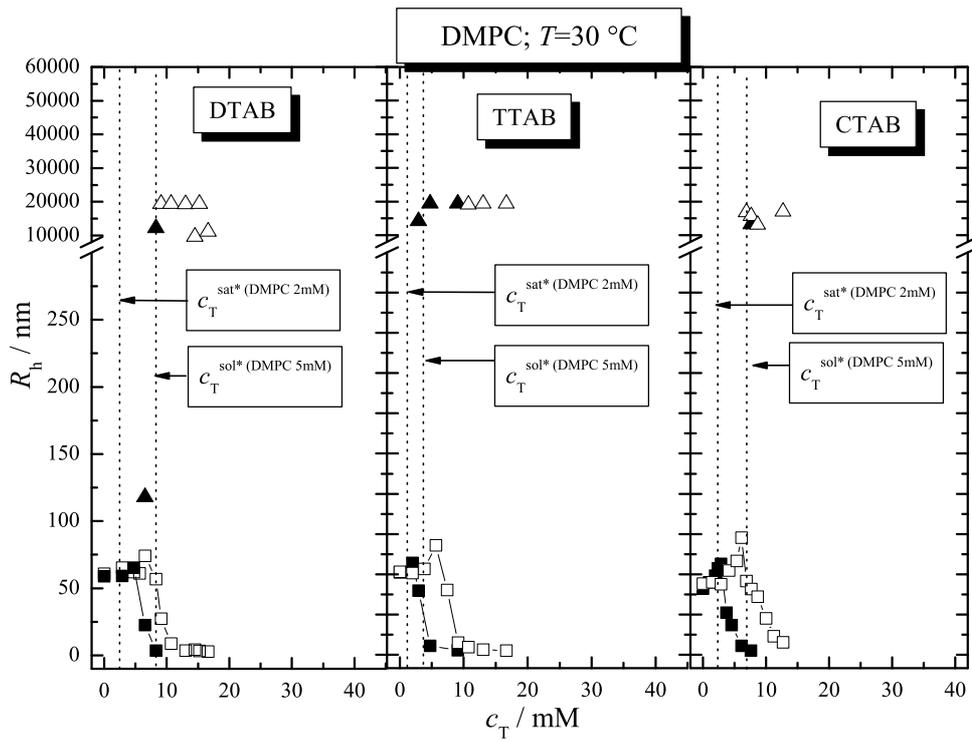


Abb. B.5: DLS-Solubilisierung von DMPC-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 30 °C: hydrodynamischer Radius R_h vs. Tensidkonzentration c_T ; geschlossenen Symbole: $c_L=2$ mM, offene Symbole: $c_L=5$ mM, Quadrate: Hauptfraktion, Dreiecke: Nebenfraktion; die senkrechten Linien entsprechen den ITC-Phasengrenzen für die Sättigung (sat^*) und Solubilisierung (sol^*) bei entsprechender Lipidkonzentration

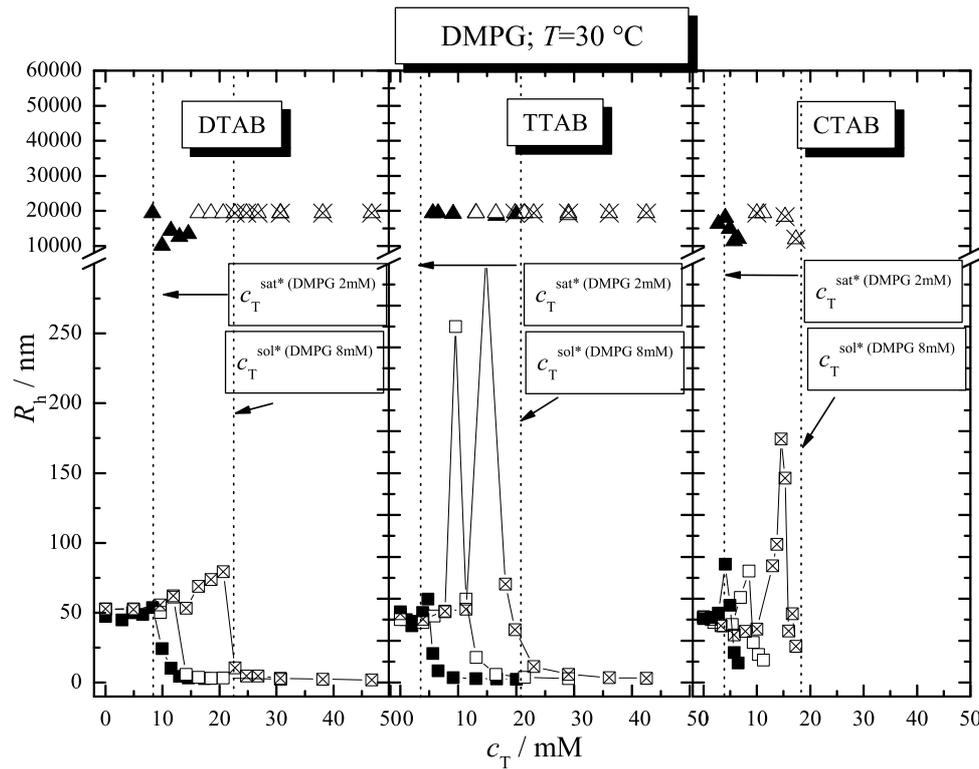


Abb. B.6: DLS-Solubilisierung von DMPG-Vesikeln mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 30 °C: hydrodynamischer Radius R_h vs. Tensidkonzentration c_T ; geschlossenen Symbole: $c_L=2$ mM, offene Symbole: $c_L=4$ mM, gekreuzte Symbole: $c_L=8$ mM, Quadrate: Hauptfraktion, Dreiecke: Nebenfraktion; senkrechte Linien entsprechen den ITC-Phasengrenzen für die Sättigung (sat^*) und Solubilisierung (sol^*) bei entsprechender Lipidkonzentration

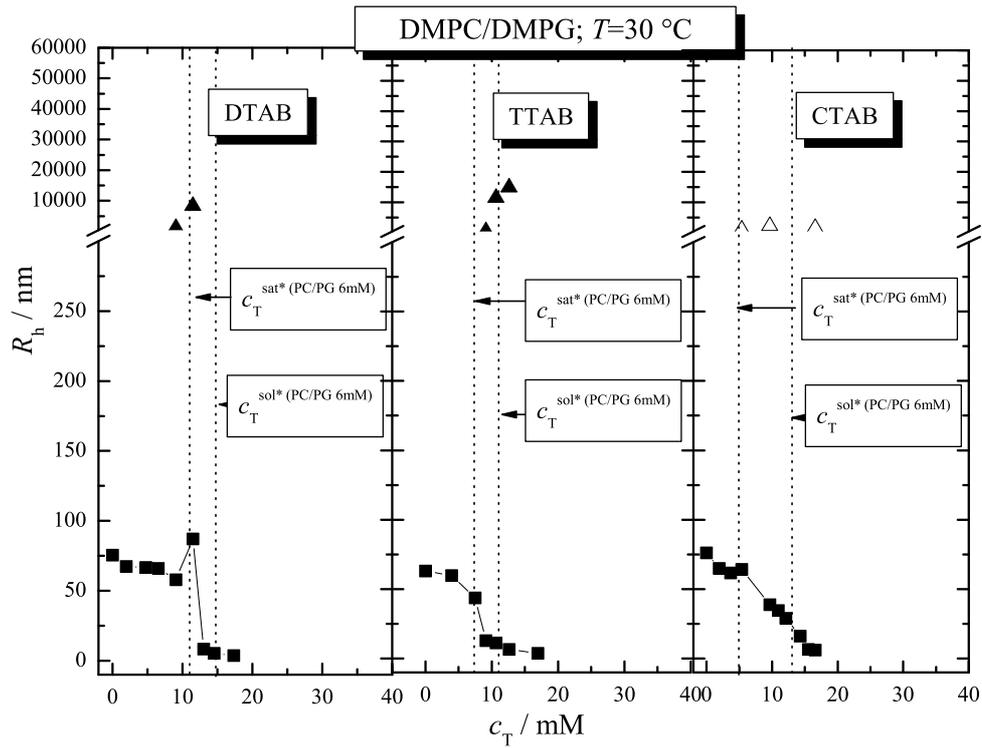


Abb. B.7: DLS-Solubilisierung von DMPC/DMPG (1:1)-Mischvesikeln (6 mM) mit DTAB, TTAB und CTAB in 0.1 M NaCl bei 30 °C: hydrodynamischer Radius R_h vs. Tensidkonzentration c_T ; Quadrate: Hauptfraktion, Dreiecke: Nebenfraktion; senkrechte Linien entsprechen den ITC-Phasengrenzen für die Sättigung (sat^*) und Solubilisierung (sol^*) der entsprechenden Lipidkonzentration

B.4 DSC

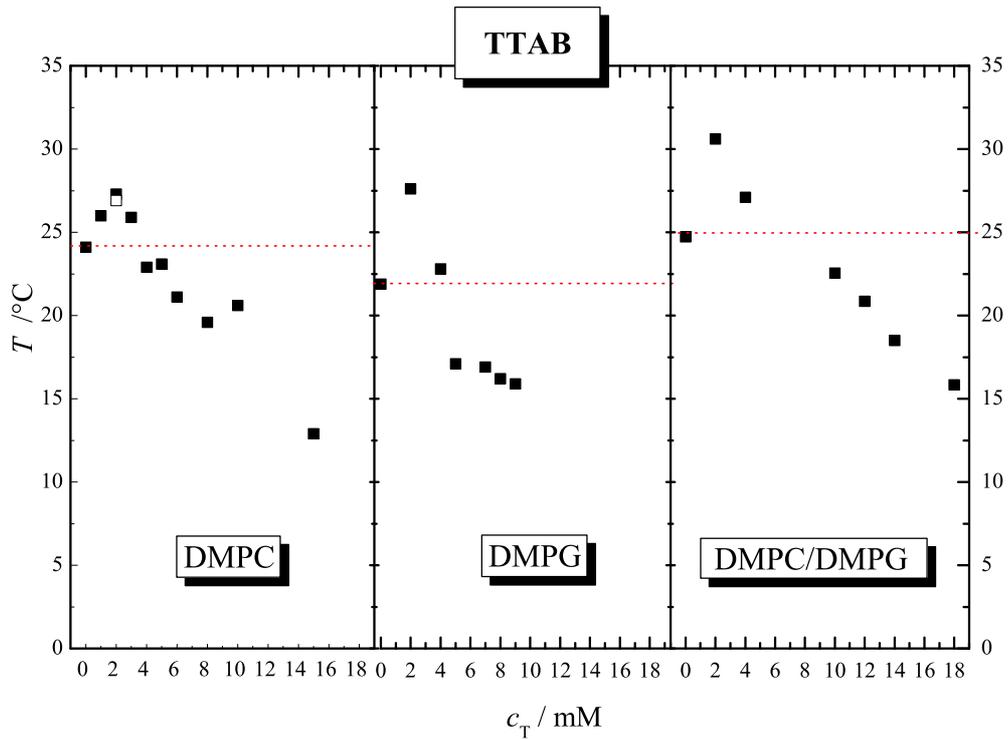


Abb. B.8: DSC: Abhängigkeit der Phasenumwandlungstemperatur (Peakmaxima) von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmendem TTAB-Anteil in 0.1 M NaCl; geschlossene Symbole: Umwandlung von $P_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$; offene Symbole: zweiter Peak der Hauptphasenumwandlungstemperatur; die roten Linien entsprechen T_m der reinen Lipide

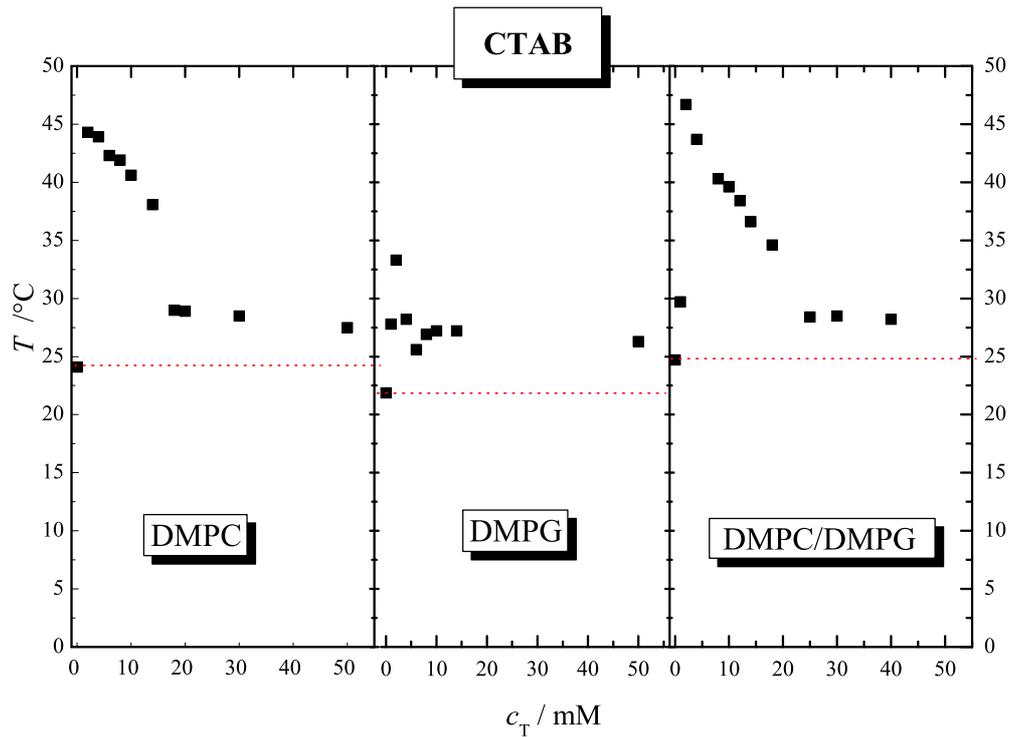


Abb. B.9: DSC: Abhängigkeit der Phasenumwandlungstemperatur (Peakmaxima) von DMPC (5 mM, links), DMPG (5 mM, mitte) und DMPC/DMPG (1:1)-Gemischen (5 mM, rechts) mit zunehmenden CTAB-Anteil in 0.1 M NaCl; geschlossene Symbole: Umwandlung von $P_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$; offene Symbole: zweiter Peak der Hauptphasenumwandlungstemperatur; die roten Linien entsprechen T_m der reinen Lipide

B.5 IRRAS

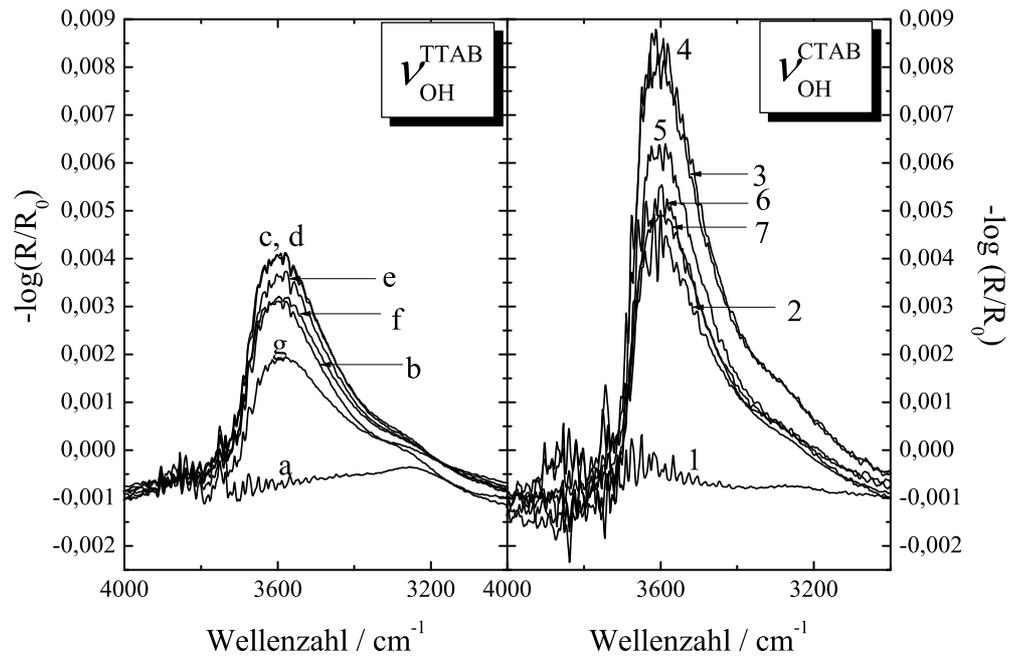


Abb. B.10: IRRA-Spektren der OH-Banden der TTAB- und CTAB-GIBBS-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei verschiedenen Tensidkonzentrationen: für TTAB: (a) 0 mM, (b) 0.06 mM, (c) 0.31 mM, (d) 0.56 mM, (e) 0.81 mM, (f) 1.06 mM und (g) 1.56 mM sowie für CTAB: (1) 0 mM, (2) 0.0017 mM, (3) 0.0052 mM, (4) 0.0087 mM, (5) 0.0269 mM, (6) 0.0564 mM und (7) 0.122 mM

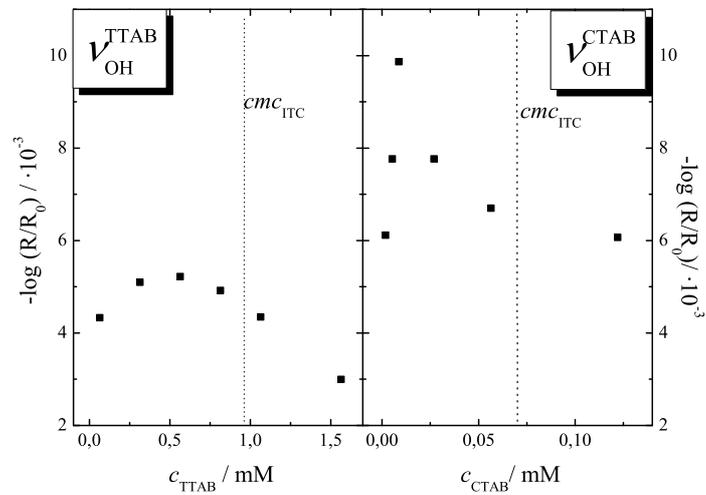


Abb. B.11: Extinktion der OH-Streckschwingungsbande der TTAB- und CTAB-GIBBS-Monolayer auf 0.1 M NaCl als Funktion der Tensidkonzentration; die gestrichelten Linien entsprechen der cmc der verwendeten Tenside in 0.1 M NaCl, die mit ITC bestimmt wurden

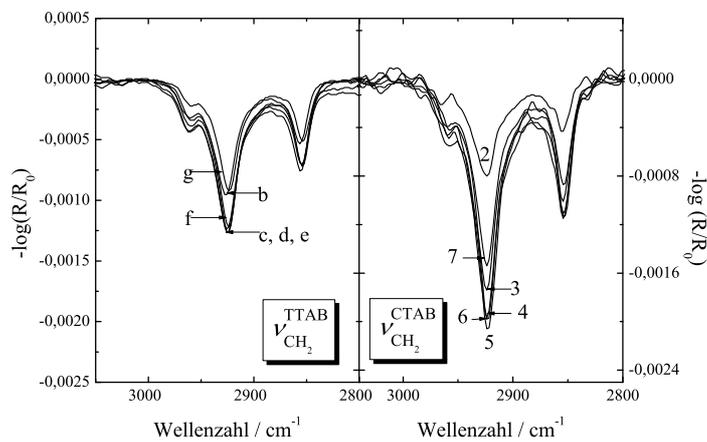


Abb. B.12: IRRA-CH₂-Spektren der TTAB- und CTAB-GIBBS-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei verschiedenen Tensidkonzentrationen: für TTAB: (a) 0 mM, (b) 0.06 mM, (c) 0.31 mM, (d) 0.56 mM, (e) 0.81 mM, (f) 1.06 mM und (g) 1.56 mM sowie für CTAB: (1) 0 mM, (2) 0.0017 mM, (3) 0.0052 mM, (4) 0.0087 mM, (5) 0.0269 mM, (6) 0.0564 mM und (7) 0.122 mM

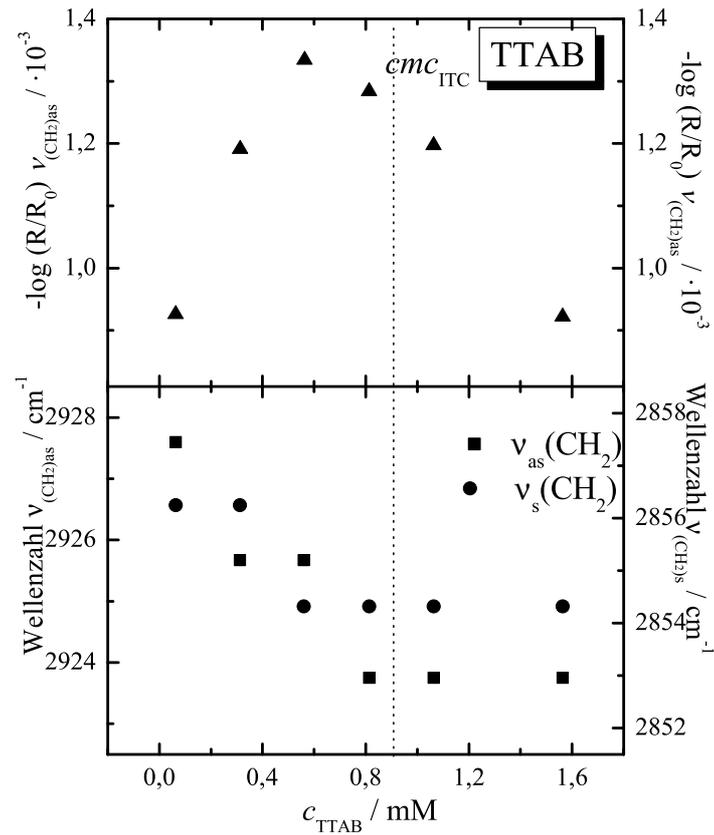


Abb. B.13: Oben: Extinktionswerte der antisymmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande des TTAB-GIBBS-Monolayer als Funktion der TTAB-Konzentration. Unten: Abhängigkeit der Wellenzahl der antisymmetrischen (Quadrate) sowie symmetrischen (Kreise) CH_2 -Streckschwingungsbande als Funktion der TTAB-Konzentration; die gestrichelte Linie entspricht der ermittelten cmc von TTAB bei 20°C in 0.1 M NaCl mit ITC

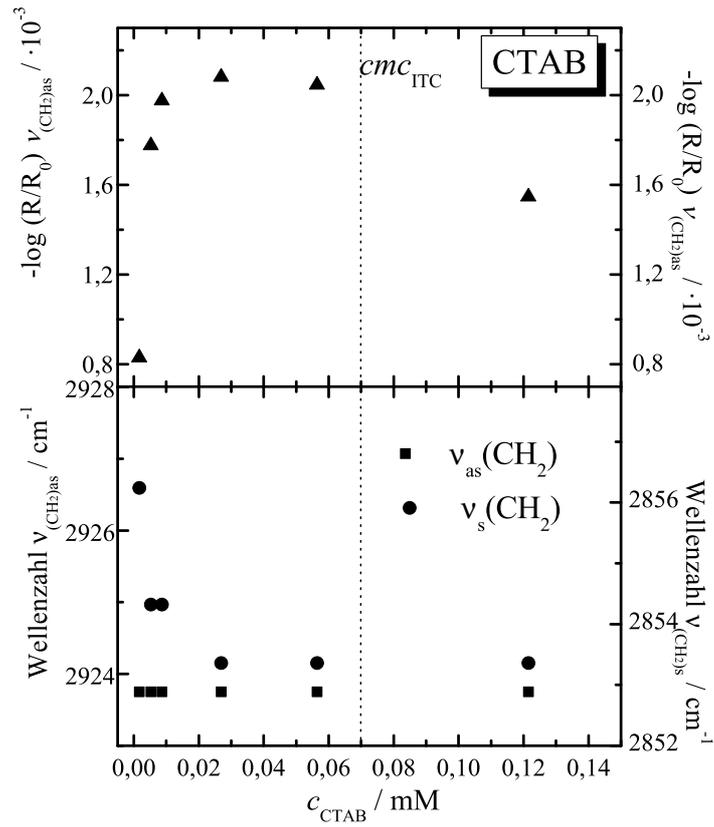


Abb. B.14: Oben: Extinktionswerte der antisymmetrischen CH_2 -Streckschwingungsbande des CTAB-GIBBS-Monolayer als Funktion der CTAB-Konzentration. Unten: Abhängigkeit der Wellenzahl der antisymmetrischen (Quadrate) sowie symmetrischen (Kreise) CH_2 -Streckschwingungsbande als Funktion der CTAB-Konzentration; die gestrichelte Linie entspricht der ermittelten cmc von CTAB bei 20°C in 0.1 M NaCl mit ITC

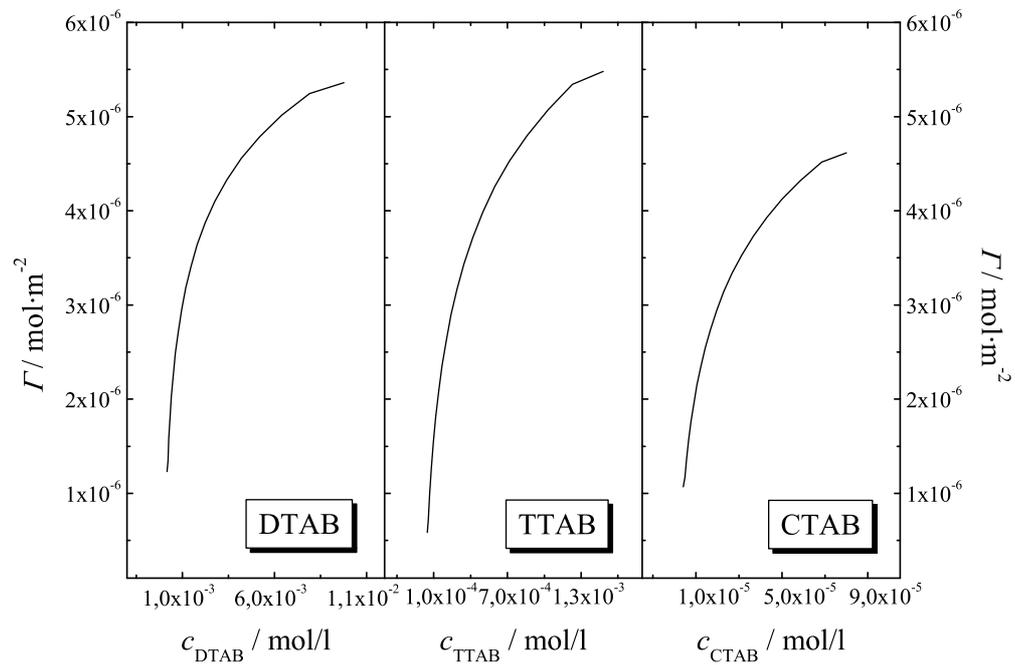


Abb. B.15: Berechnete Grenzflächenkonzentration von DTAB, TTAB und CTAB (Ableitung des Fits der GIBBS-Adsorptionsisotherme durch ein Polynom zweiten Grades) an der W/L-Grenzfläche auf 0.1 M NaCl bei 20 °C, berechnet nach Gl. 3.27

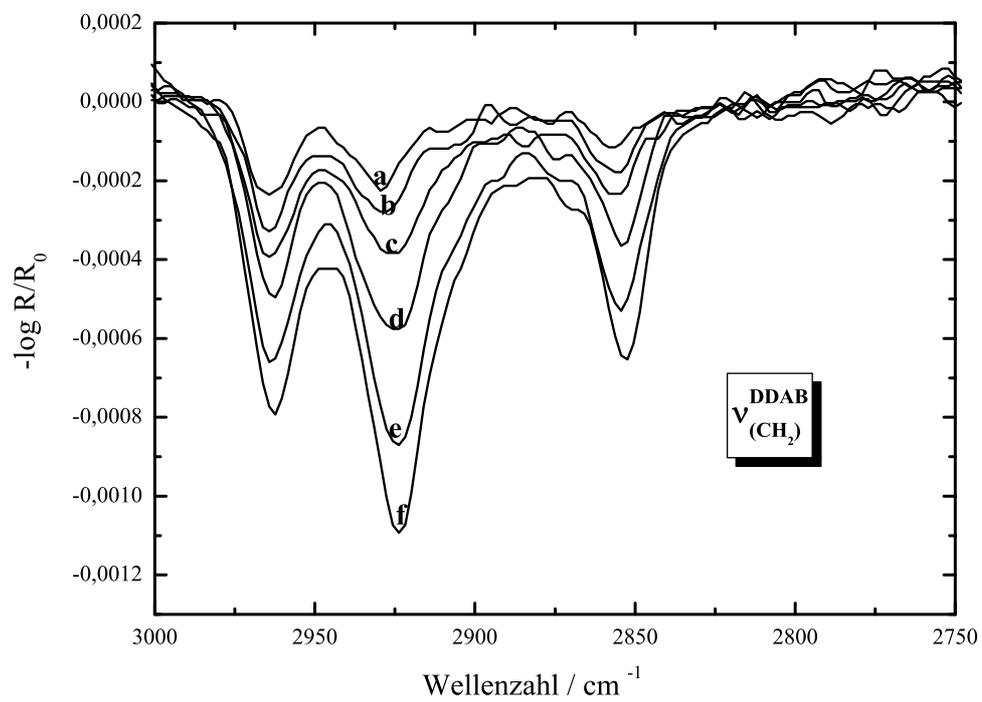


Abb. B.16: IRRA-Spektren der CH₂-Streckschwingungsbanden von DDAB bei folgenden Oberflächendruck (mN/m): (a) 0, (b) 5.2, (c) 8.9, (d) 16.1, (e) 26.8, (f) 35.6

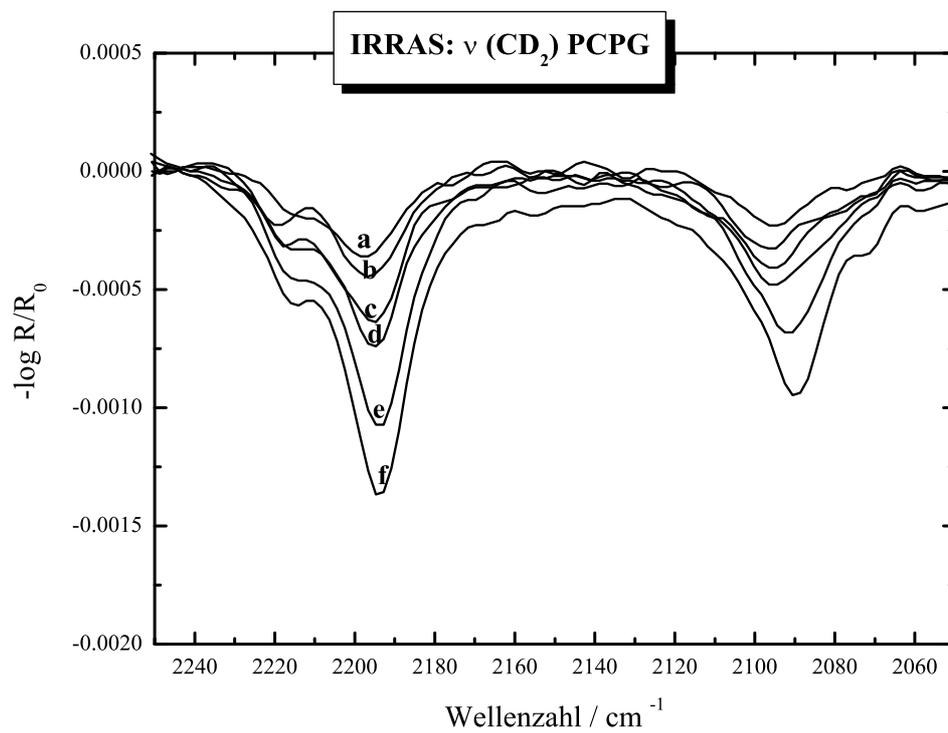


Abb. B.17: IRRAS-Spektren der CD_2 -Streckschwingungsbanden des Mischmonolayers bestehend aus $\text{DMPC-}d_{54}/\text{DMPG-}d_{54}$ (1:1) bei folgenden Oberflächendruck (mN/m): (a) 0, (b) 4.4, (c) 9.8, (d) 15, (e) 26.6, (f) 34.4

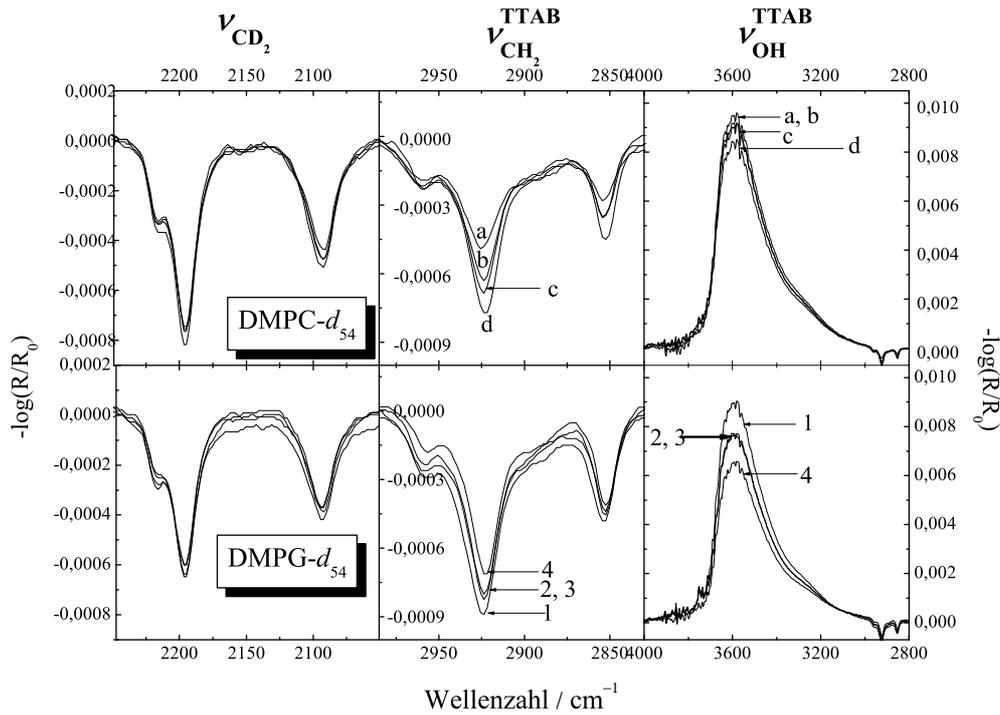


Abb. B.18: IRRA-Spektren der OH-, CH₂-, CD₂-Streckschwingungsbanden; obere Diagramme: DMPC-*d*₅₄-Film nach dem TTAB-Einbau bei verschiedenen Oberflächendrücken und TTAB-Konzentrationen in der Subphase, gekennzeichnet durch (a) $\pi=24.65 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=35 \mu\text{M}$, (b) $\pi=28.5 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=69.4 \mu\text{M}$, (c) $\pi=32.5 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=139 \mu\text{M}$ und (d) $\pi=38.1 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=354 \mu\text{M}$; untere Diagramme: DMPG-*d*₅₄-Film nach dem TTAB-Einbau bei verschiedenen Oberflächendrücken und TTAB-Konzentrationen in der Subphase, gekennzeichnet durch (1) $\pi=32.6 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=62.5 \mu\text{M}$, (2) $\pi=34.4 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=125 \mu\text{M}$, (3) $\pi=38 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=250 \mu\text{M}$ und (4) $\pi=39.9 \text{ mN/m}$ und $c_{TTAB}=375 \mu\text{M}$

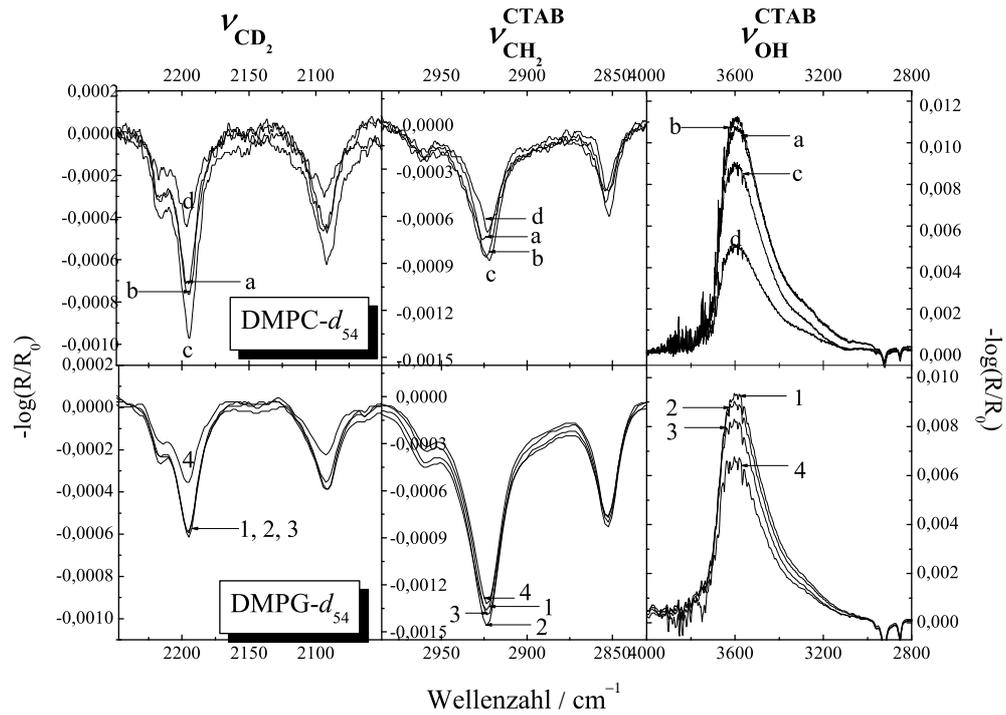


Abb. B.19: IRRA-Spektren der OH-, CH₂-, CD₂-Streckschwingungsbanden; obere Diagramme: DMPC- d_{54} -Film nach dem CTAB-Einbau bei verschiedenen Oberflächendrücken und CTAB-Konzentrationen in der Subphase, gekennzeichnet durch (a) $\pi=24.5 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=1.74 \mu\text{M}$, (b) $\pi=32.2 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=5.7 \mu\text{M}$, (c) $\pi=37.9 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=13.9 \mu\text{M}$ und (d) $\pi=40.6 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=66 \mu\text{M}$; untere Diagramme: DMPG- d_{54} -Film nach dem CTAB-Einbau bei verschiedenen Oberflächendrücken und CTAB-Konzentrationen in der Subphase, gekennzeichnet durch (1) $\pi=31.3 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=3.5 \mu\text{M}$, (2) $\pi=38.7 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=20.8 \mu\text{M}$, (3) $\pi=41.4 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=38.2 \mu\text{M}$ und (4) $\pi=40.5 \text{ mN/m}$ und $c_{\text{CTAB}}=72.9 \mu\text{M}$

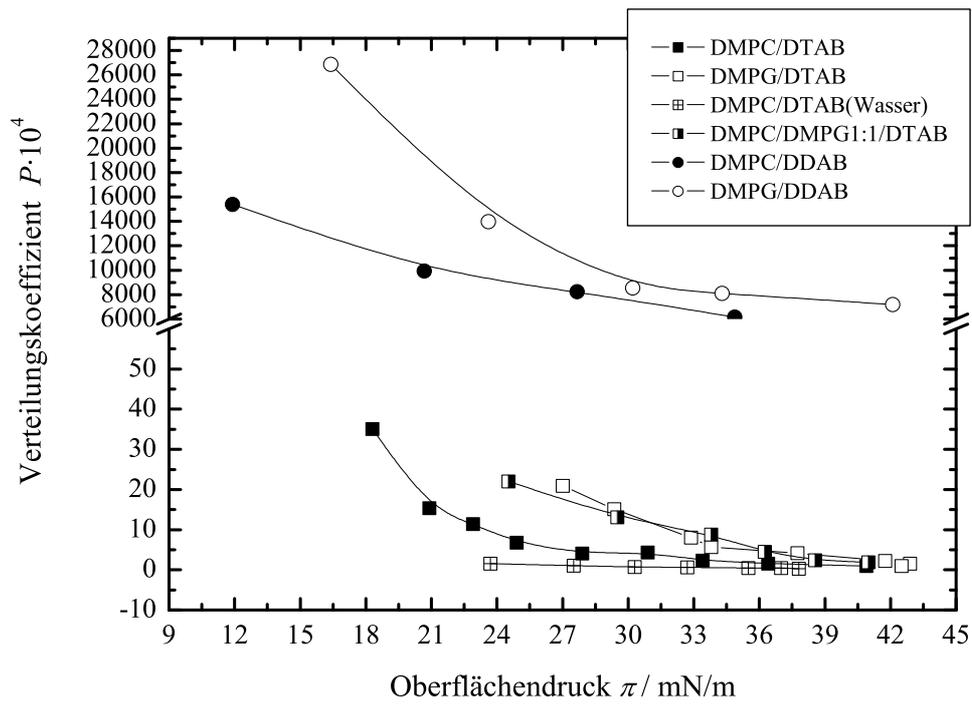


Abb. B.20: Berechnete Verteilungskoeffizienten P^{IRRAS} von DDAB (Kreise) und DTAB (Quadrate) in DMPC- d_{54} - (geschlossene Symbole), DMPG- d_{54} (offene Symbole) und DMPC- d_{54} /DMPG- d_{54} (1:1)-Monolayer in 0.1 M NaCl bzw. in reinem Wasser (gekennzeichnete Symbole, Messdaten nicht gezeigt) als Funktion des Oberflächendrucks

c_{TTAB} mM	π mN/m	Abs_{TTAB} $\cdot 10^{-3}$	N_{TTAB} Molekül/Å ²	ϵ_{TTAB} Å ² /Molekül
0.06	12.5	0.93	0.0060	0.0488
0.31	20.8	1.19	0.0198	0.0491
0.56	23.8	1.33	0.0230	0.0493
0.81	29.6	1.28	0.0282	0.0495
1.06	33.2	1.20	0.0307	0.0496
1.56	33.4	0.92	0.0307	0.0496

Tab. B.2: IRRAS-Absorptionswerte (*Abs*) der antisymmetrischen CH₂-Streckschwingungsbande, die molekulare Dichte (N_{TTAB}) und der Extinktionskoeffizient (ϵ_{TTAB}) des TTAB-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei unterschiedlichen Oberflächendrücken (π)

c_{CTAB} mM	π mN/m	Abs_{CTAB} $\cdot 10^{-3}$	N_{CTAB} Molekül/Å ²	ϵ_{CTAB} Å ² /Molekül
0.0017	4.50	0.83	0.0064	0.0508
0.0052	15.5	1.78	0.0070	0.0512
0.0087	18.1	1.98	0.0122	0.0513
0.0269	26.4	2.08	0.0215	0.0517
0.0564	33.6	2.05	0.0271	0.0519
0.1220	35.0	1.55	0.0276	0.0520

Tab. B.3: IRRAS-Absorptionswerte (*Abs*) der antisymmetrischen CH₂-Streckschwingungsbande, die molekulare Dichte (N_{CTAB}) und der Extinktionskoeffizient (ϵ_{CTAB}) des CTAB-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei unterschiedlichen Oberflächendrücken (π)

	π mN/m	Abs_{DDAB} $\cdot 10^{-3}$	N_{DDAB} Molekül/Å ²	ϵ_{DDAB} Å ² /Molekül
DDAB	8.9	0.40	0.0111	0.0357
	14.8	0.63	0.0151	0.0418
	26.8	0.92	0.0209	0.0442
	32.9	1.04	0.0238	0.0437

Tab. B.4: IRRAS-Absorptionswerte (*Abs*) der antisymmetrischen CH₂-Streckschwingungsbande, die molekulare Dichte (N_{DDAB}) und der Extinktionskoeffizient (ϵ_{DDAB}) des DDAB-Monolayer auf 0.1 M NaCl bei unterschiedlichen Oberflächendrücken (π)

	c_{TTAB} mM	π mN/m	$Abs_{L/T}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{L/T}$ Molek./Å ²	$Abs_{T/L}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{T/L}$ Molek./Å ²	X_{TTAB}^{NaCl} $\cdot 10^{-6}$	$X_{TTAB}^{monol.}$	P_{TTAB}^{IRRAS} $\cdot 10^4$
DMPC	0.035	24.7	0.849	0.01629	0.493	0.01001	0.63	0.381	60.9
	0.069	28.5	0.791	0.01481	0.674	0.01363	1.25	0.479	38.4
	0.139	32.5	0.771	0.01409	0.815	0.01643	2.50	0.538	21.6
	0.354	38.1	0.771	0.01363	0.772	0.01550	6.37	0.532	8.4
DMPG	0.063	32.6	0.657	0.01003	0.901	0.01817	1.13	0.644	57.3
	0.125	34.4	0.651	0.00973	0.836	0.01683	2.25	0.634	28.2
	0.25	38.0	0.623	0.00892	0.868	0.01743	4.50	0.661	14.7
	0.375	39.9	0.623	0.00873	0.744	0.01491	6.75	0.631	9.34

Tab. B.5: Einfluss der TTAB-Subphasenkonzentration auf den Oberflächendruck (π), die Absorptionswerte der CD₂ und CH₂ Banden ($Abs_{Lipid/TTAB}$ bzw. $Abs_{TTAB/Lipid}$), die molekulare Dichte von DMPC-*d*₅₄, DMPG-*d*₅₄ bzw. DMPC-*d*₅₄/DMPG-*d*₅₄ 1:1 und TTAB in gemischten Lipid/DTAB-Monolayern ($N_{Lipid/TTAB}$ bzw. $N_{TTAB/Lipid}$), der Molenbruch von TTAB in der Subphase (X_{TTAB}^{NaCl}) und im Lipidmonolayer ($X_{TTAB}^{monolayer}$) sowie der Verteilungskoeffizient (P_{TTAB}^{IRRAS}) von TTAB in die Lipidmonolayer

	c_{CTAB} mM	π mN/m	$Abs_{L/T}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{L/T}$ Molek./Å ²	$Abs_{T/L}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{T/L}$ Molek./Å ²	X_{CTAB}^{NaCl} $\cdot 10^{-7}$	$X_{CTAB}^{monol.}$	P_{CTAB}^{IRRAS} $\cdot 10^4$
DMPC	0.0017	24.5	0.796	0.01323	0.703	0.01469	0.31	0.526	1680
	0.0057	32.3	0.747	0.01367	0.884	0.01704	1.03	0.555	539
	0.0139	37.9	0.803	0.01421	0.904	0.01735	2.50	0.550	220
	0.0660	40.6	0.974	0.01696	0.724	0.01387	11.87	0.450	38.0
DMPG	0.0035	31.3	0.653	0.01013	1.37	0.02642	0.62	0.723	1157
	0.0208	38.7	0.663	0.00942	1.48	0.02839	3.74	0.751	200
	0.0382	41.2	0.600	0.00829	1.41	0.02699	6.87	0.765	111
	0.0729	40.5	0.408	0.00568	1.34	0.02567	13.1	0.818	62.4
DMPC/ DMPG (1:1)	0.0017	23.6	1.59	0.01574	1.59	0.03081	0.31	0.662	2113
	0.0035	26.6	1.85	0.01780	1.85	0.03587	0.62	0.668	1070
	0.0070	31.3	1.94	0.01737	1.94	0.03736	1.26	0.683	543
	0.0156	38.1	1.97	0.01585	1.97	0.03776	2.81	0.704	251

Tab. B.6: Einfluss der CTAB-Subphasenkonzentration auf den Oberflächendruck (π), die Absorptionswerte der CD₂ und CH₂ Banden ($Abs_{Lipid/CTAB}$ bzw. $Abs_{CTAB/Lipid}$), die molekulare Dichte von DMPC-*d*₅₄, DMPG-*d*₅₄ bzw. DMPC-*d*₅₄/DMPG-*d*₅₄ 1:1 und CTAB in gemischten Lipid/DTAB-Monolayern ($N_{Lipid/CTAB}$ bzw. $N_{CTAB/Lipid}$), der Molenbruch von CTAB in der Subphase (X_{CTAB}^{NaCl}) und im Lipidmonolayer ($X_{CTAB}^{monolayer}$) sowie der Verteilungskoeffizient (P_{CTAB}^{IRRAS}) von CTAB in die Lipidmonolayer

	c_{DDAB} mM	π mN/m	$Abs_{L/T}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{L/T}$ Molek./Å ²	$Abs_{T/L}$ $\cdot 10^{-3}$	$N_{T/L}$ Molek./Å ²	X_{DDAB}^{NaCl} $\cdot 10^{-9}$	$X_{DDAB}^{monol.}$	P_{DDAB}^{IRRAS} $\cdot 10^4$
DMPC	0.00007	11.9	1.14	0.02378	0.240	0.00572	1.26	0.194	15400
	0.00018	20.7	1.26	0.02486	0.487	0.01132	3.15	0.313	9900
	0.00028	27.7	1.37	0.02584	0.808	0.01841	5.04	0.416	8300
	0.00039	34.9	1.55	0.02792	0.934	0.02082	6.93	0.427	6200
DMPG	0.00007	16.4	0.88	0.01675	0.364	0.00858	1.26	0.339	26900
	0.00018	23.6	1.17	0.02000	0.684	0.01576	3.15	0.441	14000
	0.00028	30.2	1.52	0.02387	0.801	0.01811	5.04	0.432	8600
	0.00039	34.3	1.60	0.02394	1.370	0.03062	6.93	0.561	8100
	0.00049	42.1	1.57	0.02148	1.710	0.03743	8.82	0.635	7200

Tab. B.7: Einfluss der DDAB-Subphasenkonzentration auf den Oberflächendruck (π), die Absorptionswerte der CD₂ und CH₂ Banden ($Abs_{Lipid/DDAB}$ bzw. $Abs_{DDAB/Lipid}$), die molekulare Dichte von DMPC-*d*₅₄, DMPG-*d*₅₄ bzw. DMPC-*d*₅₄/DMPG-*d*₅₄ 1:1 und DDAB in gemischten Lipid/DDAB-Monolayern ($N_{Lipid/DDAB}$ bzw. $N_{DDAB/Lipid}$), der Molenbruch von DDAB in der Subphase (X_{DDAB}^{NaCl}) und im Lipidmonolayer ($X_{DDAB}^{monolayer}$) sowie der Verteilungskoeffizient (P_{DDAB}^{IRRAS}) von DDAB in die Lipidmonolayer

Literaturverzeichnis

- [1] MOROI, Y.: *Micelles. Theoretical and applied aspects*. Plenum Press, New York, 1992
- [2] Kap. 2 In: LINFIELD, W.M.: *Straight-chain alkylammonium compounds*. In: *Cationic Surfactants*. Marcel Dekker, Inc., 1970, S. 9–65
- [3] DYNAROWICZ, P. ; JAWIEN, W. ; TRILLO, J. M. ; ROMEU, O. C.: Surface properties of didodecylammonium bromide adsorbed and spread at the water/air interface. In: *J. Colloid Interface Sci.* 174 (1995), S. 518–520
- [4] WARR, G.G. ; SEN, R. ; FENNELL EVANS, D.: Microemulsion formation and phase behavior of alkyldimethylammonium bromide surfactants. In: *J. Phys. Chem.* 92 (1988), S. 774–783
- [5] MATSUMOTO, T. ; HEIUCHI, T. ; HORIE, K.: Morphology and viscoelasticity of bilayer aqueous colloids of low-molecular and macromolecular amphiphiles. In: *Colloid Polym. Sci.* 267 (1989), S. 71–79
- [6] MATSUMOTO, T.: Internal and interfacial structure of small vesicle in aqueous colloid of didodecyldimethylammonium bromide. In: *Colloid Polym. Sci.* 270 (1992), S. 492–497
- [7] Kap. 1 In: SILVIUS, J.R.: *Phospholipids handbook*. Marcel Dekker, Inc., 1993, S. 1–22
- [8] Kap. 3 In: BLUME, A.: *Lipids*. In: *Bioelectrochemistry of membranes*. Birkhäuser Verlag, Basel, 2004, S. 61–152
- [9] SMALL, D.M.: A classification of biologic lipids based upon their interaction in aqueous systems. In: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 45 (1968), S. 108–119
- [10] SMALL, D.M.: Surface and bulk interactions of lipids and water with a classification of biologically active lipids based on these interactions. In: *Fed. Proc.* 29 (1970), S. 1320–1326
- [11] CAREY, M.C. ; SMALL, D.M.: The characteristics of mixed micellar solutions with particular reference to bile. In: *Am. J. Med.* 49 (1970), S. 590–608
- [12] HARTLEY, G.S.: *Aqueous solutions of paraffin-chain salts: A study in micelle formation*. Hermann & Cie, Paris, 1936
- [13] GRIFFIN, W.C.: Classification of surface-active agents by HLB. In: *J. Soc. Cosm. Chem.* 1 (1949), S. 311
- [14] GRIFFIN, W.C.: Calculation of HLB values of non-ionic surfactants. In: *J. Soc. Cosm. Chem.* 5 (1954), S. 259.

- [15] DAVIES, T. ; BACHER, P. (Hrsg.): *Interfacial phenomena*. Academic Press, New York, 1961
- [16] DAVIES, T.: In: *Proc. Int. Congr. Surface Activ. Lond.* 1 (1957), S. 426
- [17] TRAUBE, I.: Über die Kapillaritätskonstanten organischer Stoffe in wässriger Lösung. In: *Annu. Chem. Liebigs* 265 (1891), S. 27–55
- [18] MCBAIN, J.W. ; SALMON, C.S.: Colloidal electrolytes. Soap solutions and their constitutions. In: *J. Am. Chem. Soc.* 42 (1920), S. 426–436
- [19] PALMER, K.J.: The structure of an egg-albumin detergent complex. In: *J. Phys. Chem.* 48 (1944), S. 12–21
- [20] DEBYE, P.: Light scattering of soap solutions. In: *Annu. N. Y. Acad. Sci.* 51 (1949), S. 575–592
- [21] KAUZMANN, B. ; MCELROY, W.D. (Hrsg.) ; GLASS, B. (Hrsg.): *The mechanism of enzyme action*. John Hopkins Press, Baltimore, 1954
- [22] TANFORD, C.: *The hydrophobic effect: Formation of micelles and biological membranes*. Wiley-Interscience, New York, 1980
- [23] BLOKZIJL, W. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Hydrophobe Effekte - Ansichten und Tatsachen. In: *Angew. Chem.* 105 (1993), S. 1610–1648
- [24] LUDWIG, R.: Wasser: von Clustern in die Flüssigkeit. In: *Angew. Chem.* 113 (2001), S. 1856–1876
- [25] LAZARIDIS, T.: Solvent size vs. cohesive energy as the origin of hydrophobicity. In: *Acc. Chem. Res.* 34 (2001), S. 931–937
- [26] FRANK, H.S. ; EVANS, M.W.: Free volume and entropy in condensed systems. III Entropy in binary liquid mixtures. In: *J. Chem. Phys.* 13 (1945), S. 507–532
- [27] SHINODA, K.: Iceberg formation and solubility. In: *J. Phys. Chem.* 81 (13) (1977), S. 1300–1302
- [28] PRIVALOV, P.L. ; STANLEY, J.G.: The hydrophobic effect: a reappraisal. In: *Pure Appl. Chem.* 61 (1989), S. 1097–1104
- [29] FRANKS, F. ; REID, D.S. ; FRANKS, F. (Hrsg.): *Water: A comprehensive treatise*. Plenum Press, New York, 1973
- [30] SCHMID, R.: Recent advances in the description of the structure of water, the hydrophobic effect, and the like-dissolves-like rule. In: *Monatshefte für Chemie* 13 (2001), S. 1295–1326
- [31] DEL RIO, J.M. ; JONES, M.N.: Thermodynamics of the hydrophobic effect. In: *J. Phys. Chem.* 105 (2001), S. 1200–1211
- [32] SOUTHALL, N.T. ; DILL, K.A. ; HAYMET, A.D.J.: A view of the hydrophobic effect. In: *J. Phys. Chem. B* 106 (2002), S. 521–533
- [33] ISRAELACHVILI, J.N.: *Intermolecular and surface forces - with application to colloidal and biological systems*. Academic Press, Inc., London, 1985
- [34] GIBBS, J.W.: *The collected works of J.W. Gibbs*. Longmans, Green, London, 1928
- [35] EKWALL, P. ; STENIUS, P.: Aggregation in surfactant systems. In: *Int. Rev. Sci.: Phys. Chem.* 7 (1975), Nr. 2, S. 215–248

- [36] MCBAIN, J.W.: In: *Trans. Faraday Soc.* 9 (1913), S. 99
- [37] GELBART, W.M. ; BEN-SHAUL, A. ; ROUX, D.: *Micelles, membranes, microemulsions, and monolayers*. Springer, New York, 1994
- [38] SCHWUGER, M.J. ; HAEGEL, F.-H. ; SCHWUGER, M.J. (Hrsg.): *Lehrbuch der Grenzflächenchemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1996
- [39] LINDMAN, B. ; WENNERSTRÖM, H.: *Topics in current chemistry*. Bd. 87. Springer-Verlag, Berlin, 1980
- [40] KRAFFT, F. ; WIGLOW, H.: Über das Verhalten der Fettsäuren, Alkalien und der Seifen in Gegenwart von Wasser. III Die Seifen als Krystalloide. In: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 28 (1895), S. 2566–2573
- [41] SHINODA, K. ; HUTCHINSON, E.: Pseudo-phase separation model for thermodynamic calculations on micellar solutions. In: *J. Phys. Chem.* 66 (1962), S. 577–582
- [42] MCBAIN, J.W. ; ALEXANDER, J. (Hrsg.): *Colloid chemistry, theoretical and applied*. Reinhold, New York, 1944
- [43] DEBYE, P. ; ANACKER, E.W.: Micelle shape from dissymmetry measurements. In: *J. Phys. Colloid Chem.* 55 (1951), S. 644–655
- [44] MUKKERJEE, P.: Micellar properties of drugs: micellar and nonmicellar patterns of self-association of hydrophobic solutes of different molecular structures - monomer fraction, availability, and misuses of micellar hypothesis. In: *J. Pharm. Sci.* 63 (1974), S. 972–981.
- [45] KRATZAT, K.: Surfactant design and structure-properties relationships of surfactant/water systems. In: *Enc. Surf. Colloid Sci.* (2002), S. 5169–5170
- [46] CABANE, B. ; DUPLESSIX, R. ; ZEMB, T.: High resolution neutron scattering on ionic surfactant micelles: SDS in water. In: *J. Phys.* 46 (1985), S. 2161–2171
- [47] GRUEN, D.W.R.: A model for the chains in amphiphilic aggregates. 1. Comparison with a molecular dynamics simulation of a bilayer. 2. Thermodynamic and experimental comparisons for aggregates of different shape and size. In: *J. Phys. Chem.* 89 (1985), S. 146–163
- [48] COURCHENE, W.L.: Micellar properties from hydrodynamic data. In: *J. Phys. Chem.* 68 (1964), S. 1870–1874
- [49] BENDEDOUCH, D. ; CHEN, S.-H. ; KOELER, W.C.: Determination of interparticle structure factors in ionic micellar solutions by small angle neutron scattering. In: *J. Phys. Chem.* 87 (1983), S. 2621–2628
- [50] CATES, M.E. ; CANDAU, S.J.: Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles. In: *J. Phys.: Condens. Matter* 2 (1990), S. 6869–6892
- [51] HIEMENZ, P.C. ; RAJAGOPALAN, R.: *Principles of colloid and surface chemistry*. Marcel Dekker, New York, 1997
- [52] MENGER, F.M.: The structure of micelles. In: *Acc. Chem. Res.* 12 (1979), S. 111–117
- [53] AUVRAY, X. ; PETIPAS, C. ; ANTHORE, R.: X-ray diffraction study of mesophases of cetyltrimethylammonium bromide in water, formamide, and glycerol. In: *J. Phys. Chem.* 93 (1989), S. 7458–7464
- [54] WÄRNHEIM, T. ; JÖNSSON, A.: Phase diagrams of alkyltrimethylammonium surfactants in some polar solvents. In: *J. Colloid Interface Sci.* 125 (1987), S. 627–633

- [55] Kap. 1 In: HILTROP, K.: *Lyotrope Flüssigkristalle - Grundlagen, Entwicklung, Anwendung*. Steinkopff, Darmstadt, 1999, S. 1–24
- [56] HUSSON, F. ; MUSTACCHI, H. ; LUZZATI, V.: The structure of association colloids. II. Description of the liquid-crystalline phases of several amphiphile-water systems: anionic, cationic, nonionic amphiphiles. In: *Acta Crystallogr.* 13 (1960), S. 668–677
- [57] WOLFF, T. ; BÜNAU, G.V.: In: *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 88 (1984), S. 1098
- [58] LUZZATI, V. ; TARDIEU, A. ; GULIK-KRZYWICKI, T. ; RIVAS, E. ; REISS-HUSSON, F.: Structure of the cubic phases of lipid-water systems. In: *Nature* 220 (1968), S. 485
- [59] BERR, S.S. ; CAPONETTI, E. ; JOHNSON, J.S. ; JONES, R.R.M. ; MAGID, L.J.: Small-angle neutron scattering from hexadecyltrimethylammonium bromide micelles in aqueous solutions. In: *J. Phys. Chem.* 90 (1986), S. 5766–5770
- [60] GAILLON, L. ; HAMIDI, M. ; LELIEVRE, J. ; GABORIAUD, R.: Effect of the counterion in aqueous solutions of cationic surfactants. Part 1. Potentiometric study. In: *Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique* 94 (1997), S. 707–727
- [61] CIPICIANI, A. ; ONORI, G. ; SAVELLI, G.: Structural properties of water-ethanol mixtures: a correlation with the formation of micellar aggregates. In: *Chem. Phys. Lett.* 143 (1988), S. 505–509
- [62] NINHAM, B.W. ; EVANS, D.F. ; WEI, G.J.: The curious world of hydroxide surfactants. Spontaneous vesicles and anomalous micelles. In: *J. Phys. Chem.* 87 (1983), S. 5020–5025
- [63] BARRY, B.W. ; RUSSELL, G.F.J.: Prediction of micellar molecular weights and thermodynamics of micellization of mixtures of alkyltrimethylammonium salts. In: *J. Colloid Interface Sci.* 40 (1972), S. 174–194
- [64] SEPULVEDA, L. ; CORTES, J.: Ionization degrees and critical micell concentrations of hexadecyltrimethylammonium and tetradecyltrimethylammonium micelles with different counter ions. In: *J. Phys. Chem.* 89 (1985), S. 5322–5324
- [65] PAREDES, S. ; TRIBAUT, M. ; J., Ferreira ; LEONIS, J.: A microcalorimetric method of determination of critical micellar concentration and enthalpy of micellization. In: *Colloid Polym. Sci.* 254 (1976), S. 637–642
- [66] ROELANTS, E. ; DE SCHRYVER, F. C.: Parameters affecting aqueous micelles of CTAC, TTAC, and DTAC probed by fluorescence quenching. In: *Langmuir* 3 (1987), S. 209–214
- [67] PAREDES, S. ; SEPULVEDA, L. ; TRIBOUT, M.: Enthalpies of micellization on the quaternary tetradecyl- and cetyl ammonium salts. In: *J. Phys. Chem.* 88 (1984), S. 1871–1875
- [68] BASHFORD, M.T. ; WOOLEY, E.M.: Enthalpies of dilution of aqueous decyl-, dodecyl-, tetradecyl-, and hexadecyltrimethylammonium bromides at 10, 25, 40, and 55°C. In: *J. Phys. Chem.* 89 (1985), S. 3173–3179
- [69] LIANOS, P. ; ZANA, R.: Fluorescence probing study on the effect of medium chain length alcohols on the properties of tetradecyltrimethylammonium bromide aqueous micelles. In: *Chem. Phys. Lett.* 76 (1980), S. 62–67
- [70] ZANA, R.: Ionization of cationic micelles: effect of the detergent structure. In: *J. Colloid Interface Sci.* 70 (1980), S. 330–337
- [71] TREINER, C. ; MANNEBACH, M.H.: Counter ion condensation on mixed cationic/nonionic micellar systems: Bjerrum's electrostatic condition. In: *Colloid Polymer Sci.* 268 (1990), S. 88–95

- [72] MOULIK, S.P. ; HAQUE, Md. E. ; JANA, P.K. ; DAS, A.R.: Micellar properties of cationic surfactants in pure and mixed states. In: *J. Phys. Chem.* 100 (1996), S. 701–708
- [73] MOULIK, S.P. ; DAS GUPTA, P.K.: Effects of urea and a nonionic surfactant on the micellization and counterion binding properties of cetyltrimethylammonium bromide and sodium dodecyl sulfate. In: *Colloid Polym. Sci.* 267 (1989), S. 246–254
- [74] LIANOS, P. ; ZANA, R.: Fluorescence probe studies of the effect of concentration on the state of aggregation of surfactants in aqueous solution. In: *J. Colloid Interface Sci.* 84 (1981), S. 100–107
- [75] DAVEY, T.W. ; DUCKER, W.A. ; HAYMAN, A. R. ; SIMPSON, J.: Krafft temperature depression in quaternary ammonium bromide surfactants. In: *Langmuir* 14 (1998), S. 3210–3213
- [76] RICO, I. ; LATTES, A.: Formamide, a water substitute. 12. Krafft temperature and micelle formation of ionic surfactants in formamide. In: *J. Phys. Chem.* 90 (1986), S. 5870–5872
- [77] LIN, I.J. ; FRIEND, J.P. ; ZIMMELS, Y.: Effect of structural modifications on the hydrophile-lipophile balance of ionic surfactants. In: *J. Colloid Interface Sci.* 45 (1973), S. 378–385
- [78] PROVERBIO, Z.E. ; BARDAVID, S.M. ; ARANCIBIA, E.L. ; SCHULZ, P.C.: Hydrophile - lipophile balance and solubility parameter of cationic surfactants. In: *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 214 (2003), S. 161–171
- [79] VINSON, P.K. ; BELLARE, J.R. ; DAVIS, H.T. ; MILLER, W.G. ; SCRIVEN, L.E.: Direct imaging of surfactant micelles, vesicles, discs, and ripple phase structures by cryo-transmission electron microscopy. In: *J. Colloid Interface Sci.* 142(1) (1991), S. 74–91
- [80] DORSHOW, R. ; BRIGGS, J. ; BUNTON, C.A. ; NICOLI, D.F.: Dynamic light scattering from cetyltrimethylammonium bromide micelles. Intermicellar interactions at low ionic strengths. In: *J. Phys. Chem.* 86 (1982), S. 2388–2395
- [81] BREZESINSKI, G. ; MÖGEL, H.-J.: *Grenzflächen und Kolloide*. Spektrum Akademischer Verlag, 1993
- [82] MÖHWALD, H.: Phospholipid and phospholipid-protein monolayers at the air/water interface. In: *Annu. Rev. Phys. Chem.* 41 (1990), S. 441–476
- [83] GAINES, G.L.: *Insoluble monolayers at liquid-gas interfaces*. John Wiley & Sons, Inc., New York, London, Sydney, 1966
- [84] ALBRECHT, O. ; GRULER, H. ; SACKMANN, E.: Polymorphism of phospholipid monolayers. In: *J. de Physique* 39 (1978), S. 301–313
- [85] ADAMSON, A.W.: *Physical chemistry of surfaces*. John Wiley & Sons, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 1990
- [86] LÖSCHE, M. ; SACKMANN, E. ; MÖHWALD, H.: A fluorescence microscopic study concerning the phase diagram of phospholipids. In: *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 87 (1983), S. 848–852
- [87] PALLAS, N.R. ; PETHICA, B.A.: Liquid-expanded to liquid-condensed transitions in lipid monolayers at the air/water interface. In: *Langmuir* 1 (1985), S. 509–513
- [88] HIFEDA, Y.F. ; RAYFIELD, G.W.: Evidence for the first-order phase transitions in lipid and fatty acid monolayers. In: *Langmuir* 8 (1992), S. 197–200
- [89] KAGANER, V.M. ; MÖHWALD, H. ; DUTTA, P.: Structure and phase transitions in Langmuir monolayers. In: *Rev. Mod. Phys.* 71 (1999), S. 779–819

- [90] Kap. 2 In: BANGHAM, A.D.: *Membrane models with phospholipids. In: Progress in Biophysics and Molecular Biology.* Pergamon Press, Oxford, 1968, S. 29–95
- [91] CHAPMANN, D. ; WALLACH, D.F.H.: *Biological membranes..* Bd. 2. Academic Press, London, New York, 1973
- [92] SMALL, D.M.: *Handbook of lipid research..* Bd. 4. Plenum Press, New York, 1986
- [93] LASIC, D.D.: *Liposomes: From physics to applications.* Elsevier, Amsterdam, 1993
- [94] NEW, R.R.C. ; NEW, R.R.C. (Hrsg.): *Liposomes - a practical approach.* IRL Press, Oxford, New York, Tokyo, 1990
- [95] ZIEGLER, W. ; BLUME, A.: Acyl chain conformational ordering of individual components in liquid-crystalline bilayers of mixtures of phosphatidylcholines and phosphatidic acids. A comparative FT-IR and ^2H -NMR study. In: *Spectrochim. Acta A* 51 (1995), S. 1763–1768
- [96] LIPOWSKY, R.: Self-organization of membranes. In: *Europhys. Lett.* 3 (1999), S. 76–77
- [97] WOODLE, M.C. ; PAPAHAJDOPOULOS, D.: Liposome preparation and size characterization. In: *Methods Enzymol.* 171 (1993), S. 193–217
- [98] LICHTENBERG, D. ; MARKELLO, T.: Structural characteristics of phospholipid multilamellar vesicles. In: *J. Pharm. Sci.* 73 (1984), S. 122–125
- [99] Kap. 17 In: HAUSER, H.: *Phospholipid vesicles. In: Phospholipids handbook.* Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, 1993, S. 603–637
- [100] HOPE, M.J. ; BALLY, M.B. ; MAYER, L.D. ; JANOFF, A.S. ; CULLIS, P.R.: Generation of multilamellar and unilamellar phospholipid vesicles. In: *Chem. Phys. Lipids* 40 (1986), S. 89–107
- [101] MACDONALD, R.C. ; MACDONALD, R.I. ; MENCE, B.Ph.M. ; TAKESHITA, K. ; SUBBARAO, N.K. ; HU, L.R.: Small-volume extrusion apparatus for preparation of large, unilamellar vesicles. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1061 (1991), S. 297–303
- [102] FROMHERZ, P. ; RÜPPEL, D.: Lipid vesicle formation: the transition from open disks to closed shells. In: *FEBS Lett.* 179 (1985), S. 155–159
- [103] LEHMANN, O.: *Die neue Welt der flüssigen Kristalle und deren Bedeutung für Physik, Chemie, Technik und Biologie.* Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1911
- [104] LUZZATI, V.: *X-ray diffraction studies on lipid-water systems. In: Biological Membranes..* Bd. 1. Academic Press, London, 1968, S. 71–123
- [105] Kap. 12 In: SEDDON, J.M. ; CEVC, G.: *Lipid polymorphism: Structure and stability of lyotropic mesophases of phospholipids. In: Phospholipids Handbook.* Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, 1993, S. 403–454
- [106] LEWIS, B.A. ; DAS GUPTA, S.K. ; GRIFFIN, R.G.: Solid-state NMR studies of the molecular dynamics and phase behavior of mixed-chain phosphatidylcholines. In: *Biochemistry* 23 (1984), S. 1988–1994
- [107] LAGGNER, P. ; KRIECHBAUM, M.: Phospholipid phase transition: kinetics and structural aspects. In: *Chem. Phys. Lipids* 57 (1991), S. 121–145
- [108] Kap. 4 In: GARIDEL, P. ; BLUME, A.: *Lipid model membranes and biomembranes. In: The handbook of thermal analysis and calorimetry - from macromolecules to man.* Elsevier, Amsterdam, 1998, S. 109–173

- [109] MISHIMA, K.: Light scattering of dipalmitoyl lecithin vesicles. In: *J. Phys. Soc. Japan* 41 (1976), S. 2139–2140
- [110] BRÜCKNER, E.: *Solubilisierung lipophiler Substanzen durch Phospholipidvesikel.*, Universität Gesamthochschule Essen, Diss., 2000
- [111] Kap. Appendix B In: CEVC, G.: *Thermodynamic parameters of phospholipids.* In: *Phospholipids handbook.* Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, 1993, S. 939–962
- [112] LUZZATI, V. ; SPEGT, P.A.: Polymorphism of lipids. In: *Nature* 215 (1967), S. 701–704
- [113] SIEGEL, D.P.: Inverted micellar intermediates and the transition between lamellar, cubic, and inverted hexagonal lipid phases. I. Mechanism of the L_{α} to H_{II} phase transitions. In: *Biophys. J.* 49 (1986), S. 1155–1170
- [114] LASCH, J.: Interaction of detergents with lipid vesicles. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1241 (1995), S. 269–292
- [115] Kap. 13 In: LICHTENBERG, D.: *Liposomes as a model for solubilization and reconstitution of membranes.* In: *Handbook of nonmedical applications of liposomes.* CRS Press, Inc., 1996, S. 199–218
- [116] RACKER, E.: *Reconstitution of transporters, receptors and photological states.* Academic Press, Orlando, FL, 1985
- [117] HELENIUS, A. ; SIMONS, K.: Solubilization of membranes by detergents. In: *Biochim. Biophys. Acta* 415 (1975), S. 29–79
- [118] LICHTENBERG, D. ; ROBSON, R.J. ; DENNIS, E.A.: Solubilization of phospholipids by detergents. Structural and kinetic aspects. In: *Biochim. Biophys. Acta* 737 (1983), S. 285–304
- [119] LICHTENBERG, D.: Characterization of the solubilization of lipid bilayers by surfactants. In: *Biochim. Biophys. Acta* 821 (3) (1985), S. 470–478
- [120] SCHUBERT, R. ; BEYER, K. ; WOLBURG, H. ; SCHMIDT, K. H.: Structural changes in membranes of large unilamellar vesicles after binding of sodium cholate. In: *Biochemistry* 25 (18) (1986), S. 5263–5269
- [121] ALMOG, S. ; LITMAN, B.J. ; WIMLEY, W. ; COHEN, J. ; WACHTEL, E.J. ; BARENHOLZ, Y. ; BEN SHAUL, A. ; LICHTENBERG, D.: States of aggregation and phase transformation in mixtures of phosphatidylcholine and octyl glycoside. In: *Biochemistry* 29 (19) (1990), S. 4582–4592
- [122] Kap. 3 In: BLUME, A. ; GARIDEL, P.: *Lipid model membranes and biomembranes.* In: *Handbook of thermal analysis and calorimetry.* Bd. 4. Elsevier Press, Amsterdam, 1999, S. 109–173
- [123] Kap. 3 In: LICHTENBERG, D.: *Micelles and liposomes.* In: *Biomembranes - physical aspects.* VCH, Weinheim, 1993, S. 63–95
- [124] DE LA MAZA, A. ; PARRA, J.L.: Solubilization of unilamellar phospholipid bilayers by nonionic surfactants. In: *Colloid Polym. Sci.* 272 (1994), S. 721–730
- [125] ANDELMAN, D. ; KOZLOV, M.M. ; HELFRICH, W.: Phase transition between vesicles and micelles by competing curvatures. In: *Europhys. Lett.* 25 (3) (1994), S. 231–236

- [126] HEERKLOTZ, H. ; BINDER, H. ; LATZSCH, G. ; KLOSE, G.: Membrane/water partition of oligo(ethylene oxide) dodecyl ethers and its relevance for solubilization. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1196 (1994), S. 114–122
- [127] KELLER, M. ; KERTH, A. ; BLUME, A.: Thermodynamics of interaction of octyl glycoside with phosphatidylcholine vesicles: partitioning and solubilization as studied by high sensitivity titration calorimetry. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1326 (1997), S. 179–192
- [128] CSUCS, G. ; RAMSDEN, J.J.: Solubilization of planar bilayers with detergents. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1369 (1998), S. 304–308
- [129] Kap. 5 In: BLUME, A.: *Phospholipid-ligand interactions. In: Biocalorimetry - Applications of calorimetry in the biological science.* John Wiley & Sons, New York, 1998, S. 77–88
- [130] ROTH, Y. ; OPATOWSKI, E. ; LICHTENBERG, D. ; KOZLOV, M.M.: Phase behavior of dilute aqueous solutions of lipid-surfactant mixtures: effects of finite size of micelles. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 2052–2061
- [131] LICHTENBERG, D. ; OPATOWSKI, E. ; KOZLOV, M.: Phase boundaries in mixtures of membrane-forming amphiphiles. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 1–19
- [132] HEERKLOTZ, H. ; SEELIG, J.: Titration calorimetry of surfactant-membrane partitioning and membrane solubilization. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 69–85
- [133] VIARD, M. ; CHAMPAGNE, N. ; OLLIVON, M. ; PATERNOSTRE, M.: Solubilization of artificial and natural biological membranes. In: *S.T.P. Pharma Sciences* 11(5) (2001), S. 317–329
- [134] HEERKLOTZ, H.: The microcalorimetry of lipid membranes. In: *J. Phys.: Condens. Matter* 16 (2004), S. 441–467
- [135] ALMOG, S. ; KUSHNIR, T. ; NIR, S. ; LICHTENBERG, D.: Kinetic and structured aspects of reconstitution of phosphatidylcholine vesicles by dilution of phosphatidylcholine-sodium cholate mixed micelles. In: *Biochemistry* 25 (1986), S. 2597–2605
- [136] HILDEBRAND, A.: *Physikochemische Charakterisierung von Gallensalz-Mischmizellen als Grundlage für innovative Arzneistoffträgersysteme.*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 2002
- [137] INOUE, T. ; YAMAHATE, Y. ; SHIMOZAWA, R.: Systematic study on the solubilization of phospholipid vesicles by various surfactants. In: *J. Colloid Interface Sci.* 149 (1991), S. 345–358
- [138] FATTAL, D.R. ; ANDELMAN, D. ; BEN-SHAUL, A.: The vesicle-micelle transition in mixed lipid-surfactant systems: a molecular model. In: *Langmuir* 11 (1995), S. 1154–1161
- [139] WALTER, A. ; VINSON, P.K. ; KAPLUN, A. ; TALMON, Y.: Intermediate structures in the cholate-phosphatidylcholine vesicle-micelle transition. In: *Biophys. J.* 60 (1991), S. 1315–1325
- [140] OPATOWSKI, E. ; KOZLOV, M.M. ; LICHTENBERG, D.: Partitioning of octyl glucoside between octyl glucoside/phosphatidylcholine mixed aggregates and aqueous media as studied by isothermal titration calorimetry. In: *Biophys. J.* 73 (1997), S. 1448–1457
- [141] LE MAIRE, M. ; CHAMPEIL, P. ; MOLLER, J.V.: Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergents. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 86–111
- [142] EGELHAAF, S.U. ; SCHURTENBERGER, P.: Shape transformations in the lecithin-bile salt system: From cylinders to vesicles. In: *J. Phys. Chem.* 98 (1994), S. 8560–8573

- [143] URBANEJA, M.A. ; ALONSO, A. ; GONZALES-MAMAS, J.M. ; GONI, F.M. ; PARTEARROYO, M.A. ; TRIBOUT, M. ; PAREDES, S.: Detergent solubilization of phospholipid vesicles. In: *Biochem. J.* 270 (1990), S. 305–308
- [144] EGELHAAF, S.U. ; SCHURTENBERGER, P.: The micelle-to-vesicle transition as observed by time-resolved scattering experiments. In: *Optical methods and colloidal dispersions.* 104 (1997), S. 152–154
- [145] WALTER, A. ; KUEHL, G. ; BARNES, K. ; VAN DER WAERDT, G.: The vesicle-to-micelle transition of phosphatidylcholine vesicles by nonionic detergents: effects of sodium chloride, sucrose and urea. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 20–33
- [146] SERAS, M. ; HANDJANI-VILA, R.M. ; OLLIVON, M. ; LESIEUR, S.: Kinetic aspects of the solubilization of non-ionic monoalkyl amphiphile-cholesterol vesicles by octyl glucoside. In: *Chem. Phys. Lipids* 63 (1992), S. 1–14
- [147] EDWARDS, K. ; ALMGREN, M.: Kinetics of surfactant-induced leakage and growth of unilamellar vesicles. In: *Progr. Colloid Polym. Sci.* 82 (1990), S. 190–197
- [148] KAMENKA, N. ; EL AMRANI, M. ; APPELL, J. ; LINDHEIMER, M.: Mixed micelle-to-vesicle transition in aqueous nonionic phospholipid systems. In: *J. Colloid Interface Sci.* 143 (2) (1991), S. 463–471
- [149] HEERKLOTZ, H.: Membrane stress and permeabilization induced by asymmetric incorporation of compounds. In: *Biophys. J.* 81 (2001), S. 184–195
- [150] OTTEN, D. ; LÖBBECKE, L. ; BEYER, K.: Stages of the bilayer-micelle transition in the system phosphatidylcholine- $C_{12}E_8$ as studied by deuterium- and phosphorous-NMR, light scattering, and calorimetry. In: *Biophys. J.* 68 (1995), S. 584–597
- [151] EGELHAAF, S.U. ; SCHURTENBERGER, P.: A time resolved small angle neutron scattering study of the micelle-to-vesicle transition. In: *Physica B* 234/236 (1997), S. 276–278
- [152] EGELHAAF, S.U. ; OLSSON, U. ; SCHURTENBERGER, P.: Time-resolved SANS for surfactant phase transitions. In: *Physica B* 276/278 (2000), S. 326–329
- [153] LONG, M. ; KALER, E. W. ; LEE, S.P.: Structural characterization of the micelle-vesicle transition in lecithin-bile salt solutions. In: *Biophys. J.* 67 (1994), S. 1733–1742
- [154] BEUGIN, S. ; GRABIELLE-MANDELMONT, C. ; PATERNOSTRE, M. ; OLLIVON, M. ; LESIEUR, S.: Phosphatidylcholine vesicle solubilization by glycosidic non-ionic surfactants: a turbidity and x-ray diffraction study. In: *Progr. Colloid Polym. Sci.* 98 (1990), S. 206–211
- [155] GUSTAFSSON, J. ; ORÄDD, G. ; LINDBLOM, G. ; OLSSON, U. ; ALMGREN, M.: A defective swelling lamellar phase. In: *Langmuir* 13 (1997), S. 852–860
- [156] MÜLLER, K.: Structural dimorphism of bile salt/lecithin mixed micelles. A possible regulatory mechanism for cholesterol solubility in bile? X-ray structure analysis. In: *Biochemistry* 2 (1981), S. 404–414
- [157] LE MAIRE, M. ; MOLLER, J.V. ; CHAMPEIL, P.: Binding of nonionic detergents to membranes: flip-flop rate and location on the bilayer. In: *Biochemistry* 26 (1987), S. 4803–4810
- [158] SCHUBERT, R. ; SCHMIDT, K.H.: Structural changes in vesicle membranes and mixed micelles of various lipid compositions after binding of different bile salts. In: *Biochemistry* 27 (1988), S. 8787–8794

- [159] WALTER, A. ; LESIEUR, S. ; BLUMENTHAL, R. ; OLLIVON, M.: *Size characterization of liposomes by HPLC*. In: *Liposome technology*. CRC Press, Boca Raton, 1993, S. 271–289
- [160] NICHOLS, J.W. ; OZAROWSKI, J.: Sizing of lecithin-bile salt mixed micelles by size-exclusion high-performance liquid chromatography. In: *Biochemistry* 29 (1990), S. 4600–4606
- [161] VINSON, P.K. ; TALMON, Y. ; WALTER, A.: Vesicle-micelle transition of phosphatidylcholine and octylglycoside elucidated by cryo-transmission electron microscopy. In: *Biophys. J.* 59 (1989), S. 669–681
- [162] EDWARDS, K. ; GUSTAFSSON, J. ; ALMGREN, M. ; KARLSSON, G.: Solubilization of lecithin vesicles by a cationic surfactant: intermediate structures in the vesicle-micelle transition observed by cryo-transmission electron microscopy. In: *J. Colloid Interface Sci.* 161 (1993), S. 299–309
- [163] HASSAN, P.A. ; VALAULIKAR, B.S. ; MANOHAR, C. ; KERN, F. ; BOURDIEU, L. ; CANDAU, S.J.: Vesicle to micelle transition: rheological investigations. In: *Langmuir* 12 (1996), S. 4350–4357
- [164] MEISTER, A. ; BLUME, A.: Solubilization of DMPC-d₅₄ and DMPG-d₅₄ vesicles with octylglucoside and sodium dodecyl sulfate studied by FT-IR spectroscopy. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004), S. 1551–1556
- [165] PISTORIUS, A.M. ; STEKHOVEN, F.M. ; BOVEE-GEURTS, P.H. ; DE GRIP, W.J.: Quantitative analysis of residual detergent in proteoliposomes by fourier transform infrared spectroscopy. In: *Anal. Biochem.* 221 (1994), S. 48–52
- [166] ECHABE, I. ; REQUERO, M.A. ; GONI, F.M. ; ARRONDO, J.L. ; ALONSO, A.: An infrared investigation of palmitoyl-coenzyme A and palmitoylcarnitine interaction with perdeuterated-chain phospholipid bilayers. In: *Eur. J. Biochem.* 231 (1995), S. 199–203
- [167] DE LA MAZA, A. ; PARRA, J.L.: Vesicle to micelle phase transitions involved in the interaction of sodium cholate with phosphatidylcholine liposomes. In: *Colloids and Surfaces A* 127 (1997), S. 125–134
- [168] PATERNOSTRE, M. ; MEYER, O. ; GRABIELLE-MANDELMONT, C. ; LESIEUR, S. ; GHANAM, M. ; OLLIVON, M.: Partition coefficients of a surfactant between aggregates and solution: application to the vesicle-micelle transition of egg-phosphatidylcholine and octyl- β -d-glucopyranoside. In: *Biophys. J.* 69 (1995), S. 2476–2488
- [169] EIDELMAN, O. ; BLUMENTHAL, R. ; WALTER, A.: Composition of octyl glucoside-phosphatidylcholine mixed micelles. In: *Biochemistry* 27 (1988), S. 2836–2846
- [170] GONI, F.M. ; ALONSO, A.: Spectroscopic techniques in the study of membrane solubilization and permeabilization by detergents. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 51–68
- [171] HEERKLOTZ, H. ; LANTZSCH, G. ; BINDER, H. ; KLOSE, G.: Thermodynamic characterization of dilute aqueous lipid/detergent mixtures of POPC and C₁₂EO₈ by means of isothermal titration calorimetry. In: *J. Phys. Chem.* 100 (1996), S. 6764–6774
- [172] HEERKLOTZ, H. ; LANTZSCH, G. ; BINDER, H. ; KLOSE, G. ; BLUME, A.: Application of isothermal titration calorimetry for detecting lipid membrane solubilization. In: *Chemical Physics Letters* 235 (1995), S. 517–520
- [173] HEERKLOTZ, H. ; BINDER, H. ; LANTZSCH, G. ; KLOSE, G.: Lipid/detergent interaction thermodynamics as a function of molecular shape. In: *J. Phys. Chem. B.* 101 (1997), S. 639–645

- [174] WENK, M. ; SEELIG, J.: Vesicle-micelle transformation of phosphatidylcholine/octyl - β -d-glucopyranoside mixtures as detected by titration calorimetry. In: *J. Phys. Chem. B.* 101 (1997), S. 5224–5231
- [175] KRAGH-HANSEN, U. ; LE MAIRE, M. ; MOLLER, J.V.: The mechanism of detergent solubilization of liposomes and protein-containing membranes. In: *Biophys. J.* 75 (1998), S. 2932–2946
- [176] NYHOLM, T. ; SLOTTE, J.P.: Comparison of triton x-100 penetration into phosphatidylcholine and sphingomyelin mono- and bilayers. In: *Langmuir* 17 (2001), S. 4724–4730
- [177] DE LA MAZA, A. ; PARRA, J.L.: Solubilizing effects caused by the nonionic surfactant dodecylmaltoside in phosphatidylcholine liposomes. In: *Biophys. J.* 72 (1997), S. 1668–1675
- [178] EDWARDS, K. ; ALMGREN, M.: Solubilization of lecithin vesicles by C₁₂E₈-structural transitions and temperature effects. In: *J. Colloid Interface Sci.* 147 (1991), S. 1–21
- [179] PATERNOSTRE, M.T. ; ROUX, M. ; RIGAUD, J.L.: Mechanisms of membrane protein insertion into liposomes during reconstitution procedures involves the use of detergents. In: *Biochemistry* 27 (1988), S. 2668–2677
- [180] BARRIOCANAL, L. ; TAYLOR, K.M.G. ; BUCKTON, G.: Bilayer to micelle transition of DMPC and alcohol ethoxylate surfactants as studied by isoperibol calorimetry. In: *J. Pharm. Sci.* 94 (8) (2005), S. 1747–1755
- [181] DAHIM, M.: *Etude physicochimique de la transition micelle-vesicule des phospholipides*, Universite Paris-Sud, Diss., 1995
- [182] ALMOG, S. ; LICHTENBERG, D.: Effect of calcium on kinetic and structural aspects of dilution-induced micellar to lamellar phase transformation in phosphatidylcholine-cholate mixtures. In: *Biochemistry* 27 (1988), S. 873–880
- [183] SCHURTENBERGER, P. ; MAZER, N. ; KÄNZIG, W.: Micelle to vesicle transition in aqueous solutions of bile salt and lecithin. In: *J. Phys. Chem.* 89 (1985), S. 1042–1049
- [184] HILDEBRAND, A. ; NEUBERT, R. ; GARIDEL, P. ; BLUME, A.: Bile salt induced solubilization of synthetic phosphatidylcholine vesicles studied by isothermal titration calorimetry. In: *Langmuir* 18 (2002), S. 2836–2847
- [185] BINFORD, J.S. ; PALM, W.H.: Absorption of surfactants by membranes: erythrocytes versus synthetic vesicles. In: *Biophys. J.* 66 (1994), S. 2024–2028
- [186] MAJHI, P.R. ; BLUME, A.: Temperature-induced micelle-vesicle transitions in DMPC-SDS and DMPC-DTAB mixtures studied by calorimetry and dynamic light scattering. In: *J. Phys. Chem. B* 106 (2002), S. 10753–10763
- [187] LOPEZ, O. ; COCERA, M. ; DE LA MAZA, A. ; CODERCH, L. ; PARRA, J.L.: Different stratum corneum lipid liposomes as models to evaluate the effect of the sodium dodecyl sulfate. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 196–209
- [188] PANTALER, E. ; KAMP, D. ; HEAST, C.W.: Acceleration of phospholipid flip-flop in the erythrocyte membrane by detergents differing in polar head group and alkyl chain length. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1509 (2000), S. 397–408
- [189] HILDEBRAND, A. ; BEYER, K. ; NEUBERT, R. ; GARIDEL, P. ; BLUME, A.: Temperature dependence of the interaction of cholate and deoxycholate with fluid model membranes and their solubilization into mixed micelles. In: *Colloids and Surfaces B* 32 (2003), S. 335–351

- [190] HILDEBRAND, A. ; BEYER, K. ; NEUBERT, R. ; GARIDEL, P. ; BLUME, A.: Solubilization of negatively charged DPPC/DPPG liposomes by bile salts. In: *J. Colloid Interface Sci.* 279 (2004), S. 559–571
- [191] RYDHAG, L. ; GABRAN, T.: Phase equilibria in the system dimyristoylphosphatidylcholine/N-hexadecyl-N,N,N-trimethylammoniumbromide/water at 30°C. Swelling behavior of the lamellar phase with different electrolyte solutions. In: *Chem. Phys. Lipids* 30 (1982), S. 309–324
- [192] KELLER, S. ; TSAMALOUKAS, A. ; HEERKLOTZ, H.: A quantitative model describing the selective solubilization of membrane domains. In: *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005), S. 11469–11476
- [193] HEERKLOTZ, H.: Triton promotes domain formation in lipid raft mixtures. In: *Biophys. J.* 83 (2002), S. 2693–2701
- [194] HEERKLOTZ, H. ; SZADKOVSKA, H. ; ANDERSON, T. ; SEELIG, J.: The sensitivity of lipid domains to small perturbation demonstrated by the effect of Triton. In: *J. Mol. Biol.* 329 (2003), S. 793–799
- [195] ALMGREN, M.: Mixed micelles and other structures in the solubilization of bilayer lipid membranes by surfactants. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1508 (2000), S. 146–163
- [196] GUSTAFSSON, J. ; ORÄDD, G. ; ALMGREN, M.: Disintegration of the lecithin lamellar phase by cationic surfactants. In: *Langmuir* 13 (1997), S. 6956–6963
- [197] HELFRICH, W.: Steric interaction of fluid membranes in multilayer systems. In: *Z. Naturforsch.* 33a (1978), S. 305–315
- [198] Kap. 14 In: TATULIAN, S.A.: *Ionization and ion binding. In: The phospholipids handbook.* Marcel Dekker, Inc., 1993, S. 511–552
- [199] GARIDEL, P.: *The negatively charged phospholipids phosphatidic acid and phosphatidylglycerol A. The interaction with alkaline earth cations B. The mixing behavior with zwitterionic phospholipids.*, Universität Kaiserslautern, Diss., 1997
- [200] OVERBEEK, J.T.G.: Electrochemistry of the double layer. In: *Colloid Science* 1 (1952), S. 115–192
- [201] TRÄUBLE, H. ; TEUBNER, M. ; WOOLLEY, P. ; EIBL, H.: Electrostatic interactions at charged lipid membranes. 1. Effects of pH and univalent cations on membrane structure. In: *Biophys. Chem.* 4 (1976), S. 319–342
- [202] MCLAUGHLIN, S.: The electrostatic properties of membranes. In: *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 18 (1989), S. 113–136
- [203] ENOS, B.E. ; MCQUARRIE, D.A.: The effect of discrete charges on the electrical properties of membranes. In: *J. Theor. Biol.* 93 (1981), S. 499–522
- [204] WARSHEL, A. ; RUSSELL, S.T.: Calculations of electrostatic interactions in biological systems and in solutions. In: *Quart. Rev. Biophys.* 17 (1984), S. 283–422
- [205] TOCANNE, J.F. ; TEISSIÉ, J.: Ionization of phospholipids and phospholipid-supported interfacial lateral diffusion of protons in membrane model systems. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1031 (1990), S. 111–142
- [206] GUR, Y. ; RAVINA, I. ; BABCHIN, A.J.: On the electrical double layer theory. I. A numerical method for solving a generalized Poisson-Boltzmann Equation. In: *J. Colloid Interface Sci.* 64 (1978), S. 326–341

- [207] COHEN, J. A. ; COHEN, M.: Adsorption of monovalent and divalent cations by phospholipid membranes. In: *Biophys. J.* 36 (1981), S. 623–651
- [208] LAKHDAR-GHAZAL, F. ; TICHADOU, J.L. ; TOCANNE, J.F.: Effect of pH and monovalent cation on the ionization state of phosphatidylglycerol in monolayers. An experimental (surface potential) and theoretical (Gouy-Chapman) approach. In: *Eur. J. Biochem.* 134 (1983), S. 531–537
- [209] EISENBERG, M. ; GRESALFI, T. ; RICCIO, T. ; MCLAUGHLIN, S.: Adsorption of monovalent cations to bilayer membranes containing negative phospholipids. In: *Biochemistry* 18 (1979), S. 5213–5223
- [210] GRAHAME, D.C.: The electrical double layer and the theory of electrocapillarity. In: *Chem. Rev.* 41 (1947), S. 441–501
- [211] MCLAUGHLIN, S.: Electrostatic potentials at membrane-solution interfaces. In: *Curr. Top. Membr. Trans.* 9 (1977), S. 71–144
- [212] CEVC, G.: Membrane electrostatics. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1031 (1990), S. 311–382
- [213] IRISH, D.E.: *Vibrational spectral studies of electrolyte solutions and fused salts.* In: *Ionic Interactions.* Bd. 2. Academic Press, New York, 1971, S. 187–258
- [214] COLLINS, K.D. ; WASHABAUGH, M.W.: The Hoffmeister effects and the behavior of water at interfaces. In: *Quart. Rev. Biophys.* 18 (1985), S. 323–422
- [215] AKUTSO, H. ; SEELIG, J.: Interactions of metal ions with phosphatidylcholine bilayer membranes. In: *Biochemistry* 20 (1981), S. 7366–7373
- [216] TATULIAN, S.A.: Binding of alkaline-earth metal cations and some anions to phosphatidylcholine liposomes. In: *Eur. J. Biochem.* 170 (1987), S. 413–420
- [217] HALLADAY, H.N. ; PETERSHEIM, M.: Optical properties of Tb^{3+} -phospholipid complexes and their relation to structure. In: *Biochemistry* 27 (1988), S. 2120–2126
- [218] HEERKLOTZ, H. ; BINDER, H. ; EPAND, R.M.: A "release" protocol for isothermal titration calorimetry. In: *Biophys. J.* 76 (1999), S. 2606–2613
- [219] WISEMAN, T. ; WILLISTON, S. ; BRANDTS, J.F. ; LIN, L.N.: Rapid measurement of binding constants and heats of binding using a new titration calorimeter. In: *Anal. Biochem.* 179 (1989), S. 131–137
- [220] HOLDGATE, G.A.: Making cool drugs hot: The use of isothermal titration calorimetry as a tool to study binding energetics. In: *BioTechniques* 31 (2001), S. 164–184
- [221] Kap. 2 In: TAME, J.R.H. ; O'BRIEN, R. ; LADBURY, J.E.: *Isothermal titration calorimetry of biomolecules.* In: *Biocalorimetry - applications of calorimetry in the biological science.* Wiley, New York, 1998, S. 27–38
- [222] PAULA, S. ; SÜSS, W. ; TUCHTENHAGEN, J. ; BLUME, A.: Thermodynamics of micelle formation as a function of temperature. A high sensitivity titration calorimetry study. In: *J. Phys. Chem.* 99 (1995), S. 11742–11751
- [223] GILL, S.J. ; WADSÖ, I.: An equation of state describing hydrophobic interactions. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 73 (1976), S. 2955–2958
- [224] ATKINS, P.W. ; ATKINS, P.W. (Hrsg.): *Physikalische Chemie.* VCH, Weinheim, 1990

- [225] MÖBIUS, H.H. ; DÜRSELEN, W.: *Chemische Thermodynamik*. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1973
- [226] COOPER, A.: Thermodynamic analysis of biomolecular interactions. In: *Curr. Opinion: Chem. Biol.* 3 (1999), S. 557–563
- [227] BLANDAMER, M.J. ; CULLIS, P.M. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Differential scanning and titration calorimetric studies of macromolecules in aqueous solution. In: *J. Therm. Anal.* 45 (1995), S. 599–613
- [228] Kap. 1 In: BLANDAMER, M.J.: *Thermodynamic background to isothermal titration calorimetry*. In: *Bio calorimetry - Applications of calorimetry in the biological science*. Wiley-NewYork, 1998, S. 5–25
- [229] HEERKLOTZ, H. ; BINDER, H.: Isothermal titration calorimetry on aqueous lipid/detergent dispersions-An experimental approach to the thermodynamics of multiphase systems. In: *Recent Res. Devel. in Physical Chem.* 1 (1997), S. 221–240
- [230] WIMLEY, W.C. ; WHITE, S.H.: Membrane partitioning: Distinguishing bilayer effects from the hydrophobic effect. In: *Biochemistry* 32 (1993), S. 6307–6312
- [231] BLUME, A. ; TUCHTENHAGEN, J. ; PAULA, S.: Application of titration calorimetry to study binding of ions, detergents, and polypeptides to lipid bilayers. In: *Progr. Colloid Polym. Sci.* 93 (1993), S. 118–122
- [232] Kap. 17 In: INDYK, L. ; FISHER, H.F.: *Theoretical aspects of isothermal titration calorimetry*. In: *Energetics of biological macromolecules*. Academic Press, 1998, S. 350–366
- [233] WINTER, R. ; NOLL, F. ; ELSCHENBROICH, C. (Hrsg.) ; HENSEL, F. (Hrsg.) ; HOPF, H. (Hrsg.): *Methoden der Biophysikalischen Chemie*. Teubner Studienbücher Chemie, 1998
- [234] BLANDAMER, M.J. ; CULLIS, P.M. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Calorimetric studies of macromolecular aqueous solutions. In: *Pure Appl. Chem.* 68 (1996), S. 1577–1582
- [235] ALV-Laser Vertriebsgesellschaft m.b.H.: *ALV-NIBS/HPPC High Performance Particle Sizer-Benutzerhandbuch*
- [236] Infrared Spectroscopy: Theorie. In: *Online edition for students at organic chemistry lab courses at the University of Colorado, Boulder, Dept. of Chem. and Biochem.* (2002), S. 155–164
- [237] TAMM, L. ; TATULIAN, S.: Infrared spectroscopy of proteins and peptides in lipid bilayers. In: *Quart. Rev. Biophys.* 30 (1997), S. 365–429
- [238] MENDELSON, R. ; MANTSCH, H.H.: *Fourier transform infrared studies of lipid-protein interaction*. In: *Progress in protein-lipid interactions*.. Bd. 2. Elsevier Science, Amsterdam, New York, Oxford, 1986, S. 103–146
- [239] LEWIS, R.N.A.H. ; MCELHANEY, R.N.: *Fourier transform infrared spectroscopy in the study of hydrated lipids and lipid bilayer membranes*. In: *Infrared spectroscopy of biomolecules*. Wiley-Liss, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 1996, S. 159–202
- [240] VENYAMINOV, S.Y. ; PRENDERGAST, F.G.: Water (H₂O and D₂O) molar absorptivity in the 1000–4000 cm⁻¹ range and quantitative infrared spectroscopy of aqueous solutions. In: *Anal. Biochem.* 248 (1997), S. 234–245

- [241] MEISTER, A. ; KERTH, A. ; BLUME, A.: Interaction of sodium dodecyl sulfate with dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine monolayers studied by infrared reflection absorption spectroscopy. A New method for the determination of surface partition coefficients. In: *J. Phys. Chem. B* 108 (2004), S. 8371–8378
- [242] LI, H. ; TRIPP, C.P.: Use of the infrared bands of the surfactant headgroups to identify mixed surfactant structures adsorbed on titania. In: *J. Phys. Chem. B* 108 (2004), S. 18318–18326
- [243] SCHEURING, D.R. ; WEERS, J.G.: A Fourier transform infrared spectroscopic study of dodecyltrimethylammonium chloride/sodium dodecyl sulfate surfactant mixtures. In: *Langmuir* 6 (1990), S. 665–
- [244] TEDESCHI, A.M. ; FRANCO, L. ; PADUANO, L. ; CORVAJA, C. ; D'ERRICO, G.: Micellar aggregation of alkyltrimethylammonium bromide surfactants studied by electron paramagnetic resonance of an anionic nitroxide. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5 (2003), S. 4204–4209
- [245] BAYRAK, Y.: Micelle formation in sodium dodecyl sulfate and dodecyltrimethylammonium bromide at different temperatures. In: *Turk. J. Chem.* 27 (2003), S. 487–492
- [246] STODGHILL, S.P. ; SMITH, A.E. ; O'HAVER, J.H.: Thermodynamics of micellization and adsorption of three alkyltrimethylammonium bromides using isothermal titration calorimetry. In: *Langmuir* 20 (2004), S. 11387–11392
- [247] BACH, J. ; BLANDAMER, M.J. ; BIJIMA, K. ; ENGBERTS, J.B.F.N. ; KOOREMAN, P.A. ; KACPERSKA, A. ; CHOWDOJI RAO, K. ; SUBHA, M.C.S.: Titration calorimetric and spectrophotometric studies of micelle formation by alkyltrimethylammonium bromide in aqueous solution. In: *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 91 (8) (1995), S. 1229–1235
- [248] LIN, B. ; MOHANTY, S. ; MCCORMICK, A.V. ; DAVIES, H.T.: Study of the effect of added salts on micellization of cetyltrimethylammonium bromide surfactant. In: *ACS Symposium Series* 861 (2003), S. 313–326
- [249] KRESHECK, G.C. ; HARGRAVES, W.A.: Thermometric titration studies of the effect of head group, chain length, solvent, and temperature on the thermodynamic of micelle formation. In: *J. Colloid Interface Sci.* 48 (1974), S. 481–492
- [250] NAHAYAMA, H. ; SHINODA, K.: In: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 40 (1976), S. 1797–1801
- [251] GARIDEL, P. ; HILDEBRAND, A. ; BLUME, A.: Understanding the self-organistaion of association colloids. In: *Application note, MicroCalTM* (2006)
- [252] BIJMA, K. ; ENGBERTS, J.B.F.N. ; BLANDAMER, M.J. ; CULLIS, P.M. ; LAST, P.M. ; IRLAM, K.D. ; SOLDI, L.G.: Classification of calorimetric titration plots for alkyltrimethylammonium and alkyipyridinium cationic surfactants in aqueous solutions. In: *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 93 (1997), S. 1579–1584
- [253] MAJHI, P.R. ; BLUME, A.: Thermodynamic characterization of temperature-induced micellization and demicellization of detergents studied by differential scanning calorimetry. In: *Langmuir* 17 (2001), S. 3844–3851
- [254] PAREDES, S. ; TRIBOUT, M.: Enthalpies of micellization of quarternary tetradecyl- and cetyltrimethylammonium. In: *J. Phys. Chem.* 88 (1984), S. 1871–1875
- [255] HANSSON, P. ; JÖNSSON, B. ; STRÖM, C. ; SÖDERMANN, O.: Determination of micellar aggregation numbers in dilute surfactant systems with the fluorescence quenching method. In: *J. Phys. Chem. B* 104 (2000), S. 3496–3506

- [256] LAH, J. ; POHAR, C. ; VESNAVER, G.: Calorimetric study of the micellization of alkylpyridinium and alkyltrimethylammonium bromides in water. In: *J. Phys. Chem. B* 104 (2000), S. 2522–2526
- [257] HILDEBRAND, A. ; GARIDEL, P. ; NEUBERT, R. ; BLUME, A.: Thermodynamics of demicellization of mixed micelles composed of sodium oleate and bile salts. In: *Langmuir* 20 (2004), S. 320–328
- [258] GARIDEL, P. ; HILDEBRAND, A. ; NEUBERT, R. ; BLUME, A.: Thermodynamic characterization of bile salt aggregation as a function of temperature and ionic strength using isothermal titration calorimetry. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 5267–5275
- [259] ANACKER, E.W. ; GHOSE, H.M.: Counterions and micelle size. II Light scattering by solutions of cetylpyridinium salts. In: *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968), S. 3161–3166
- [260] KRESHEK, G.C.: Comparison of the calorimetric and van't Hoff enthalpy of micelle formation for a nonionic surfactant in H₂O and D₂O solutions from 15 to 40°C. In: *J. Phys. Chem. B* 102 (1998), S. 6596–6600
- [261] NUSSELDER, J.J.A. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Towards a better understanding of the driving force for micelle formation and micellar growth. In: *J. Colloid Interface Sci.* 148 (1991), S. 353–361
- [262] HAIT, S.K. ; MAJHI, P.R. ; BLUME, A. ; MOULIK, S.P.: A critical assessment of micellization of sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS) and its interaction with poly(vinyl pyrrolidone) and hydrophobically modified polymers, jr 400 and lm 200. In: *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), S. 3650–3658
- [263] EVANS, D.F. ; ALLEN, M. ; NINHAM, B.W. ; FOU DA, A.: Critical micelle concentrations for alkyltrimethylammonium bromides in water from 25 to 160°C. In: *J. Solution Chem.* 13 (1984), S. 87–101
- [264] CISTOLA, D.P. ; HAMILTON, J.A. ; JACKSON, D. ; SMALL, D.M.: Ionization and phase behavior of fatty acids in water: application of the Gibbs phase rule. In: *Biochemistry* 27 (1988), S. 1881–1888
- [265] BLANDAMER, M.J. ; CULLIS, P.M. ; SOLDI, L.G. ; ENGBERTS, J.B.F.N. ; KACPERSKA, A. ; VAN OS, N.M. ; SUBHA, M.C.S.: Thermodynamics of micellar systems: comparison of mass action and phase equilibrium models for the calculation of standard Gibbs energies of micelle formation. In: *Adv. Colloid Interface Sci.* 58 (1995), S. 171–209
- [266] FISICARO, E. ; COMPARI, C. ; BRAIBANTI, A.: Entropy/enthalpie compensation: hydrophobic effect, micelles and protein complexes. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004), S. 4156–4166
- [267] JOLICEUR, C. ; PHILIP, R.R.: Enthalpie-entropy compensation for micellization and other hydrophobic interactions in aqueous solutions. In: *Can. J. Chem.* 52 (1974), S. 1834–1839
- [268] Kap. 4 In: DESNOYERS, J.E. ; PERRON, G.: *Thermodynamic properties of surfactant solutions*. In: *Handbook of surface and colloid chemistry*. CRS Press, New York, 1994, S. 119–156
- [269] SCHULZ, P.C.: Hydroxide surfactants. In: *J. Surface Sci. Technol.* 1 (2003), S. 1–20
- [270] DORRANCE, R.C. ; HUNTER, T.F.: Absorption and emission studies of solubilization in micelles. Determination of aggregation numbers and solubilize diffusion in cationic micelles. In: *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* 70 (1974), S. 1572–1580

- [271] Kap. 2 In: VAN OS, N.M. ; HAAK, J.R. ; RUPERT, L.A.M.: *Cationic surfactants - alkyl-trimethylammonium salts*. In: *Physico-chemical properties of selected anionic, cationic and nonionic surfactants*. Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo, 1993, S. 111–135
- [272] MARKUS, Y.: A simple empirical model describing the thermodynamics of hydration of ions of widely varying charges, sizes and shapes. In: *Biophys. Chem.* 51 (1994), S. 111–127
- [273] BIJMA, K. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Thermodynamics of micelle formation by 1-methyl-4-alkylpyridinium halides. In: *Langmuir* 10 (1994), S. 2578–2582
- [274] CHATTERJEE, A. ; MOULIK, S.P. ; SANYAL, S.K. ; MISHRA, B.K. ; PURI, P.M.: Thermodynamics of micelle formation of ionic surfactants: A critical assessment for sodium dodecyl sulfate, cetyl pyridinium chloride and dioctyl sulfosuccinate by microcalorimetry, conductometric, and tensiometric measurements. In: *J. Phys. Chem. B* 105 (2001), S. 12823–12831
- [275] KELLER, S. ; HEERKLOTZ, H. ; BLUME, A.: Monitoring lipid membrane translocation of sodium dodecyl sulfate by isothermal titration calorimetry. In: *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006), S. 1279–1286
- [276] HEERKLOTZ, H.: The microcalorimetry of lipid membranes. In: *J. Phys.: Condens. Matter* 16 (2004), S. R441–R467
- [277] BESCHIASHVILI, G. ; SEELIG, J.: Melletin binding to mixed phosphatidylglycerol/phosphatidylcholine membranes. In: *Biochemistry* 29 (1990), S. 52–58
- [278] LIDE, D.R. (Hrsg.): *CRC Handbook of chemistry and physics*. 86. CRC Press-Boca Raton, 2005
- [279] KISELEV, M.A. ; ZEMLYANAYA, E.V. ; ASWAL, V.K. ; NEUBERT, R.H.H.: What can we learn about the lipid vesicle structure from the small-angle neutron scattering experiment? (Investigation DMPC vesicle structure by small angle neutron scattering). In: *Physics* (2005), S. 1–19
- [280] KISELEV, M.A. ; ZEMLYANAYA, E. ; ASWAL, V.K.: SANS study of unilamellar DMPC-vesicles: fluctuation model of a lipid bilayer. In: *Crystallography Reports* 49 (2004), S. 136–141
- [281] KELLER, M.: *Thermodynamik der Demizellisierung und Solubilisierung von Alkylglucosiden mit ausgewählten Phospholipiden sowie das rheologische Verhalten am Beispiel Octylglucosid/Dimyristoylphosphatidylglycerol.*, Universität Kaiserslautern, Diss., 2001
- [282] JUNQUERA, E. ; DEL BURGO, P. ; ARRANZ, A. ; LLORCA, O. ; AICART, E.: Aggregation phenomena on the ternary ionic-nonionic surfactant system: DDAB/OG-water. Mixed microaggregates, vesicles and micelles. In: *Langmuir* 21 (2005), S. 1795–1801
- [283] VISEU, M.I. ; VELAZQUEZ, M.M. ; CAMPOS, C.S. ; GARCIA-MATEOS, I. ; COSTA, S.M.B.: Structural transition in an bicationic amphiphile system studied by light scattering, conductivity, and surface tension measurements. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 4882–4889
- [284] CARIA, A. ; REGEV, O. ; KHAN, A.: Surfactant polymer interactions: phase diagram and fusion of vesicle in the didodecyldimethylammonium bromide-poly(ethylen oxide)-water system. In: *J. Colloid Interface Sci.* 200 (1998), S. 19–30
- [285] TREINER, C. ; MAKAYSSI, A.: Structural micellar transition of dilute solutions of long chain binary cationic surfactant systems: a conductance investigation. In: *Langmuir* 8 (1992), S. 794–800

- [286] KUNITAKE, T. ; OKAHATA, Y.: A totally synthetic bilayer membrane. In: *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977), S. 3860–3861
- [287] INOUE, T. ; FUKUSHIMA, K. ; SHIMOZAWA, R.: Surfactant partition between bulk water and DPPC vesicle membrane: solid-gel vs. liquid-crystalline membrane. In: *Chem. Phys. Lipids* 52 (1990), S. 157–161
- [288] KELLER, S. ; HEERKLOTZ, H. ; JAHNKE, N. ; BLUME, A.: Thermodynamics of lipid membrane solubilization by sodium dodecyl sulfate. In: *Biophys. J.* in press (2006)
- [289] VAUTIER-GIONGO, C. ; BAKSHI, M.S. ; SINGJ, J. ; RANGANATHAN, R. ; HAJDU, J. ; BALES, B.L.: Effects of interactions on the formation of mixed micelles of 1,2-diheptanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine with sodium dodecyl sulfate and dodecyltrimethylammonium bromide. In: *J. Colloid Interface Sci.* 282 (2005), S. 149–155
- [290] EKWALL, P. ; MANDELL, L. ; FONTELL, K.: The cetyltrimethylammonium bromide-hexanol-water system. In: *J. Colloid Interface Sci.* 29 (1969), S. 639–649
- [291] BINDER, H. ; KOHLSTRUNK, B. ; HEERKLOTZ, H.: Hydration and lyotropic melting of amphiphilic molecules: A thermodynamic study using humidity titration calorimetry. In: *J. Colloid Interface Sci.* 220 (1999), S. 235–249
- [292] RYDHAG, L. ; STENIUS, S. ; ÖDBERG, L.: Phase equilibria and vesicle stability in dimyristoyl phosphatidylcholine-cetyltrimethylammonium bromide systems. In: *J. Colloid Interface Sci.* 86 (1982), S. 274–276
- [293] MARCOTTE, L. ; BARBEAU, J. ; LAFLEUR, M.: Permeability and thermodynamics study of quaternary ammonium surfactants-phosphocholine vesicle system. In: *J. Colloid Interface Sci.* 292 (2005), S. 219–227
- [294] BLANDAMER, M.J. ; BRIGGS, B. ; CULLIS, P.M. ; ENGBERTS, J.B.F.N. ; KACPERSKA, A.: Vesicle-surfactant interactions: Effects of added surfactants on the gel to liquid-crystal transition for two vesicular systems. In: *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 91 (1995), S. 4275–4278
- [295] ELIASZ, A.W. ; CHAPMAN, D. ; EWING, D.F.: Phospholipid phase transitions. Effects of n-alcohols, n-monocarboxylic acids, phenylalkyl alcohols and quaternary ammonium compounds. In: *Biochim. Biophys. Acta* (1976), S. 220–233
- [296] HATA, T. ; MATSUKI, H. ; KANESHINA, S.: Effect of local anesthetics on the bilayer membrane of dipalmitoylphosphatidylcholine: interdigitation of lipid bilayer and vesicle-micelle transition. In: *Biophys. J.* 87 (2000), S. 25–36
- [297] JAKOB, J. ; MARZLAK, I. ; EPSZTEIN, R. ; OLOMUCKI, M. ; GUERMONT, J.P.: In: *Compt. Rend.* 237 (1953), S. 1289–1295
- [298] CRAIG, L.E.: Curariform activity and chemical structure. In: *Chem. Rev.* 48 (1948), S. 285–410
- [299] YUE, B.Y. ; JACKSON, C.M. ; TAYLOR, J.A.G. ; MINGINS, J. ; PETHICA, B.A.: Phospholipid monolayers at non polar oil/water interfaces. In: *J. Chem. Soc.* 78 (1982), S. 323–339
- [300] ISRAELACHVILI, J.: Self assembly in two dimensions: surface micelles and domain formation in monolayers. In: *Langmuir* 10 (1994), S. 3774–3781
- [301] ANIANSSON, E.A.G. ; WALL, S.N.: Kinetics of step-wise micelle association. In: *J. Phys. Chem.* 78 (1974), S. 1024–1030

- [302] ANIANSSON, E.A.G. ; WALL, S.N.: Kinetics of step-wise micelle association and dissociation. Correction and improvement. In: *J.Phys. Chem.* 79 (1975), S. 857–858
- [303] VALKOVSKA, D.S. ; SHEARMAN, G.C. ; BAIN, C.D. ; DARTON, R.C. ; EASTOE, J.: Adsorption of ionic surfactants at an expanding air-water interface. In: *Langmuir* 20 (2004), S. 4436–4445
- [304] MEISTER, A. ; KERTH, A. ; BLUME, A.: Adsorption kinetics of n-nonyl- β -D-glucopyranoside at the air/water interface studied by infrared reflection absorption spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. B* 109 (2005), S. 6239–6246
- [305] MEISTER, A. ; KERTH, A. ; BLUME, A.: The interaction of n-nonyl- β -D-glucopyranoside and sodium dodecyl sulfate with DMPC and DMPG monolayers studied by infrared reflection absorption spectroscopy. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004), S. 5543–5550
- [306] LYTTLE, D.J. ; LU, J.R. ; SU, T.J. ; THOMAS, R.K.: Structure of an dodecyltrimethylammonium bromide layer at the air/water interface determined by neutron reflection: comparison of the monolayer structure of cationic surfactants with different chain lengths. In: *Langmuir* 11 (1995), S. 1001–1008
- [307] LU, J.R. ; HROMADOVA, M. ; THOMAS, R.K. ; PENFORD, J.: Neutron reflection from triethylene glycol monodidecyl ether adsorbed at the air-liquid interface: the variation of the hydrocarbon chain distribution with surface concentration. In: *Langmuir* 9 (1993), S. 2417–2425
- [308] TANFORD, C.J.: In: *J. Phys. Chem.* 78 (1974), S. 2649–
- [309] PROSSER, A. ; FRANCES, E.I.: Infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS) of aqueous nonsurfactant salts, ionic surfactants, and mixed ionic surfactants. In: *Langmuir* 18 (2002), S. 9234–9242
- [310] SNYDER, R.G. ; ALJIBURY, A.L. ; STRAUSS, H.L. ; CASAL, H.M. ; GAUGH, K.M.: Isolated carbon-hydrogen stretching vibrations of n-alkanes: Assignments and relation to structure. In: *Chem. Phys.* 81 (1984), S. 5352–5361
- [311] BERGERON, V.: Disjoining pressures and film stability of alkyltrimethylammonium bromide foam films. In: *Langmuir* 13 (1997), S. 3474–3482
- [312] STUBENRAUCH, C. ; FAINERMAN, V.B. ; AKSENEKO, E.V. ; MILLER, r.: Adsorption behavior and dilational rheology of the cationic alkyltrimethylammonium bromides at the air/water-interface. In: *J. Phys. Chem. B* 109 (2005), S. 1505–1509
- [313] KRALCHEVSKY, P.A. ; DANOV, K.D. ; BROZE, G. ; MEHRETEAB, A.: Thermodynamics of ionic surfactant adsorption with account for the counterion binding: effect of salts of various valency. In: *Langmuir* 15 (1999), S. 2351–2365
- [314] MEDRZYCKA, K. ; ZWIERZYKOWSKI, W.: Adsorption of alkyltrimethylammonium bromides at the various interfaces. In: *J. Colloid Interface Sci.* 72 (2000), S. 67–72
- [315] LU, J.R. ; HROMADOVA, M. ; SIMISTER, E.A. ; THOMAS, R.K.: Neutron reflection from hexadecyltrimethylammonium bromide adsorbed at the air/liquid interface: the variation of the hydrocarbon chain distribution with surface concentration. In: *J. Phys. Chem.* 98 (1994), S. 11519–11526
- [316] BELL, G.R. ; BAIN, C.D. ; WARD, R.N.: Sum frequency vibrational spectroscopy of soluble surfactants at the air/water interface. In: *J. Chem. Phys. Faraday Trans.* 92 (1996), S. 515–523

- [317] RENAULT, A. ; LEGRAND, J.F. ; GOLDMANN, M. ; BERGE, B.: Surface diffraction studies of 2D crystals of short fatty alcohols at the air-water interface. In: *J. Phys. II France* 3 (1993), S. 761–766
- [318] GARIDEL, P. ; BLUME, A.: 1,2-Dimyristoyl-*sn*-2-phosphatidylglycerol (DMPG)-monolayers: influence of temperature, pH, ionic strength and binding of earth alkaline cations. In: *Chem. Phys. Lipids* 138 (2005), S. 50–59
- [319] HAC-WYDRO, K. ; WYDRO, P. ; DYNAROWICZ-LATKA, P.: A study of the interactions between dialkyldimethylammonium bromides and tri-*n*-octyl phosphine oxide (topo) in mixed monolayers at the air/water interface. In: *J. Colloid Interface Sci.* 278 (2004), S. 206–214
- [320] VISEU, M.I. ; GONCALVES DA SILVA, A.M. ; COSTA, S.M.B.: Reorganization and desorption of cationic monolayers. Kinetic of π -*t* and *A*-*t* relaxation. In: *Langmuir* 17 (2001), S. 1529–1537
- [321] MARSH, D.: Lateral pressure in membranes. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1286 (1996), S. 183–223
- [322] BLUME, A.: A comparative study of the phase transitions of phospholipid bilayers and monolayers. In: *Biochim. Biophys. Acta* 557 (1979), S. 32–44
- [323] URAGAMI, M. ; MIYAKE, Y. ; TOKUTAKE, N. ; ZHANG, L.U. ; REGEN, S.L.: Design and synthesis of phosphatidylcholine mimics and their mixing behavior with phosphatidylglycerol mimics in the fluid bilayer state. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 8010–8015
- [324] KUBO, I. ; ADACHI, S. ; MAEDA, H. ; SEKI, A.: Phosphatidylcholine monolayers observed with brewster angle microscopy and π /*A*-isotherms. In: *Thin Solid Films* 393 (2001), S. 80–85
- [325] MCCONLOUE, C.W. ; MALAMUD, D. ; VANDERLICK, T.K.: Interaction of DPPC monolayers with soluble surfactants: electrostatic effects of membrane perturbants. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1372 (1998), S. 124–134
- [326] LIN, S.Y. ; MCKEIGUE, K. ; MALDARELLI, C.: Effect of cohesive energies between adsorbed molecules on surfactant exchange processes: shifting from diffusion control for adsorption to kinetic-diffusive control for re-equilibration. In: *Langmuir* 10 (1994), S. 3442–3448
- [327] BAKSHI, M.S. ; SINGH, J. ; KAUR, G.: Mixed micelles of monomeric and dimeric cationic surfactants with phospholipids: effect of hydrophobic interactions. In: *Chem. Phys. Lipids* 138 (2005), S. 81–92
- [328] DOYLE, M.L.: Characterization of binding interactions by isothermal titration calorimetry. In: *Curr. Opinion in Biotechnology* 8 (1997), S. 31–35
- [329] MURPHY, K.P. ; FREIRE, E. ; PATERSON, Y.: Configurational effects in antibody-antigen interactions studied by microcalorimetry. In: *Proteins* 21 (1995), S. 83–90
- [330] WADSÖ, I.: Isothermal microcalorimetry for the characterization of interactions between drugs and biological materials. In: *Thermochimica Acta* 267 (1995), S. 45–59
- [331] TERZI, E. ; HOLZEMANN, G. ; SEELIG, J.: Self-association of beta-amyloid peptide (1-40) in solution and binding to lipid membranes. In: *J. Mol. Biol.* 252 (1995), S. 633–642
- [332] BRANDTS, J.F. ; LIN, L.N. ; WISEMAN, T. ; WILLISTON, S. ; YANG, C.P.: An instrument for rapid determination of binding constants for biomolecules. In: *American Lab. (Shelton, CT, United States)* 22 (1990), S. 30–41

- [333] Kap. 9 In: COOPER, A. ; JOHNSON, C.M.: *Introduction to microcalorimetry and biomolecular energetics*. In: *Methods in molecular biology*. Humana Press, Inc., 1994, S. 109–124
- [334] MicroCal Inc.: *MicroCal VP-ITC Unit-User's Manual*
- [335] <http://www.microcalorimetry.com>
- [336] LADBURY, E.J. ; CHOWDHRY, B.Z.: Sensing the heat: the application of isothermal titration calorimetry to thermodynamic studies of biomolecular interactions. In: *Chemistry & biology* 3 (1996), S. 791–801
- [337] BLANDAMER, M.J. ; CULLIS, P.M. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Titration microcalorimetry. In: *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 94 (1998), S. 2261–2267
- [338] CHELLANI, M.: Isothermal titration calorimetry: biological applications. In: *American Biotech. Lab.* 17 (1999), S. 14–18
- [339] FISHER, H.F. ; SINGH, N.: Calorimetric methods for interpreting protein-ligand interactions. In: *Methods Enzymol.* 259 (1995), S. 194–221
- [340] FREIRE, E. ; MAYORGA, O.L. ; STRAUME, M.: Isothermal titration calorimetry. In: *Anal. Chem.* 62 (1990), S. 950A–959A
- [341] SCHUBERT, R. ; MÜLLER, R.H. (Hrsg.) ; HILDENBRAND, G.E. (Hrsg.): *Liposomen in Arzneimeitteln*. In: *Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen*. Stuttgart : Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 1998
- [342] STURTEVANT, J.M.: Some applications of calorimetry in biochemistry and biology. In: *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 3 (1974), S. 35–51
- [343] PRIVALOV, P.L.: Scanning microcalorimetry for studying macromolecules. In: *Pure Appl. Chem.* 52 (1980), S. 479–497
- [344] BRESLAUER, K.J. ; FREIRE, E. ; STRAUME, M.: Calorimetry: A tool for DNA and ligand-DNA studies. In: *Methods Enzymol.* 211 (1992), S. 533–567
- [345] BURGER, A.: DTA und DSC: Grundlagen, Methodik und Anwendung. In: *Pharmazie in unsere Zeit* 6 (1982), S. 177–189
- [346] HUANG, C. ; LI, S.: Calorimetric and molecular mechanics studies of the thermotropic phase behavior of membrane phospholipids. In: *Biochim. Biophys. Acta* 1422 (1999), S. 273–307
- [347] PLOTNIKOV, V.V. ; BRANDTS, J.M. ; LIN, L.N. ; BRANDTS, J.F.: A new ultrasensitive scanning calorimeter. In: *Anal. Biochem.* 250 (1997), S. 237–244
- [348] Kap. 10 In: COOPER, A. ; JOHNSON, C.M.: *Differential scanning calorimetry*. In: *Methods in molecular biology*. Humana Press, Inc., 1994, S. 125–136
- [349] HÖHNE, G.W.H. ; HEMMINGER, W. ; FLAMMERSHEIM, H.-J.: *Differential scanning calorimetry: An introduction for practitioners*. Springer-Verlag, 1996
- [350] JELESAROV, I. ; BOSSHARD, H.R.: Isothermal titration calorimetry and differential scanning calorimetry as complementary tools to investigate the energetics of biomolecular recognition. In: *Journal of Molecular Recognition* 12 (1998), S. 3–18
- [351] MicroCal Inc.: *MicroCal VP-ITC Unit-User's Manual*

- [352] Kap. 12 In: LEHARNE, S.A. ; CHOWDHRY, B.Z.: *Thermodynamic background to differential scanning calorimetry. In: Biocalorimetry - applications of calorimetry in the biological science.* Wiley, New York, 1998, S. 157–182
- [353] PROVENCHER, S.W.: Contin: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations. In: *Computer Physics Communication* 27 (1982), S. 229–242
- [354] PELLETIER, I. ; BOURQUE, T. ; BUFFETEAU, D. ; BLAUDEZ, D. ; DESBAT, B. ; PEZOLET, M.: Study by infrared spectroscopy of ultrathin films of behenic acid methyl ester on solid substrates and at the air/water interface. In: *J. Phys. Chem. B* 106 (2002), S. 1968–1976
- [355] MITCHELL, M.L. ; DLUHY, R.A.: In situ FT-IR investigation of phospholipid monolayer phase transition at the air-water interface. In: *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988), S. 712–718
- [356] DLUHY, R.A.: Quantitative external infrared reflection spectroscopic analysis of insoluble monolayers spread at the air-water interface. In: *J. Phys. Chem.* 90 (1986), S. 1373–1379
- [357] ELMORE, D.L. ; SHANMUKH, S. ; DLUHY, R.A.: A study of binary phospholipid mixtures at the air-water interface using infrared reflection-absorption spectroscopy and 2D IR $\beta\nu$ correlation analysis. In: *J. Phys. Chem. A* 106 (2002), S. 3420–3428
- [358] ISLAM, M.N. ; REN, Y. ; KATO, T.: Polarization modulation infrared reflection absorption spectroscopy of Gibbs monolayer at the air/water interface. In: *Langmuir* 18 (2002), S. 9422–9428
- [359] KAWAI, T. ; KAMIO, H. ; KON-NO, K.: Infrared external reflection spectroscopy of sodium dodecyl sulfate monolayers at the air-solution interface: Removal of bulk-phase water concentration effects. In: *Langmuir* 14 (1998), S. 4964–4966
- [360] FLACH, C.R. ; BRAUNER, J.W. ; TAYLOR, J.W. ; BALDWIN, R.C. ; MENDELSON, R.: External reflection FTIR of peptide monolayer films at the air/water interface: Experimental design, spectra-structure correlations, and effects of hydrogen-deuterium exchange. In: *Biophys. J.* 67 (1994), S. 402–410
- [361] KERTH, A. ; ERBE, A. ; DATHE, M. ; BLUME, A.: Infrared reflection absorption spectroscopy of amphipathic model peptides at the air/water interface. In: *Biophys. J.* 86 (2004), S. 3750–3758
- [362] MEINDERS, M.B.J. ; VAN DEN BOSCH, G.G.M. ; JONGH, H.H.J.: Adsorption properties of proteins at and near the air/water interface from IRRAS spectra of protein solutions. In: *Eur. Biophys. J.* 30 (2001), S. 256–267
- [363] KERTH, A.: *Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie an Lipid-, Peptid- und Flüssigkristall-Filmen an der Wasser-Luft-Grenzfläche.*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 2002
- [364] Nanofilm Technologie GmbH: *MiniBAM-Benutzerhandbuch*
- [365] PEZRON, E. ; CLAESSON, P.M. ; BERG, J.M. ; VOLLHARDT, D.: Stability of arachidic acid monolayers on aqueous salt solutions. In: *J. Colloid Interface Sci.* 138 (1990), Nr. 1, S. 245–254
- [366] MIYANO, K. ; ABRAHAM, B. M. ; XU, S. Q. ; KETTERSON, J. B.: The effect of heavy metallic ions on fatty acid monolayers at the air-water interface. In: *J. Chem. Phys.* 77 (1982), Nr. 4, S. 2190–2192

- [367] MUELLER, N.: Temperature dependence of critical micelle concentrations and heat capacities of micellization for ionic surfactants. In: *Langmuir* 9 (1993), S. 96–100
- [368] MAJHI, P.R. ; MOULIK, S.P.: Energetics of micellization: Reassessment by a high-sensitivity titration microcalorimeter. In: *Langmuir* 14 (1998), S. 3986–3990
- [369] BLANDAMER, M.J. ; BRIGGS, B. ; CULLIS, P.M. ; ENGBERTS, J.B.F.N.: Titration microcalorimetry of mixed alkyltrimethylammonium bromide surfactant aqueous solutions. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2 (2000), S. 5146–5153
- [370] MAJHI, P.R. ; MOULIK, S.P. ; BURKE, S.E. ; RODGERS, M. ; PALEPU, R.: Physicochemical investigations on the interaction of surfactants and salts with polyvinylpyrrolidone in aqueous medium. In: *J. Colloid Interface Sci.* 235 (2001), S. 227–234
- [371] MOSQUERA, V. ; DEL RIO, J.M. ; ATTWOOD, D. ; GARCIA, M. ; JONES, M.N. ; PRIETO, G. ; SUAREZ, M.J. ; SARMIENTO, F.: A study of the aggregation behavior of hexyltrimethylammonium bromide in aqueous solution. In: *J. Colloid Interface Sci.* 206 (1998), S. 66–76
- [372] <http://www.weinelt.de>
- [373] <http://www.faqs.org/faqs/de-rer-faq>
- [374] <http://www.uni-giessen.de/hrz/tex/cookbook/cookbook.html>
- [375] GOOSSENS, M. ; MITTELBACH, F. ; SAMARIN, A.: *Der LateX-Begleiter*. Addison-Wesley GmbH, 1994

Zur Anfertigung dieser Arbeit dienten weiterhin die Quellen ^[372–375].

Publikationsliste

- A. HILDEBRAND, K. BEYER, R. NEUBERT, P. GARIDEL, A. BLUME. Temperature dependence of the interactions of cholate and deoxycholate with fluid lipid membranes and their solubilization into mixed micelles. *Colloids and Surfaces B*, Vol. 32: 335-351, **2003**.
- A. HILDEBRAND, K. BEYER, R. NEUBERT, P. GARIDEL, A. BLUME. Solubilization of negatively charged DPPC/DPPG liposomes by bile salts. *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. 279: 559-571, **2004**.
- M. AUGSTEN, R. PIUSCH, C. BISKUP, K. RENNERT, U. WITTIG, K. BEYER, A. BLUME, R. WETZKER, K. FRIEDRICH, I. RUBIO. Live-cell imaging of endogenous Ras-GTP illustrates predominant Ras activation at the plasma membrane. *EMBO reports*, Vol. 7: 46-51, **2006**
- K. BEYER, D. LEINE, A. BLUME. The demicellization of alkyltrimethylammonium bromides in 0.1 M sodium chloride solution studied by isothermal titration calorimetry. *Colloids and Surfaces B*, Vol. 49: 31-39, **2006**.
- K. BEYER, A. MEISTER, A. KERTH, A. BLUME. Adsorption of homologous alkyltrimethylammonium bromides at the air-water interface with DMPC- d_{54} and DMPG- d_{54} monolayers studied by external infrared absorption spectroscopy. in Bearbeitung.

Posterbeiträge

- A thermodynamic characterization of interactions between sodium cholate and sodium deoxycholate and model membranes of POPC, DPPC and DPPG. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biophysik, Dresden 2002 und Conference of the European Colloid and Interface Society, Paris 2002.
- Interaction between negatively charged membranes and positively charged detergents studied by ITC. Meeting of the German Colloids Society, Bayreuth 2003.
- Interactions of cationic detergents with anionic phospholipids. Bunsentagung, Dresden 2004.
- The interaction of alkyltrimethylammonium bromides with DMPC and DMPG monolayers studied by infrared reflection absorption spectroscopy. Bunsentagung, Frankfurt 2005.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit durch ihre Anregungen und Diskussionsbereitschaft unterstützt haben.

Herrn Prof. Alfred Blume danke ich herzlich für die Möglichkeit, als Pharmazeutin eine Promotionsarbeit am Institut für Physikalische Chemie anfertigen zu können, für die Überlassung des interessanten Themas, für die sehr angenehme Art seiner Betreuung und die intensiven fachlichen Diskussionen.

Des Weiteren danke ich Frau Dr. Annette Meister und Herrn Dr. Andreas Kerth für die Einführung in die IRRAS-Messtechnik und die Hilfe bei der Auswertung und Interpretation der Daten.

Herrn Dag Leine und Herrn Sandro Keller danke ich insbesondere für die Programmierung bzw. Bereitstellung der Fitroutinen, für die intensiven fachlichen Diskussionen und ihre stetige Hilfsbereitschaft.

Bei Frau Dr. Annegret Hildebrand bedanke ich mich für das stetige Interesse am Fortgang meiner Arbeit und und ihre über die Anfertigung meiner Diplomarbeit hinaus fortwährende Unterstützung.

Frau Bettina Fölting danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung zahlreicher Messungen und Frau Ingrid Schaller danke ich für ihre Hilfe in organisatorischen Belangen sowie für die kleinen freundlichen Aufmunterungen, die mich oft motiviert haben.

Frau Sandra Heuschkel danke ich für die Durchführung der MS-HPLC- Untersuchungen und Herrn Andreas Lonitz danke ich für die immer sehr schnelle und unbürokratische Hilfe bei aufgetretenen technischen Problemen.

Ein großes „Dankeschön“ gilt allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, insbesondere Dag Leine, Martin Schiewek, Christian Schwieger und Elkin Amado sowie allen weiteren Mitarbeitern des Institutes für die nette Aufnahme in den Arbeitskreis, die sehr gute Arbeitsatmosphäre, die gute Zusammenarbeit und die ständige Diskussions- und Hilfsbereitschaft in fachlichen aber auch persönlichen Dingen. Oft werde ich an die sehr schönen Stunden unserer gemeinsamen Paddeltouren auf der Saale, der Unstrut, im Spreewald und an unsere Wanderungen durch das Elbsandsteingebirge denken.

Der größte Dank gilt meinen Eltern und meinem Mann für ihre Liebe, ihre Geduld, das mir entgegengebrachte Vertrauen und dafür, dass sie mir stets sowohl in besseren als auch in schlechteren Zeiten zur Seite standen.

Lebenslauf

Name: Katja Knauf
Geburtsdatum: 24.03.1978
Geburtsort: Lutherstadt Eisleben
Eltern: Herbert Beyer, Diplom-Ingenieur
Roswitha Beyer, geb. Schultze, Diplom-Ingenieur
Familienstand: verheiratet

Schulbildung:

1984 - 1991: POS „Vera Woloschina“ , Gorenzen/Vatterode
1991 - 1996: Gymnasium „Am Markt“ , Hettstedt
Mai 1996: Abitur

Berufsausbildung:

1996 - 2000: Pharmaziestudium an der Martin-Luther-Universität Halle
08/1998 1. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
09/2000 2. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
10/2000 - 04/2001: Diplomarbeit am Institut für Pharmazeutische Technologie
und Biopharmazie der Martin-Luther-Universität Halle
Dezember 2001: Diplom
05/2001 - 10/2001: Pharmaziepraktikum in der „Galenus-Apotheke“ , Halle
11/2001 3. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Dezember 2001: Approbation als Apothekerin

Berufstätigkeit:

01/2002-02/2002: Apothekerin in der „Galenus-Apotheke“, Halle
03/2002-03/2006: wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Physikalische
Chemie der Martin-Luther-Universität Halle
04/2002-11/2004: Apothekerin in der „Apotheke am Landrain“,
Halle (nebenberuflich)
seit 01.05.2006: Fachreferentin in der medizinisch-wissenschaftlichen
Abteilung der SALUTAS Pharma GmbH, Barleben

Gorenzen, März 2007

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich versichere weiterhin, dass ich keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und anderen Werken wörtlich oder inhaltlich entnommene Stellen als solche gekennzeichnet habe. Diese Dissertationsschrift habe ich an keiner anderen Hochschule vorgelegt und mich zu keinem früheren Zeitpunkt um den Doktorgrad beworben.

Gorenzen, März 2007