

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde (Dr. rer. nat.)
der Gesamtfakultät für Mathematik, Ingenieur-
und Naturwissenschaften
der Universität Heidelberg

vorgelegt von

Andreas Stöcklin

geboren in Emmendingen (Deutschland, Europa)

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 2022

Herstellung und Charakterisierung
von Zellmembranmodellen
unterschiedlicher Komplexität
und Studien ihrer Wechselwirkung
mit Nanopartikeln

Gutachter: Prof. Dr. (apl.) Reiner Dahint
Prof. Dr. Joachim Spatz

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	IX
Abstract	X
Abkürzungsverzeichnis	XI
Abbildungsverzeichnis	XIII
Tabellenverzeichnis	XX
1 Zielsetzung	1
2 Physikalische Grundlagen	2
2.1 Neutronenreflexion	2
2.1.1 Vorteile der Methode	2
2.1.2 Grundkonzept	3
2.1.3 Spekulare Reflektivität	4
2.1.4 Reflexionsprofil	6
2.1.5 Kohärenzlänge	8
2.1.6 Rauigkeiten	9
2.1.7 Nicht-spekulare Reflektivität	10
2.1.8 Aufbauten	11
2.1.9 Geometrische Überlegung zur Datenprozessierung	12
2.2 Röntgenreflexion	13
2.2.1 Vorteile der Methode	13
2.2.2 Grundkonzept	14
2.2.3 Aufbau	14
2.2.4 Geometrische Überlegung zur Datenprozessierung	15
2.3 Ellipsometrie	15
2.4 Rasterkraftmessungen	17
2.5 Dynamische Lichtstreuung	18
2.6 Zetapotential	20
2.7 Strömungspotential	21
2.8 Schwingquarzmikrowaage mit Dämpfungsmessung	23
2.9 Dynamische Differenzkalorimetrie	26
3 Experimentalteil	27
3.1 Verwendete Substrate und Stoffe	27
3.2 Aufbereitung der Substrate für die Rotationsbeschichtung	28

3.3	Verwendete Versuchsaufbauten	29
3.3.1	Rotationsbeschichtung	30
3.3.2	Durchflusssysteme	31
3.3.3	NR	31
3.3.4	XRR	32
3.3.5	SE	32
3.3.6	AFM	33
3.3.7	DLS- und ζ -Potentialmessungen	33
3.3.8	Strömungspotential	34
3.3.9	QCMD	34
3.3.10	DSC	35
4	Modellsysteme	36
4.1	Einfache Zellmembranen	36
4.2	Eukaryotische Zellmembranmodelle	38
4.3	Prokaryotische Zellmembranmodelle	43
4.4	Nanopartikel	44
4.5	Das Modellsystem	46
4.5.1	Modellsystem an Luft	47
4.5.2	Modellsystem im wässrigen Milieu	49
5	Messungen an Luft	53
5.1	Ellipsometriemessungen	53
5.2	Rasterkraftmikroskopiemessungen	55
5.3	Röntgenreflexionsmessungen	57
5.3.1	100 % DMPC	57
5.3.2	70 % DMPC 30 % Chol	61
5.4	Zusammenfassung	65
6	Wässriges Milieu	66
6.1	Neutronenreflexionsmessungen an ungeladenen Systemen	66
6.1.1	100 % DMPC	67
6.1.2	90 % DMPC 10 % Chol	70
6.1.3	80 % DMPC 20 % Chol	73
6.1.4	70 % DMPC 30 % Chol	76
6.1.5	50 % DMPC 50 % Chol	78
6.2	Röntgenreflexionsmessungen	79
6.3	Ellipsometriemessungen an Oligolipidbilagensystemen	84
6.3.1	Zwitterionische Oligolipidbilagensysteme in Wasser	84
6.3.2	Geladene Oligolipidbilagensysteme in Wasser	84

6.4	Neutronenreflexionsmessungen an geladenen Oligolipidbilagensystemen	88
6.4.1	Quellverhalten	88
6.4.2	Langzeitstabilität	91
6.5	Einfluss auf das Strömungspotential durch die Einlagerung von Chol in DMPC-Oligolipidbilagensysteme	93
6.6	Interaktion von geladenen Systemen mit NP	98
6.6.1	30 % Chol DMTAP:DMPC 1:55	99
6.6.2	30 % Chol DMPG:DMPC 1:49	101
6.7	Zusammenfassung	110
7	Auswirkungen der Temperaturvariation	111
7.1	DSC-Messungen	111
7.1.1	100 % DMPC	111
7.1.2	70 % DMPC 30 % Chol	112
7.2	Rasterkraftmessungen	114
7.3	Ellipsometriemessungen	115
7.3.1	100 % DMPC	115
7.3.2	70 % DMPC 30 % Chol	116
7.4	Röntgenreflexionsmessungen	116
7.5	Neutronenreflexionsmessungen	117
7.5.1	100 % DMPC	118
7.5.2	Temperaturabhängige Interaktion mit großen AuNP	122
7.6	Zusammenfassung	130
8	Auswirkungen von Salzlösungen	132
8.1	DSC-Messungen	132
8.2	Neutronenreflexionsmessungen in Magnesiumchloridlösung	134
8.2.1	100 % DMPC	135
8.2.2	80 % DMPC 20 % Chol	142
8.2.3	DMPC/geladenes Lipid 20 % Chol	154
8.2.4	70 % DMPC 30 % Chol	159
8.2.5	50 % DMPC 50 % Chol	164
8.3	Röntgenreflexionsmessungen	167
8.3.1	Erweiterung des Modellsystems um den Parameter D_{w4}	169
8.3.2	70 % DMPC 30 % Chol in Wasser	172
8.3.3	70 % DMPC 30 % Chol in 50mM Magnesiumchlorid- und 50 mM Kalziumchloridlösung	174
8.3.4	Interaktion mit kleinen AuNP	180
8.3.5	Interaktion mit großen AuNP	190
8.4	Zusammenfassung	194

8.4.1	Oligolipidbilagen in Salzlösung vor der AuNP-Zugabe	194
8.4.2	Oligolipidbilageninteraktion in Salzlösungen mit NP	199
9	Zusammenfassung und Ausblick	201
	Literatur	205
	Danksagung	219
	Anhang	A1
A	Geometrische Überlegung zur Kristallausleuchtung an V6	A1
A.1	Überstrahlter Kristall	A2
A.2	Teilweise überstrahlter Kristall	A4
A.3	Vollständiges Auftreffen des Neutronenstrahls auf die Probe	A5
B	Fehlerrechnung	A6
C	AFM-Messungen der Systeme an Luft	A7
C.1	Vakuumtrocknung	A8
C.1.1	100 % DMPC	A8
C.1.2	70 % DMPC 30 % Chol	A9
C.2	Heizplattentrocknung	A10
C.2.1	100 % DMPC	A10
C.2.2	70 % DMPC 30 % Chol	A10
C.3	Drehgeschwindigkeitsvariation bei der Rotationsbeschichtung	A11
C.3.1	100 % DMPC	A11
C.3.2	70 % DMPC 30 % Chol	A13
C.4	DPPC-Systeme	A14
C.5	Lochanteile der Filme	A15
D	NR- und XRR-Messungen in Wasser bei 20,0 °C	A16
E	SE-Messungen in Wasser mit Temperaturvariation	A23
F	Salzlösungen	A30
F.1	Variation der Bilagenanzahl des DMPC-Systems	A30
F.2	ζ -Potentiale unterschiedlicher Lipide	A31
F.3	Gesamtschichtdicken 50 % DMPC 50 % Chol	A31
F.4	DMPC in 100 mM Magnesiumchloridlösung	A34
F.5	XRR-Anpassungen	A35

Kurzfassung

In dieser Arbeit wird untersucht, wie Nanopartikel mit Zellmembranmodellen interagieren und welche Faktoren Einfluss auf die Nanotoxizität nehmen. Hierfür werden Zellmembransysteme sowie die zugehörigen Modelle für deren Beschreibung präsentiert, wobei die Komplexität im Laufe der Arbeit zunimmt. Dabei stehen die Zellmembranen von Eukaryoten im Mittelpunkt, aber auch die Membranen von Prokaryoten werden thematisiert. Das Ausgangssystem ist aus DMPC aufgebaut, wobei eukaryotische Zellmembranen durch das Einbauen von Cholesterol modelliert und für die Simulation von prokaryotischen Zellmembranen geladene Lipide verwendet werden.

Neben den Auswirkungen der Zellmembranzusammensetzung wird die Beeinflussung der Systeme durch die Änderung der Temperatur, des verwendeten Salzes und der Ionenstärke sowie durch die Zugabe von Nanopartikeln untersucht. Bereits an Luft können verschiedene Charakteristika des Systems, wie beispielsweise die Oberflächenstruktur, Bilagenanzahl und Bilagendicke der Oligolipidbilagensysteme, untersucht werden.

In wässriger Umgebung werden die lösungsmittelinduzierten Veränderungen der Struktur und Stabilität des Gesamtsystems genauso untersucht wie der Einfluss von Temperaturänderungen. Zudem wird in der wässrigen Umgebung die Interaktion zwischen den Oligolipidbilagen und Nanopartikeln untersucht. Durch die wässrige Umgebung können Salze in die Lösung eingebracht werden, wodurch die biologische Relevanz des Systems zunimmt und der Einfluss der Ionenstärke auf die Charakteristika des Systems untersucht werden kann. Zudem ist von besonderem Interesse, in welcher Form die Zugabe von Salzen die Interaktion von verschiedenen Zellmembranmodellen mit Nanopartikeln beeinflusst.

Neutronenreflexions- und Röntgenreflexionsmessungen stehen bei dieser Arbeit als experimentelle Methoden im Vordergrund. Diese werden jedoch durch eine Vielzahl weiterer Messmethoden, wie dynamische Differenzkalorimetrie, Rasterkraftmikroskopie und Ellipsometrie, ergänzt, sodass ein differenziertes Gesamtbild der Systeme entsteht.

Abstract

In this thesis, the interaction of nanoparticles with cell membrane models is investigated and which factors influence nanotoxicity. For this purpose, cell membrane systems and their corresponding models are presented with increasing complexity towards later chapters. The main focus lies on eukaryotic cell membranes although membranes of prokaryotes are also covered. The initial system is built from DMPC. Thereby, cell membranes of eukaryotes are modelled by incorporating cholesterol while charged lipids are used to simulate prokaryotic cell membranes.

Beside the influence of the membrane composition, the response of the system due to changes of the temperature, the salt and the ionic strength as well as the reaction upon addition of nanoparticles is studied. Already in the simple step of the dry state exposed to air, several characteristics of the system, such as the surface structure, bilayer number and thickness of the oligolipidbilayers, can be investigated.

In the aqueous environment, several changes regarding the structure and stability of the system are induced. Those are studied as well as the temperature dependency. Furthermore, the interaction between lipid bilayers and nanoparticles in aqueous environment is analysed in detail. Due to the aqueous environment, salts can also be introduced into the solution, increasing the biological relevance of the system and allowing the influence of ionic strength on the characteristics of the system to be studied. Thereupon, the influence of ionic strength on the system is studied by varying the salt concentration. Additionally, it is of interest in which manner the addition of salt changes the interaction of different cell membrane models with nanoparticles.

Neutron and X-ray reflectivity measurements are the main experimental techniques used in this work but these are completed by a variety of other methods, e.g. differential scanning calorimetry, atomic force microscopy and ellipsometry. Hence, an overall picture of the entire system emerges.

Abkürzungsverzeichnis

AFM	Rasterkraftmikroskopie (engl.: atomic force microscopy)
AuNP	Goldnanopartikel
BER II	Berliner Experimentierreaktor
Chol	Cholesterol
D17	Neutronenreflektometer mit horizontaler Streugeometrie (engl.: Neutron reflectometer with horizontal scattering geometry)
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DM	1,2-Dimyristoyl
DMPC	1,2-Dimyristoyl-3-phosphatidylcholin
DMPE	1,2-Dimyristoyl-3-phosphatidylethanolamin
DMPG	1,2-Dimyristoyl-3-phosphatidylglycerol (Natriumsalz)
DMTAP	1,2-Dimyristoyl-3-trimethylammoniumpropanchlorid
DPPC	1,2-Dipalmitoyl-3-phosphatidylcholin
DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: Differential Scanning Calorimetry)
DTA	Differenz-Thermoanalyse
FIGARO	Fluid Grenzflächen Streifwinkel Reflektometer (engl.: Fluid Interfaces Grazing Angles ReflectOmeter)
HZB	Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie
IEP	isoelektrischer Punkt
ik	inkohärente Anpassung
ILL	Institut Laue-Langevin
IR	Infrarot
iSLD	imaginäre Streulängendichte
k	kohärente Anpassung
KIT	Karlsruher Institut für Technologie

LM	Lösungsmittel
MD	Molekulardynamik-Simulation (engl.: molecular dynamics simulation)
NP	Nanopartikel
NR	Neutronenreflexion
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (engl.: phosphate-buffered saline)
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Phosphatidylglycerol
PDI	Polydispersitätsindex
POPC	1-Palmitoyloyl-2-oleoyl-3-phosphatidylcholin
QCMD	Schwingquarzmikrowaage mit Verlustüberwachung (engl.: quartz crystal microbalance with dissipation monitoring)
RCA	amerikanische Funkgesellschaft (engl.: Radio Corporation of America)
SDS	Natriumdodecylsulfat (engl.: sodium dodecyl sulfate)
SE	Spektroskopische Ellipsometrie
SL	Streulänge
SLD	Streulängendichte
TOF	Flugzeit (engl.: time-of-flight)
TiO₂-NP	Titanoxidnanopartikel
V6	Neutronenreflektometer des HZB
XRR	Röntgenreflexion (engl.: x-ray reflection)

Abbildungsverzeichnis

2.1	Snelliussches Brechungsgesetz.	3
2.2	Impulstransfervektor \vec{q}	4
2.3	Neutronenreflektivität eines Siliziumwafers.	7
2.4	Kohärenzlänge L_k	8
2.5	Auswirkung rauer Oberflächen auf die SLD.	10
2.6	Reflexion an einer substratgebundenen Probe.	16
2.7	AFM-Aufbau.	17
2.8	Skizzierung des Zeta-Potentials.	20
2.9	Frequenz und Dämpfung bei einer QCMD-Messung.	25
2.10	Skizze einer durch das viskoelastische Modell beschriebenen Probe.	25
3.1	Skizze der Rotationsbeschichtung.	30
3.2	Schematische Zeichnung des Durchflusssystems.	31
4.1	Zwitterionisches DMPC-Molekül.	36
4.2	Zwitterionisches DMPE-Molekül.	36
4.3	DMPC-Phasenzustände.	37
4.4	Zwitterionisches DPPC-Molekül.	38
4.5	Chol-Molekül.	39
4.6	Beeinflussung der Bilagenstruktur durch Chol.	40
4.7	Zusammenhang zwischen Bilagendicke und Chol-Gehalt für DMPC.	42
4.8	Hopan-Molekül.	43
4.9	DMPG-Molekül.	44
4.10	DMTAP-Molekül.	44
4.11	Skizze eines hydrophoben AuNP.	45
4.12	Skizze eines kationischen AuNP.	46
4.13	Verwendetes Modellsystem bei den Anpassungen der XRR-Daten an Luft.	47
4.14	Skizze zur Verringerung der Auflösung durch die Welligkeit der Filme.	49
4.15	Verwendetes Modellsystem für Oligolipidbilagen in Lösung.	50
5.1	Vorhandene Bilagenanzahl nach Rotationsbeschichtung.	54
5.2	AFM-Aufnahme eines rotationsbeschichteten DMPC-Films.	55
5.3	AFM-Aufnahme eines rotationsbeschichteten 70 % DMPC 30 % Chol-Films.	56
5.4	XRR-Daten der DMPC-Oligolipidbilagensysteme an Luft.	58
5.5	XRR-SLD-Profil der DMPC-Oligolipidbilagensysteme an Luft.	59
5.6	XRR-Daten der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme an Luft.	61
5.7	XRR-SLD-Profil des 70 % DMPC 30 % Chol-Systems 1 an Luft.	64
6.1	NR-Daten des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Wasser.	67
6.2	SLD-Profile der DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser.	69

6.3	NR-Daten eines 90 % DMPC 10 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Wasser.	70
6.4	NR-Daten der 80 % DMPC 20 % Chol Oligolipidbilagensysteme in Wasser bei 20,0 °C.	73
6.5	NR-Daten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Wasser bei 20,0 °C.	77
6.6	NR-Daten eines 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Wasser bei 20,0 °C.	79
6.7	Wiederholeinheitendicken des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Wasser in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt.	81
6.8	Querschnittsfläche der DMPC-Kopfgruppe in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt des Systems.	82
6.9	Stabilität geladener DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser in Abhängigkeit von ihrem DMTAP- und Chol-Gehalt.	86
6.10	Stabilität geladener DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser in Abhängigkeit von ihrem DMPG- und Chol-Gehalt.	87
6.11	Wiederholeinheitendicke des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Wasser in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und dem Anteil an geladenen Lipiden.	89
6.12	Wasserzwichenschichtdicke des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und dem Anteil an geladenen Lipiden.	90
6.13	NR-Daten des 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:111 Oligolipidbilagensystems bei 20,0 °C.	91
6.14	Strömungspotentialsmessungen von DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen im pH-Bereich von 2 bis 9.	94
6.15	Strömungspotentialsmessungen von DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen im pH-Bereich von 2,3 bis 5.	95
6.16	NR-Daten der 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:55-Bilagensysteme bei 20,0 °C.	99
6.17	NR-Daten der 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49-Bilagensysteme in Wasser bei 20,0 °C.	102
6.18	Angepasstes Modellsystem für NR-Messungen mit unterschiedlichen Quellen in verschiedenen Gebieten.	103
6.19	Angepasstes Modellsystem für NR-Messungen mit unterschiedlichen Quellen bei verschiedenen Entfernungen zum Substrat.	104
6.20	Anpassung der NR-Daten eines 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49-Bilagensystems in Wasser mit $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei 20,0 °C mit angepassten SLD für die Kopf- und Kettengruppen.	107
7.1	Spezifische Wärmekapazität einer DMPC-Vesikellösung in Wasser im Bereich von 11,0 bis 30,0 °C.	112

7.2	Spezifische Wärmekapazität einer 70 % DMPC 30 % Chol-Vesikellösung in Wasser im Bereich von 18,0 bis 30,0 °C.	113
7.3	AFM-Aufnahme eines bei 30,0 °C gelagerten DMPC-Films.	114
7.4	NR-Daten der DMPC-Bilagensysteme in Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.	118
7.5	SLD-Profile der DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.	120
7.6	Wiederholeinheitsdicken der DMPC-Oligolipidbilagensysteme bei Temperaturen zwischen 18,0 °C und 26,0 °C.	122
7.7	Intensität im Bereich des ersten Bragg-Peaks von DMPC in Wasser bei 18,0 °C nach der Zugabe von 500 Å großen AuNP.	123
7.8	RQ^4 -Darstellung im Bereich des ersten Bragg-Peaks von DMPC in Wasser bei 18,0 °C nach der Zugabe von 500 Å großen AuNP.	124
7.9	Intensität im Bereich des ersten Bragg-Peaks von DMPC in Wasser bei 26,0 °C nach der Zugabe von 500 Å großen AuNP.	124
7.10	Bilagenanzahl N des DMPC-Oligolipidbilagensystems bei 26,0 °C in Abhängigkeit von der gemessenen Reflektivität R	125
7.11	Zeitliche Entwicklung der Gesamtschichtdicke des DMPC-Films nach AuNP-Zugabe bei 18,0 °C.	127
7.12	Zeitliche Entwicklung der Gesamtschichtdicke des DMPC-Films nach AuNP-Zugabe bei 26,0 °C.	127
7.13	Zeitliche Entwicklung des Bragg-Peaks eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems nach AuNP-Zugabe bei 20,0 °C.	129
7.14	Zeitliche Entwicklung des Bragg-Peaks eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems nach AuNP-Zugabe bei 24,2 °C.	130
8.1	Bestimmte spezifische Wärmekapazität c_p einer DMPC-Vesikellösung in 50 mM Magnesiumchloridlösung.	133
8.2	Lage des Bragg-Peaks eines DMPC-Oligolipidbilagensystems vor der Zugabe von Magnesiumchlorid.	136
8.3	Zeitliche Entwicklung der NR-Daten eines DMPC-Oligolipidbilagensystems nach der Zugabe von Magnesiumchlorid.	136
8.4	NR-Daten eines DMPC-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration bei 20,0 °C.	138
8.5	NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 80 % DMPC 20 % Chol in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration.	144
8.6	NR-Daten dreier 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagensysteme bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM vor und nach der NP-Zugabe.	148
8.7	NR-Daten eines 20 % Chol DMTAP:DMPC 1:49-Oligolipidbilagensystems in Wasser, 25 mM Magnesiumchloridlösung und mit AuNP.	155

8.8	Zeitliche Entwicklung der NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPG:DMPC 1:39 mit 20 % Chol in einer 50 mM Magnesiumchloridlösung.	157
8.9	NR-Daten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration.	160
8.10	NR-Daten zweier 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM und mit AuNP unterschiedlicher Größen.	163
8.11	NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 50 % DMPC 50 % Chol bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen dargestellt.	165
8.12	Dicke der Wiederholeinheit des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration.	166
8.13	Gesamtschichtdicke des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration.	167
8.14	Angepasstes Modellsystem für XRR-Messungen in Salzlösungen.	171
8.15	XRR-Messdaten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems bei 20,0 °C.	172
8.16	XRR-Messdaten der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme bei 20,0 °C in 50 mM Magnesiumchlorid-/Kalziumchloridlösung.	175
8.17	XRR-SLD-Profil der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung.	179
8.18	XRR-Daten zweier 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung vor und nach der AuNP-Zugabe.	181
8.19	SLD-Profil eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in 50 mM Magnesiumchloridlösung vor und nach der Zugabe von AuNP.	183
8.20	SLD-Profil eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in 50 mM Kalziumchloridlösung vor und nach den AuNP Zugaben.	185
8.21	Modellsystem mit AuNP.	188
8.22	XRR-Daten zweier 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung vor und nach der Zugabe großer AuNP.	191
8.23	Mittels NR-Messungen und XRR-Messungen ermittelte lamellare Schichtdicken verschiedener Chol-Gehalte in Abhängigkeit der Magnesiumchloridkonzentration.	195
8.24	2D-Darstellung der NR- und XRR-Ergebnisse der Wiederholeinheitendicken in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und der Magnesiumchloridkonzentration.	196

A.1	Geometrische Überlegung für einen überstrahlten Kristall.	A1
A.2	Geometrische Überlegung für einen teilweise seitlich überstrahlten Kristall.	A4
A.3	Geometrische Überlegung für das vollständige Auftreffen des Neutronenstrahls auf die Probe.	A6
C.1	Topographie eines DMPC-Oligolipidbilagensystems vor und nach zwei Tagen Vakuumtrocknung.	A8
C.2	Topographie eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das nach vier Tagen getrocknet wurde, vor und nach zwei Tagen Vakuumtrocknung.	A8
C.3	Topographie zweier ungetrockneter 70 % DMPC 30 % Chol-Systeme.	A9
C.4	Topographie zweier 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme, die zwei Tage vakuumgetrocknet wurden.	A9
C.5	Topographie eines DMPC-Oligolipidbilagensystems vor und nach der Heizplattentrocknung.	A10
C.6	Topographie eines 70 % DMPC 30 %-Oligolipidbilagensystems vor und nach der Heizplattentrocknung.	A10
C.7	Topographie eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 1.000 rpm aufgebracht wurde.	A11
C.8	Topographie eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 6.000 rpm aufgebracht wurde.	A12
C.9	Topographie eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 8.000 rpm aufgebracht wurde.	A12
C.10	Topographie eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 1.000 rpm aufgebracht wurde.	A13
C.11	Topographie eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 6.000 rpm aufgebracht wurde.	A13
C.12	Topographie eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 8.000 rpm aufgebracht wurde.	A14
C.13	Topographie eines DPPC-Oligolipidbilagensystems vor und nach zwei Tagen Vakuumtrocknung.	A14
C.14	Topographie eines 70 % DPPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems vor und nach einer zweitägigen Vakuumtrocknung.	A15
D.1	Gegenüberstellung der unterschiedlichen Prozessierungen der HZB V6 Rohdaten anhand des 90 % DMPC 10 % Chol-Systems 2019/11.	A17
D.2	NR-Daten für beide am HZB vermessene DMPC-Systeme mit einem Chol-Gehalt von 10 % bei 20,0 °C.	A17
D.3	NR-Daten für beide am HZB vermessene DMPC-Systeme mit einem Chol-Gehalt von 10 % bei 20,0 °C in RQ^4 -Darstellung.	A18
D.4	RQ^4 gegen Q -Darstellung des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in Wasser bei 20,0 °C.	A18

D.5	XRR-Daten der DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser bei 20,0 °C.	A19
D.6	RQ ⁴ gegen Q-Darstellung des 30 % Chol 1:55 DMTAP:DMPC-Systems in Wasser bei 20,0 °C.	A20
D.7	RQ ⁴ gegen Q-Darstellung des 30 % Chol 1:55 DMTAP:DMPC-Systems in Wasser mit 10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP bei 20,0 °C.	A21
E.1	Mittels SE bestimmte Gesamtschichtdicke geladener Oligolipidbilagensysteme mit Gramicidin in Wasser.	A24
E.2	Mittels SE bestimmte Gesamtschichtdicken des DMPC-Films 1 in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.	A25
E.3	Anhand von SE bestimmte Gesamtschichtdicken des DMPC-Films 2 in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.	A25
E.4	Durch SE bestimmte Gesamtschichtdicken des DMPC-Films 3 in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.	A26
E.5	Mithilfe von SE bestimmte Gesamtschichtdicken des 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit. .	A26
E.6	Bestimmte NR-Reflexionsprofile zweier Kinetikmessungen eines DMPC-Oligolipidbilagensystems bei 18 °C.	A27
E.7	Anpassung der SE-Parameter Ψ und Δ für den DMPC-Film bei 18,0 °C in schwerem Wasser.	A27
E.8	Gemessene $\Psi(t)$ -Werte des DMPC-Systems bei 18,0 °C.	A28
E.9	Gemessene $\Delta(t)$ -Werte des DMPC-Systems bei 18,0 °C.	A28
E.10	Fehler der angepassten Winkel Ψ und Δ des DMPC-Systems vor und 2 Stunden nach der AuNP-Zugabe in Abhängigkeit von der Wellenlänge bei 18,0 °C.	A29
F.1	Anpassungen mit unterschiedlichen Annahmen für die NR-Daten des DMPC-Oligolipidbilagensystems bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 6 mM.	A30
F.2	ζ -Potentiale von Vesikeln bestehend aus unterschiedlichen Lipiden mit einem Chol-Anteil von 30 % in 50 mM Magnesiumchloridlösung.	A31
F.3	Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in Wasser.	A32
F.4	Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in 50 mM Magnesiumchloridlösung.	A32
F.5	Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in 12,5 mM Magnesiumchloridlösung.	A33
F.6	Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in 3 mM Magnesiumchloridlösung.	A33
F.7	XRR-Daten eines DMPC-Films in 100 mM Magnesiumchloridlösung. . .	A34

F.8	XRR-Messdaten der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als in Tabelle 8.13.	A35
F.9	XRR-Daten zweier Systeme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als in Tabelle 8.13.	A37
F.10	XRR-Daten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in PBS vor und nach der Zugabe von AuNP.	A39

Tabellenverzeichnis

2.1	Reflektivität an V6 in Abhängigkeit von dem Probenwinkel θ_P	12
2.2	Reflektivität bei den XRR-Messungen in Abhängigkeit von dem Probenwinkel θ_P	15
3.1	Verwendete Substrate.	27
3.2	Verwendete Stoffe.	28
4.1	Parameter der DMPC-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C.	38
4.2	Parameter der 90 % DMPC 10 % Chol-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. . .	41
4.3	Parameter der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. . .	41
4.4	Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. . .	42
4.5	Modell zur Anpassung der XRR-Daten für Oligolipidbilagen an Luft. . .	48
4.6	Modell zur Anpassung der Reflektivitätsmessungen in Wasser.	52
5.1	Parameter der XRR-Daten der DMPC-Oligolipidbilagen an Luft.	58
5.2	Parameter der XRR-Daten der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen an Luft.	62
6.1	NR-Parameter der DMPC-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C.	68
6.2	Parameter des 90 % DMPC 10 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Wasser.	71
6.3	NR-Parameter der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C.	74
6.4	Parameter der NR-Anpassung der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C (2).	75
6.5	NR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C.	77
6.6	XRR-Wiederholeinheitendicken der DMPC-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C.	80
6.7	XRR-Wiederholeinheitendicken der 70 % DMPC 30 % Chol-Systeme in Wasser bei 20,0 °C.	80
6.8	Wiederholeinheiten- und Wasserzweischichtdicke des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt.	81
6.9	Dicke der Wiederholeinheit und Wasserzweischicht geladener DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser bei 20,0 °C anhand NR-Messungen.	89
6.10	Mittels DLS erhaltene Größen und ζ -Potentiale der verwendeten NP bei 20,0 °C.	90
6.11	Parameter des 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:111 Oligolipidbilagensystems bei 20,0 °C.	92
6.12	Parameter der Strömungspotentialmessungen von DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen.	96

6.13	Parameter der NR-Daten des 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49-Systems in Wasser vor und nach der AuNP-Zugabe bei 20,0 °C.	105
7.1	Mittels XRR-Daten abgeleitete Wiederholeinheitendicken für DMPC-Systeme in Wasser bei 18 und 25,0 °C.	117
7.2	NR-Parameter der DMPC-Oligolipidbilagen in Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.	119
7.3	Parameter der Anpassungen der Bilagenanzahl in Abhängigkeit von der Reflektivität.	126
7.4	Cauchy-Parameter der SE-Anpassung der DMPC-Systeme in Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.	128
7.5	Halbwertszeiten der Gesamtschichtdicke $t_{1/2}$ von DMPC-Oligolipidbilagen bei AuNP-Interaktion in Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.	128
8.1	NR-Parameter der DMPC-Oligolipidbilagen bei verschiedenen Magnesiumchloridkonzentrationen bei 20,0 °C.	139
8.2	NR-Daten eines 80 % DMPC 20 % Chol-Systems in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration bei 20,0 °C.	145
8.3	Parameter der NR-Anpassungen des 80 % DMPC 20 % Chol-Systems 1 bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM bei 20,0 °C vor und nach der Zugabe von AuNP.	150
8.4	Parameter der NR-Anpassungen des 80 % DMPC 20 % Chol-Systems 2 bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM bei 20,0 °C vor und nach der Zugabe von AuNP.	152
8.5	Parameter der NR-Anpassungen des 80 % DMPC 20 % Chol-Systems 3 bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM bei 20,0 °C vor und nach der zweimaligen Zugabe von TiO ₂ -NP.	153
8.6	NR-Parameter der Anpassungen des 20 % Chol DMTAP:DMPC 1:49-Oligolipidbilagensystems in Abbildung 8.7.	155
8.7	Parameter der NR-Anpassungen des Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPG:DMPC 1:39 mit 20 % Chol in einer 50 mM Magnesiumchloridlösung aus Abbildung 8.8.	158
8.8	Parameter der NR-Anpassung der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen unterschiedlicher Magnesiumchloridkonzentrationen bei 20,0 °C.	161
8.9	NR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM sowie mit AuNP unterschiedlicher Größen bei 20,0 °C.	164
8.10	Wiederholeinheitendicke und Gesamtschichtdicke des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems bei 20,0 °C bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen.	166
8.11	NR- und XRR-SLD der wichtigsten Komponenten des Systems.	168

8.12 XRR-Parameter des 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Wasser bei 20,0 °C.	173
8.13 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C. . . .	176
8.14 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach der AuNP-Zugabe.	182
8.15 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach den Zugaben von AuNP.	184
8.16 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach der Zugabe großer AuNP.	192
8.17 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach der Zugabe großer AuNP.	192
8.18 Wiederholeinheitendicke für diverse Chol-Anteile in DMPC-Systemen und Magnesiumchloridkonzentrationen in der Lösung.	195
C.1 Bei Rotationsbeschichtungen verwendete Programme.	A11
D.1 Parameter der RQ^4 -Darstellung des 50 % DMPC 50 % Chol Systems in Wasser.	A19
D.2 Parameter der RQ^4 -Darstellung des 1:55 DMTAP:DMPC 30 % Chol Systems in Wasser.	A20
D.3 Parameter der RQ^4 -Darstellung des 1:55 DMTAP:DMPC 30 % Chol Systems in Wasser mit $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP.	A21
F.1 ζ -Potentiale unterschiedlicher Lipidsysteme mit einem Chol-Anteil von 30 % in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C.	A31
F.2 Berechnung der Gesamtschichtdicken des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems.	A33
F.3 XRR-Parameter der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C mit geringerer SLD im Zwischenschichtbereich.	A36
F.4 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich vor und nach der AuNP-Zugabe.	A38
F.5 XRR-Parameter der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme in 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich vor und nach der AuNP-Zugabe.	A38

1 Zielsetzung

Nanopartikel sind im Alltag omnipräsent, sodass der menschliche Körper ihnen fortwährend ausgesetzt ist.^{[1][2]} Während Gold- und Silbernanopartikel in medizinischen Anwendungen zum Einsatz kommen,^{[1][3]} werden Titanoxidnanopartikel in Lebensmitteln und Zahnpasta, aber auch wie Zinkoxidnanopartikel in Sonnencremes und Sonnenschutztextilien als UV-Filter eingesetzt.^{[1][2][4]} Von den menschlichen Organen sind vor allem der Atemtrakt, der Magen-Darm-Trakt und die Haut dem Kontakt mit Nanopartikeln ausgesetzt.^[1] In allen drei Fällen ist der erste Teil der Zelle, welcher dabei mit den Nanopartikeln in Kontakt tritt, die Zellmembran. Allerdings gibt es hierbei noch viele offene Fragen, welche Faktoren die Nanotoxizität beeinflussen und wie die Nanopartikel mit den Zellmembranen interagieren. Es ist daher von zentralem Interesse zu verstehen, wie die Zellmembranen mit Nanopartikeln interagieren. Um die Membran-Nanopartikel-Interaktion gezielt untersuchen und die Interaktionen spezifisch auf einzelne Membrankomponenten zurückführen zu können, müssen zunächst Membranen kreiert werden, welche lediglich eine überschaubare Anzahl an Komponenten beinhalten. Aufgrund der unterschiedlichen Funktionen, die diverse Membranen erfüllen müssen, variieren ihre Strukturen und Komplexitäten teilweise stark. Es gibt jedoch einige fundamentale Merkmale, welche alle Membrane miteinander verbinden. So besitzen sie eine Dicke von zwei Lipidmolekülen, die meist zwischen 6 und 10 nm liegt. Diese Membranlipidmoleküle verfügen über einen hydrophoben Anteil, den Kettengruppen, und einen hydrophilen Anteil, den Kopfgruppen. Die aus den Membranlipidmolekülen aufgebauten Membranen werden durch nicht-kovalente Wechselwirkungen von kooperativem Charakter stabilisiert. Dabei bilden sich im wässrigen Milieu Lipidbilagen aus, welche im Zentrum aus Kettengruppen bestehen. Diese werden durch die Kopfgruppen gegen die hydrophile Umgebung abgeschirmt.^[5, S. 405 ff.]

Zunächst wird von dem denkbar einfachsten System ausgegangen, bei dem die gesamte Membran aus einem einzigen Membranlipidtyp aufgebaut ist. Im nächsten Schritt wird untersucht, welche Auswirkungen das Einbauen weiterer Lipide in die Membran auf die Eigenschaften der Bilagen hat. Auf diese Weise können die Einflüsse der einzelnen Komponenten auf die Charakteristika des Gesamtsystems untersucht werden. Je nach Zusammensetzung eignen sich die Systeme zur Modellierung unterschiedlichster Zellmembranen. Somit ist es möglich, anhand der kreierten Membranen die Nanotoxizität von Nanopartikeln und die Beeinflussung der Nanotoxizität nicht nur durch die Nanopartikelgröße, den Nanopartikeltyp, die Ionenstärke und die Temperatur zu untersuchen, sondern auch den Einfluss der Membranzusammensetzung auf die Membran-Nanopartikel-Interaktion zu studieren.

Um ein möglichst differenziertes Bild zu erhalten, werden diverse unterschiedliche Messmethoden verwendet, welche sich komplementär ergänzen, wie beispielsweise Neutronenreflexions-, Röntgenreflexions- und Ellipsometriemessungen.

2 Physikalische Grundlagen

Um die Oligolipidsysteme zu charakterisieren, können unterschiedliche Messmethoden herangezogen werden. Diese sind, zusammen mit den ihnen zugrunde liegenden physikalischen Prinzipien, in diesem Kapitel erläutert.

2.1 Neutronenreflexion

Die Neutronenreflexion (NR) ist das Herzstück dieser Arbeit und auf ihr fußen die grundlegenden Erkenntnisse. Im Folgenden werden im Unterkapitel 2.1.1 die Vorteile der Methode dargelegt, in Abschnitt 2.1.2 das Grundkonzept skizziert und in Unterkapitel 2.1.3 die für die Arbeit grundlegende Messgröße näher erläutert. Daraufhin wird im Unterkapitel 2.1.4 aufgezeigt, wie die Wiederholeinheitendicke und die Gesamtschichtdicke als wichtige Kenngrößen bereits ohne komplexes Modellsystem aus dem Reflexionsprofil erhalten werden. Im folgenden Abschnitt 2.1.5 wird die Kohärenzlänge beleuchtet, in Unterkapitel 2.1.6 auf die Rauigkeiten eingegangen und in Abschnitt 2.1.7 wird eine weitere, komplexere Messgröße, die nicht-spekulare Reflektivität, thematisiert. In Unterkapitel 2.1.8 wird auf verwendete Neutronenreflektometer wie V6 am Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie (HZB) und Fluid Grenzflächen Streifwinkel Reflektometer (engl.: Fluid Interfaces Grazing Angles ReflectOmeter) (FIGARO) am Institut Laue-Langevin (ILL) eingegangen, während die Ausführungen zur NR mit Abschnitt 2.1.9 zur Prozessierung der Rohdaten am Neutronenreflektometer des HZB (V6) unter Berücksichtigung der Probengeometrie abgeschlossen werden.

2.1.1 Vorteile der Methode

Auf mikroskopischer Ebene können verschiedene Techniken eingesetzt werden, um die Struktur und Eigenschaften von Lipiddoppelschichten zu untersuchen.^[6] An dieser Stelle sei exemplarisch die Dynamische Lichtstreuung (DLS) genannt.^[7] Auf einer viel kleineren Skala als der des mikroskopischen Bereichs - nämlich der Teilchenebene - wird die kernmagnetische Resonanz eingesetzt, um die Beziehungen zwischen der chemischen Struktur und den physikalischen Eigenschaften der verschiedenen Lipide aufzuklären. Im Bereich zwischen den beiden hier aufgeführten Größenskalen - der Teilchenebene und der mikroskopischen Ebene - spielen Neutronen, beispielsweise im Bereich von 10^{-7} m und 10^{-8} m, eine herausragende Rolle hinsichtlich der zerstörungsfreien und aufschlussreichen Charakterisierung des Systems.^[8]

Da diese Methode auch für leichte Elemente empfindlich ist, liegt der einzigartige Vorteil in der Möglichkeit, Isotopensubstitutionen durchzuführen, um die interessanten Teile der untersuchten Systeme hervorzuheben. Hydrogenium und sein schwereres Isotop Deuterium haben zwar ähnliche chemische Eigenschaften, unterscheiden sich

aber stark in ihrer Wechselwirkung mit Neutronen. Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass NR-Messungen Zugang zu vielen unterschiedlichen Informationen bieten.^[8]

2.1.2 Grundkonzept

Zunächst wird allgemein für alle Reflexionsmethoden die Brechung eines Strahls an der Grenzfläche zweier Medien thematisiert. Dieser Fall ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Dabei und in den folgenden Gleichungen gibt α_1 den Einfallswinkel und α_2 den Winkel des gebrochenen Strahls zum Lot an. Des Weiteren n_1 entspricht dem Brechungsindex des Immersionsmedium und n_2 dem Brechungsindex der Probe.^[9, S. 222]

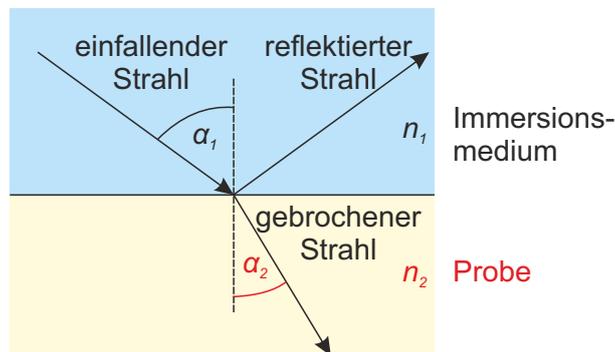


Abbildung 2.1. Abgebildet ist die Brechung gemäß des Snelliusschen Brechungsgesetzes.

Das Snelliussche Brechungsgesetz ist in Gleichung 2.1 dargestellt.^[9, S. 222]

$$\frac{\sin(\alpha_1)}{\sin(\alpha_2)} = \frac{n_2}{n_1} \quad (2.1)$$

Die Reflexions- sowie Transmissionskoeffizienten des einfallenden sowie gebrochenen Strahls ergeben sich aus den Amplitudenverhältnissen. Die Amplitudenvektoren \vec{A} des einfallenden Strahls e , des reflektierten Strahls r und des gebrochenen Strahls g können in parallele Komponenten A_p und senkrechte Komponenten A_s zur Einfallsebene zerlegt werden. Der Transmissionskoeffizient t entspricht dem Verhältnis $\frac{A_g}{A_e}$, während der Reflexionskoeffizient r dem Verhältnis $\frac{A_r}{A_e}$ gleich ist. Diese sind jeweils für den senkrechten und parallelen Fall in den Gleichungen 2.2 - 2.5 dargestellt. Hierfür wird von den Fresnelschen Formeln ausgegangen und die Maxwell-Gleichungen verwendet. Dabei stehen die Indices e für einfallend, r für reflektiert, g für gebrochen sowie s für senkrecht und p für parallel in Bezug auf die Einfallsebene.^[9, S. 222 f.]

$$r_s = \frac{A_{rs}}{A_{es}} = \frac{n_1 \cos(\alpha_1) - n_2 \cos(\alpha_2)}{n_1 \cos(\alpha_1) + n_2 \cos(\alpha_2)} \quad (2.2)$$

$$t_s = \frac{A_{gs}}{A_{es}} = \frac{2 n_1 \cos(\alpha_1)}{n_1 \cos(\alpha_1) + n_2 \cos(\alpha_2)} \quad (2.3)$$

2. Physikalische Grundlagen

$$r_p = \frac{A_{rp}}{A_{ep}} = \frac{n_2 \cos(\alpha_1) - n_1 \cos(\alpha_2)}{n_2 \cos(\alpha_1) + n_1 \cos(\alpha_2)} \quad (2.4)$$

$$t_p = \frac{A_{gp}}{A_{ep}} = \frac{2 n_1 \cos(\alpha_1)}{n_2 \cos(\alpha_1) + n_1 \cos(\alpha_2)} \quad (2.5)$$

Nach dieser allgemeinen Betrachtung wird im Folgenden die Reflexion von Neutronen thematisiert. Hierbei wird der vereinfachte Fall betrachtet, dass ein Neutronenstrahl gemäß des Reflexionsgesetzes - Einfallswinkel gleich Ausfallswinkel - an einer Oberfläche reflektiert wird, sodass dabei ausschließlich spekulare Reflexion auftritt.^[9, S. 221 f.] Der hierbei relevante Impulstransfervektor \vec{q} wird über Abbildung 2.2 und Gleichung 2.6 definiert. Er entspricht der Differenz des Wellenvektors der gestreuten Welle \vec{k}_1 und des Wellenvektors der einfallenden Welle \vec{k}_0 . Sein Betrag ist Gleichung 2.16 zu entnehmen.^{[10, S. 2.1-2][11, S. 2 f.]}

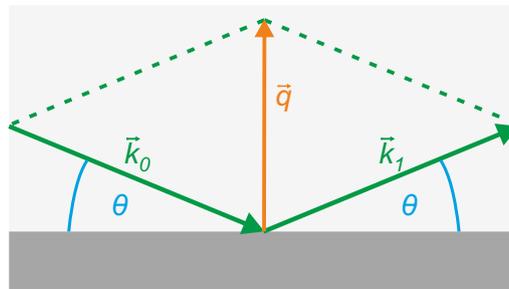


Abbildung 2.2. Der Impulstransfervektor \vec{q} entspricht der Differenz des Wellenvektors der gestreuten Welle \vec{k}_1 und des Wellenvektors der einfallenden Welle \vec{k}_0 mit dem Einfalls- und Ausfallswinkel θ .

$$\vec{q} = \vec{k}_1 - \vec{k}_0 \quad (2.6)$$

Bei einem NR-Experiment ist es in der Regel das Ziel, für ein System die Neutronenreflektivität R in Abhängigkeit von dem Impulstransfervektor \vec{q} senkrecht zur reflektierenden Oberfläche zu messen, wie dies unter Beachtung des Reflexionsgesetzes^[9, S. 221 f.] in Abbildung 2.2 dargestellt ist.^[12] Bei spekularer Reflexion gilt das Reflexionsgesetz, wohingegen sich bei nicht-spekularer Reflexion der Einfalls- und der Ausfallswinkel unterscheiden.

2.1.3 Spekulare Reflektivität

Bei der Modellierung der Daten wird davon ausgegangen, dass sich die Bereiche der zu untersuchenden Strukturen als oberflächenparallele Schichten beschreiben lassen.^{[13][14]} Von der gemessenen Reflektivität kann auf die jeweilige Streulängendichte (SLD) dieser Schichten mit molekularer Auflösung geschlossen werden.^[15] Die SLD charakterisiert das in Unterkapitel 2.1.1 angesprochene unterschiedliche Wechselwirkungspotential von Teilchen mit Neutronen. Dabei ist die Definition der SLD in Abhän-

gigkeit vom Ort $\rho_{SL}(z)$ Gleichung 2.7 zu entnehmen. In Gleichung 2.7 handelt es sich bei b_i um die Streulänge (SL) der Komponente i , die für alle chemischen Elemente experimentell bestimmt werden muss, und bei N_i um die Zahlendichte der Komponente i .^[16]

$$\rho_{SL}(z) = \sum_i b_i \cdot N_i \quad (2.7)$$

Die grundlegende Messgröße bei NR-Experimenten ist die Reflektivität $R(q)$, deren Zusammenhang mit der SLD $\rho(q)$ näherungsweise durch Gleichung 2.8 gegeben ist. Dabei handelt es sich bei $\rho(q)$ um die Fouriertransformierte des SLD-Profiles $\rho_{SL}(z)$.^[17]

$$R(|\vec{q}|) = \frac{16 \cdot \pi^2}{q^2} \cdot |\rho_{SL}(q)|^2 \quad (2.8)$$

Trifft NR-Strahlung auf eine Grenzfläche zweier Medien, deren Brechungsindizes sich unterscheiden, so wird die Strahlung gebrochen und reflektiert. Hierbei ist der Brechungsindex einer Probe n durch die Gleichung 2.9 gegeben.

$$n = 1 - \delta + i \cdot \beta \quad (2.9)$$

In Gleichung 2.9 entspricht δ der Dispersion, während es sich bei β um den Absorptionsfaktor handelt. Für den Fall eines nichtmagnetischen Stoffes ist durch die Gleichung 2.9 der Brechungsindex für Neutronen gegeben. In den meisten Fällen kann der Absorptionsfaktor vernachlässigt werden, sodass $\beta \approx 0$ gilt. In Gleichung 2.10 wird die Dispersion bei Neutronenmessungen δ_{NR} näher beschrieben.

$$\delta_{NR} = \frac{\lambda^2}{2 \cdot \pi} \cdot N_A \cdot \sum_i \frac{\rho_i}{A_i} \cdot b_i \quad (2.10)$$

Hierbei entspricht λ der Wellenlänge der Neutronen, N_A der Avogadrozahl, ρ_i der Masendichte, A_i der Atommasse und b_i der Neutronenstreulänge der Komponente i , welche b_i in Gleichung 2.7 entspricht.^[11, S. 2 ff.]^[18] Die Neutronenstreulänge von Hydrogenium unterscheidet sich dabei grundlegend von der von Deuterium, sodass durch die Deuterierung der Wassermoleküle der Kontrast, d.h. die SLD-Differenz der Komponenten, gezielt variiert werden kann.^[19]

Seit der Publikation von Parratt 1954 wird die Reflektivität eines Systems aus mehreren Lagen ausgehend von den Fresnelschen Formeln rekursiv mithilfe des nach ihm benannten Formalismus berechnet.^[11, S. xi]^[13] Die häufig für die Anpassung von Reflexionsdaten verwendete Analysemethode umfasst die Konstruktion eines Modells. Jede Schicht wird durch ihre SLD und Dicke charakterisiert, welche zur Berechnung eines Modell-Reflexionsprofils verwendet werden. Das berechnete Profil wird mit dem ge-

2. Physikalische Grundlagen

messenen Profil verglichen und die Qualität der Anpassung wird mit Hilfe von χ^2 in der Methode der kleinsten Quadrate bewertet.^[17] Hierbei gilt für χ^2 der in Gleichung 2.11 dargestellte Zusammenhang.^{[14][18]}

$$\chi^2 = \frac{1}{n + 1} \cdot \sum_i \frac{(R_g - R_m)^2}{\sigma_i^2} \quad (2.11)$$

In Gleichung 2.11 handelt es sich bei R_g um die gemessene und bei R_m um die modellierte Reflektivität, σ_i^2 entspricht der Varianz des Messwertes i und n der Anzahl an Messpunkten. Dabei ist die Differenz $R_g - R_m$ entscheidend. Wenn σ_i klein ist, muss auch $R_g - R_m$ klein sein, um χ^2 zu reduzieren. Dies setzt also voraus, dass es eine gute Übereinstimmung des zur Berechnung des Reflexionsprofils verwendeten Modells mit dem gemessenen Profil über den gesamten gemessenen \vec{q} -Bereich gibt. Unter der Annahme, dass eine sehr gute Probenqualität vorliegt, ist die Zählstatistik von $R(|\vec{q}|)$ entscheidend bei der Bestimmung der Genauigkeit, mit welcher ein SLD-Profil erhalten werden kann.^{[11, S. 85 ff., S. 117 ff.][18]}

Die Bestimmung des Fehlers eines angepassten Parameters erfolgt dadurch, dass dieser Parameter bis zu einer 10 - 15 %-igen Erhöhung des χ^2 -Wertes variiert wird. Die daraus resultierende Abweichung des Parameters gibt dann den Fehler des angepassten Parameters an.^[14]

2.1.4 Reflexionsprofil

Wie bereits erwähnt, ist die Reflektivität in Abhängigkeit vom Impulstransfervektor \vec{q} die zentrale Messgröße bei NR-Messungen. Das Reflexionsprofil eines unbeschichteten Siliziumkristalls in schwerem Wasser ist in Abbildung 2.3 unter der Annahme dargestellt, dass das Hintergrundsignal $1 \cdot 10^{-5}$ beträgt.

Für einen flachen Siliziumwafer ergibt sich für den Verlauf von $R(\vec{q})$ für $|\vec{q}| < |\vec{q}_k|$ zunächst ein Plateau, da aufgrund der Totalreflexion $R(|\vec{q}| < |\vec{q}_k|) = 1$ gilt. Ein Abfall für R resultiert erst bei $|\vec{q}| \geq |\vec{q}_k|$, welcher direkt stark ausfällt. Sobald $|\vec{q}| > 3 \cdot |\vec{q}_k|$ ist, resultiert für $R(|\vec{q}|)$ eine $1/|\vec{q}|^4$ -Abhängigkeit.^[11, S. 88 ff.] Die Beziehung zwischen dem kritischen Impulstransfer $|\vec{q}_k|$, dem zugehörigen kritischen Winkel θ_k , der Wellenlänge der Neutronen λ und $\Delta\rho$ ist in Gleichung 2.12 dargestellt. $\Delta\rho$ ist dabei die SLD-Differenz zwischen Vordergrund und Hintergrund,^[15] wobei es sich bei dem Vordergrund in dieser Arbeit um Silizium und beim Hintergrund um schweres Wasser handelt.

$$|\vec{q}_k| = \frac{4 \cdot \pi}{\lambda} \cdot \sin(\theta_k) \approx 4 \cdot \sqrt{\pi \cdot \Delta\rho} \quad (2.12)$$

In dieser Arbeit ist nicht ein unbeschichteter Siliziumkristall von Interesse, sondern die Bilagen, welche sich auf diesem Kristall befinden. Diese können mithilfe von Rotations-

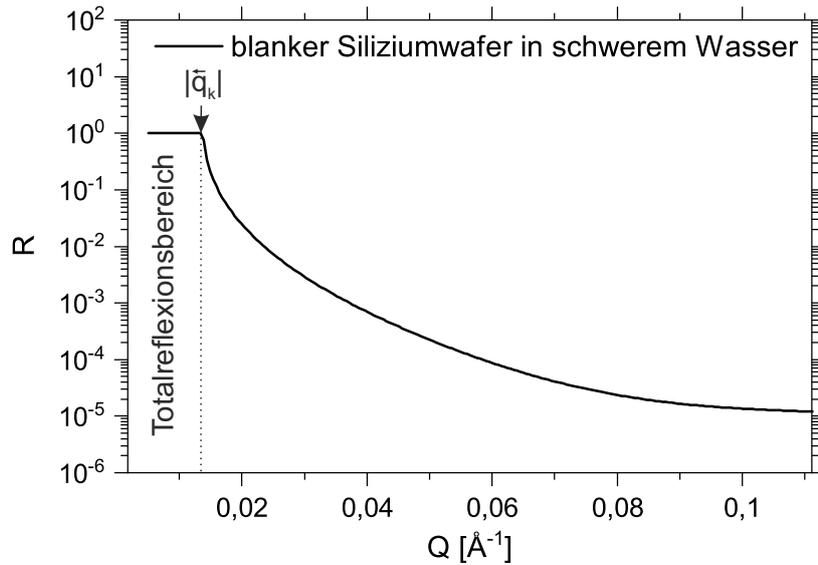


Abbildung 2.3. Dargestellt ist die Neutronenreflektivität eines Siliziumkristalls in Abhängigkeit von dem Impulstransfer in schwerem Wasser unter der Annahme, dass der Hintergrund bei der Messung $1 \cdot 10^{-5}$ beträgt.

beschichtung in Form von Oligolipidbilagen auf das Substrat aufgebracht werden.^[20] Die Reflexionskurve von Mehrschichtsystemen weist aufgrund der Wiederholung von Schichten zusätzliche Charakteristika im Vergleich zu einem Siliziumkristall in Wasser auf. Diese Wiederholung führt zu einer bestimmten Periodizität, in welcher Bragg-Peaks an den Stellen $|\vec{q}_{Bragg\ 1}|$, $|\vec{q}_{Bragg\ 2}|$, etc. im $R(|\vec{q}|)$ -Verlauf auftreten. Dabei gibt $|\vec{q}_{Bragg\ i}|$ die Lage des i -ten Bragg-Peaks an. Die auftretenden Abstände $|\vec{q}_{Bragg\ i+1}| - |\vec{q}_{Bragg\ i}| = \Delta|\vec{q}_{Bragg}|$ sind äquidistant. Da die Position des Bragg-Peaks umgekehrt proportional zum Schichtabstand ist, kann bereits mit der Lage des ersten Bragg-Peaks auf die Dicke der Wiederholeinheit geschlossen werden. Während die Wiederholeinheiten zu periodischen Bragg-Peaks führen, entstehen durch die Gesamtschichtdicke analoge periodische Kiessig-Oszillationen. Der Abstand der Kiessig-Oszillationen $\Delta|\vec{q}_{Kiessig}|$ ist somit umgekehrt proportional zur Gesamtschichtdicke, sodass mithilfe dieser Information unmittelbar auf die Gesamtschichtdicke geschlossen werden kann.^{[20][21]} Der Zusammenhang zwischen $\Delta|\vec{q}_{Bragg}|$ und der Dicke der Wiederholeinheit d_{Wh} ist in Gleichung 2.13 dargestellt, während der Zusammenhang zwischen $\Delta|\vec{q}_{Kiessig}|$ und der Gesamtschichtdicke d_{ges} in Gleichung 2.14 zu sehen ist.^[22] Somit kann auch bereits ohne komplexes Modellsystem die Gesamtschichtdicke und die Wiederholeinheitendicke ermittelt werden. Anhand der Reflexionskurve lässt sich zudem die Rauigkeit, welche im Abschnitt 2.1.6 thematisiert wird, abschätzen.^{[11, S. 106 f.][20]}

$$d_{Wh} = \frac{2 \cdot \pi}{\Delta|\vec{q}_{Bragg}|} \quad (2.13)$$

$$d_{ges} = \frac{2 \cdot \pi}{\Delta |\vec{q}_{Kiessig}|} \quad (2.14)$$

Aufgrund der in diesem Kapitel beschriebenen $1/|\vec{q}|^4$ -Abhängigkeit ist es möglich, die Daten in $R\vec{q}^4$ -Darstellung zu visualisieren, um beispielsweise die Lage der Bragg-Peaks mithilfe einer symmetrischen Funktion anzupassen.

2.1.5 Kohärenzlänge

Es stellt sich die grundlegende Frage, über welchen Bereich die SLD experimentell gemittelt wird. Generell ist die Längenskala, über welche diese Dichte auf die Oberflächennormale projiziert oder gemittelt wird, die Kohärenzlänge. Letztere ist grundsätzlich der maximale Abstand auf der Probe, bei dem Neutronen austreten, welche am Detektor kohärent interferieren. Da die vorhandenen Neutronenquellen nicht phasenkohärent sind, sodass die unterschiedlichen Neutronen keine exakt definierte Phasenbeziehung zueinander haben, kann Interferenz nur zwischen einem Neutron und sich selbst auftreten. Aus der Energieunschärfe $\Delta\lambda$ und der Strahldivergenz $\Delta\theta$ der Strahlungsquelle lässt sich nach der Unschärferelation, wie sie Gleichung 2.15 zu entnehmen ist, die effektive Länge und Breite der Strahlung bestimmen. Folglich kann geometrisch abgeleitet werden, ob ein Neutron mit sich selbst interferieren kann. In Gleichung 2.15 entspricht Δk der Unschärfe des Wellenvektors und Δx der Ortsunschärfe.^[18]

$$\Delta k \cdot \Delta x = 2 \cdot \pi \quad (2.15)$$

Aus der Ortsunschärfe Δx und dem Einfallswinkel θ ergibt sich mithilfe der geometrischen Überlegung in Abbildung 2.4 die Kohärenzlänge L_k .

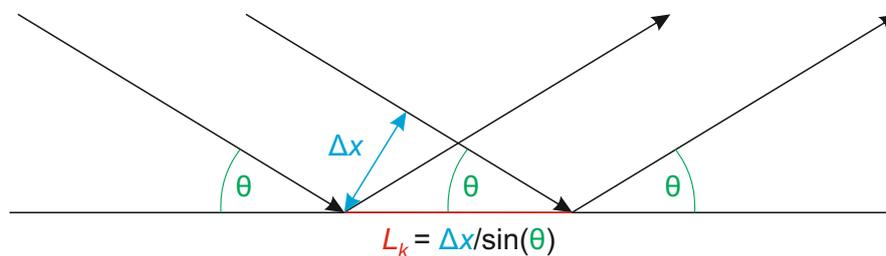


Abbildung 2.4. Dargestellt sind zwei ebene Wellen mit dem Abstand Δx zueinander, die unter dem Winkel θ auf die Probenoberfläche treffen. Auf der Oberfläche beträgt ihr Abstand zueinander $L_k = \frac{\Delta x}{\sin(\theta)}$.

Wie aus dieser Überlegung und aus Gleichung 2.15 hervorgeht, hängt die Kohärenzlänge von einigen Faktoren ab, welche Δk und Δx beeinflussen. Dazu zählen die Wel-

lenlänge der einfallenden Strahlung λ , der Einfallswinkel θ und die Strahldivergenz. Die Divergenz der einfallenden Strahlung wird von den Komponenten des Aufbaus bestimmt. T. P. Russell überschlägt, dass für Neutronen mit einer Wellenlänge von 1 Å und einer Quellendivergenz von 0,005 ° die Unschärfe $\Delta x \approx 6 \cdot 10^3$ Å beträgt. Folglich ergibt sich bei einem Einfallswinkel $\theta = 1$ °, dass $L_k = \frac{\Delta x}{\sin(\theta)} \approx 30$ µm gilt. Somit ist der Bereich, in welchem Informationen zur Modellierung der SLD gesammelt werden, makroskopisch.^[18]

2.1.6 Rauigkeiten

Bis zu diesem Punkt wurde gemäß Gleichung 2.7 die SLD der Komponenten als scharf betrachtet. Nun wird ein genauerer Blick auf die Grenzflächen geworfen, da diese nicht beliebig scharf sind. Dies ist darauf zurückzuführen, dass reale Grenzflächen rau sind.^[23] Die Grenzflächenrauigkeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Schichten kann ebenfalls in das Modell miteinbezogen werden.^[24] Dies gilt auch für die Grenzfläche zwischen den unterschiedlichen Komponenten in Oligolipidbilagen, wie sie in Abbildung 4.15 dargestellt sind. Die Auswirkungen rauer Oberflächen auf die SLD des Modellsystems ist in Abbildung 2.5 skizziert.

Dabei ist es wichtig, zwischen Rauigkeit und Welligkeit einer Grenzfläche zu unterscheiden. Der Unterschied liegt hauptsächlich darin, dass die Welligkeit sich über Bereiche erstreckt, die größer sein können als die Kohärenzlänge, während für die Rauigkeit Krümmungen an den Grenzflächen ausschlaggebend sind, deren Strukturen bedeutend kürzer sind als die Kohärenzlänge der Neutronen. Bei einem Film, der wellig, aber nicht rau, ist und dessen Wellen in seiner Struktur deutlich größer sind als die Kohärenzlänge L_k , sind die Übergänge im SLD-Profil vergleichsweise scharf. Auf der anderen Seite resultiert bei einem rauen Film ein sehr weicher Übergang im SLD-Profil vom Wert in Medium 1 zum Wert in Medium 2, wie dies in Abbildung 2.5 angedeutet ist.^[18]

Da der Unterschied der Streuvektoren in den verschiedenen Medien häufig gering ist, bleibt unklar, welche Grenzfläche mit welcher Rauigkeit in Verbindung zu bringen ist.^[18] Aus diesem Grund werden bei den Anpassungen - wie auch bereits in Abbildung 2.5 - die Rauigkeiten der Komponenten des Oligolipidbilagensystems als gleich angenommen.

Im Allgemeinen führen Oberflächen- bzw. Grenzflächenrauigkeiten zu einer Verringerung des von dieser Grenzfläche ausgehenden Reflexionsvermögens.^[18] Zur Bestimmung der Rauigkeit ist es sinnvoll, in einem breiten Bereich von $|\vec{q}|$ zu messen, da für hohe Werte in $|\vec{q}|$ die Reduktion der Reflektivität $R(|\vec{q}|)$ deutlich stärker ausfällt.^{[11, S. 59 ff.] [18] [25]} Da reale Oberflächen rau sind, ist es sinnvoll, auch für das Modellsystem eine Rauigkeit anzunehmen.^[23]

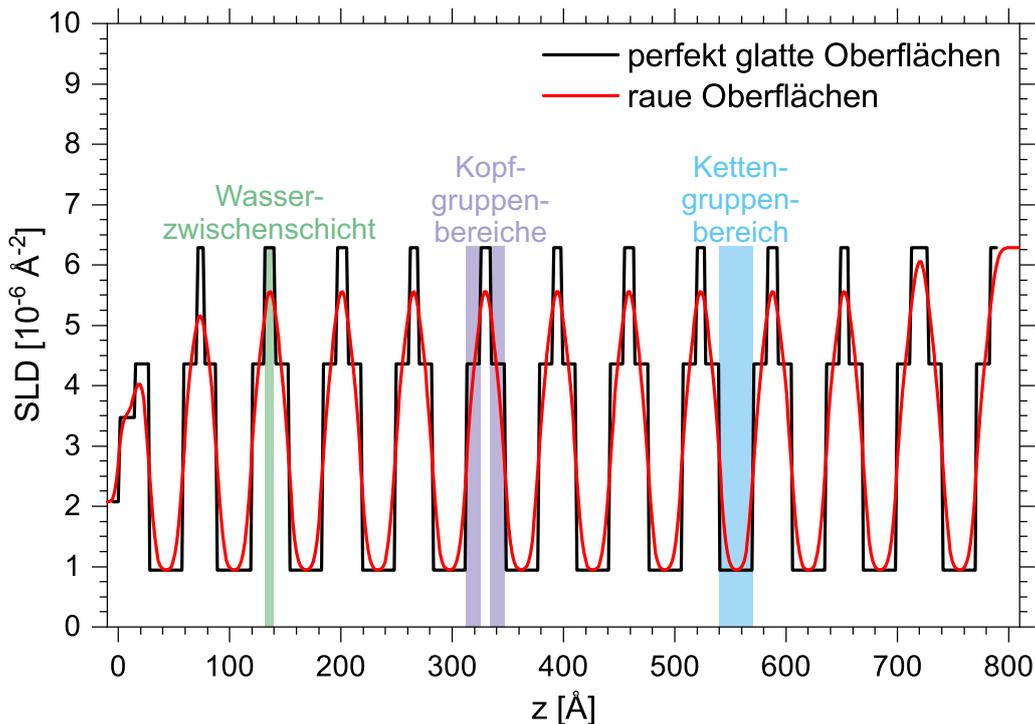


Abbildung 2.5. Dargestellt ist die Auswirkung rauher Oberflächen auf das SLD-Profil in Abhängigkeit vom Abstand zur Siliziumoberfläche z eines einfachen Modellsystems mit zwölf Bilagen in Wasser. Exemplarisch sind jeweils ein Wasser-, zwei Kopfgruppen- und ein Kettengruppenbereich markiert, sodass aus den jeweiligen SLD-Bereichen in Abhängigkeit vom Ort auf die Komponente geschlossen werden kann. Für die Rauigkeiten wurde am Übergang Silizium-Siliziumoxid eine Rauigkeit von 3 \AA und für alle anderen Übergänge eine Rauigkeit von 5 \AA angenommen. Die verwendeten SLD-Werte sind an in der Arbeit erhaltenen Werte angelehnt. Eine vergleichsweise dicke äußerste Wasserzweischenschicht bewirkt bei gleichzeitig hohen Rauigkeiten, dass die im Bereich der äußersten Zwischenschicht erreichte SLD größer ist, als das bei den anderen Zwischenschichten der Fall ist.

2.1.7 Nicht-spekulare Reflektivität

Die bisher besprochene spekulare Reflexion wird durch die mittlere SLD senkrecht zur Grenzfläche bestimmt. Jede räumliche oder zeitliche Schwankung der SLD oder eine Kombination aus beidem führt zu nicht-spekularer oder diffuser Streuung.^[12] Mithilfe der nicht-spekularen Reflektivität können Informationen erhalten werden, die aus den Daten der spekularen Reflexion oder vielen anderen oberflächensensitiven Techniken nicht zugänglich sind. Hierfür sei exemplarisch die Bestimmung des Anlagerungsortes einer weiteren Komponente genannt. Zudem ist es möglich, durch die Kombination der spekularen mit den nicht-spekularen Daten beispielsweise die bei den spekularen Anpassungen erhaltenen Rauigkeiten und Wasseranteile in den Bilagen abzusichern. Dabei ist eine große Herausforderung, dass die theoretische Behandlung der nicht-spekularen Reflexion im Vergleich zum spekularen Signal deutlich komplexer ist. Eine quantitative Analyse ist dennoch möglich und kann verwendet werden, um die Rauigkeit zwischen Schichten zu untersuchen. Die Stärke der Streuung wird durch die im

System vorhandenen Höhenkorrelationen und deren Streuvermögen bestimmt.^[26]

In der Regel wird die imaginäre Streulängendichte (iSLD) $i\rho_{SL}$ mit der Absorption assoziiert, welche ebenfalls zu einer Verminderung der spekularen Reflektivität führt.^[27]

Diese führt dazu, dass die Reflektivität im Totalreflexionsbereich nicht bei eins liegt, wie dies in Abbildung 2.3 für den Siliziumkristall skizziert ist, sondern darunter. In dieser Arbeit wird allerdings mithilfe der iSLD die nicht-spekulare Streuung simuliert. Eben diese Reflektivität im Bereich der Totalreflexion wird in der vorliegenden Arbeit angepasst, indem die iSLD und die Rauigkeit der Modellkomponenten variiert werden. Somit wird die nicht-spekulare Streuung des Systems in den spekularen Daten simuliert.^[28]

2.1.8 Aufbauten

Da der Impulstransfervektor $|\vec{q}|$ von der Wellenlänge λ und dem Probenwinkel θ nach Gleichung 2.16 abhängt, sind unterschiedliche Reflektometeraufbauten denkbar. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten NR-Messungen wurden mit unterschiedlichen Reflektometeraufbauten durchgeführt.

$$|\vec{q}| = \frac{4 \cdot \pi}{\lambda} \cdot \sin(\theta) \quad (2.16)$$

Wie aus Gleichung 2.16 ersichtlich, kann $|\vec{q}|$ entweder durch eine Variation der Wellenlänge λ bei einem festen Winkel θ , wie er in Abbildung 2.2 dargestellt ist, oder durch eine Veränderung von θ bei einer festen Wellenlänge λ ($|\vec{q}|$) gesteuert werden. Bei einem festen Winkel wird ein Flugzeit (engl.: time-of-flight) (TOF)-Reflektometer verwendet, dessen Prinzip darauf beruht, dass die Neutronen unterschiedlicher Wellenlänge für den Weg von der Quelle zum Detektor eine unterschiedliche Zeit benötigen. Beispiele für TOF-Reflektometer war das BioRef am HZB^{[29][30]} - bevor es nach Australien verschifft wurde - und ist FIGARO am ILL in Grenoble.^[31] Der Aufbau Neutronenreflektometer mit horizontaler Streugeometrie (engl.: Neutron reflectometer with horizontal scattering geometry) (D17)^[32] hingegen kann sowohl in Form eines TOF-Reflektometers als auch als Aufbau mit monochromatischer Wellenlänge eingesetzt werden.^[12]

Ein Vorteil von Flugzeitspektrometern besteht darin, dass ein großer $|\vec{q}|$ -Bereich erfasst werden kann, ohne die Probe oder den Detektor zu bewegen. Zudem wird durchgehend ein großer $|\vec{q}|$ -Bereich gemessen, was zwei enorme Vorteile mit sich bringt. So ist es zum einen möglich Kinetikmessungen durchzuführen, da auch beispielsweise innerhalb von einer Minute bei hinreichend hohem Fluss ein Spektrum aufgenommen werden kann. Zum anderen kann binnen kurzer Zeit eruiert werden, ob das System einen Bragg-Peak aufweist und wo sich dieser befindet. Ein weiterer Vorteil ist, dass es mit einem eindimensionalen Detektor einfacher wird, den Beitrag des Hintergrunds und der nicht-spekularen Streuung zur spekularen Reflexion zu bewerten.^[18]

Bei V6 am HZB handelt es sich um ein Reflektometer vom Kristall-Monochromator-Typ einer festen Wellenlänge, da bei der Planung 1985/86 nur eine begrenzte Verfügbarkeit des Strahls gegeben war. Seit das Instrument 1994 mit dem vorgesehenen vollen Fluss in Betrieb gegangen ist, resultierten für V6 Fluss- sowie Signal-zu-Rausch-Verhältnisse, die mit vergleichbaren TOF-Instrumenten konkurrieren oder ihnen sogar überlegen sind.^{[33][34]} Die bei den Messungen instrumentenbedingte Auflösung beträgt an V6 für $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ 2 % - 3 %, während die typischerweise an FIGARO verwendete Auflösung bei 7 % - 10 % liegt und zeigt somit einen Vorteil von V6.

2.1.9 Geometrische Überlegung zur Datenprozessierung

Für die Prozessierung der Rohdaten an V6 wurde nicht auf das bestehende Skript zurückgegriffen, sondern selbst ein Prozessierskript für die unterschiedlichen Winkelbereiche erstellt.

An V6 (Berliner Experimentierreaktor (BER II), HZB) wurden die Rohdaten standardmäßig dergestalt in Reflektivitätswerte überführt, dass die Reflektivität $R(|\vec{q}|) = 1$ für $|\vec{q}| \leq |\vec{q}_k|$ beträgt. Mögliche Verluste durch Absorption oder nicht-spekulare Streuung wurden somit vernachlässigt. In den Auswerteroutinen am ILL werden diese Effekte jedoch standardmäßig berücksichtigt, sodass die erhaltene Reflektivität im Bereich der Totalreflexion nicht bei eins liegen und stattdessen die prozessierten Daten in diesem Bereich eine bedeutend geringere Reflektivität $R(\theta)$ aufweisen. Folglich ist eine Vergleichbarkeit der Messdaten nicht gewährleistet. Aus diesem Grund wurde das Prozessierungsskript für die Messergebnisse an V6 dergestalt verändert, dass die prozessierten Daten vergleichbar wurden. Diese durchgeführten Veränderungen und die damit verbundenen geometrischen Überlegungen zur Ausleuchtung der Probe werden im Anhang in Kapitel A geschildert.

Zusammenfassend ist in Tabelle 2.1 der aus den geometrischen Überlegungen hervorgehende Zusammenhang zwischen der gemessenen reflektierten Intensität I_R , der Intensität in Transmission durch den Kristall I_0 und der Reflektivität $R(\theta_P)$ in Abhängigkeit von dem Probenwinkel θ_P dargestellt.^[35]

Tabelle 2.1. Reflektivität an V6 in Abhängigkeit von dem Probenwinkel θ_P .

Probenwinkel θ_P	Reflektivität $R(\theta_P)$
$\theta_P \leq \arcsin\left(\frac{h_N}{2 \cdot r_k}\right)$	$\frac{I_R}{\frac{r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha)]}{h_N \cdot b} \cdot \sin(\theta_P) \cdot I_0}$
$\arcsin\left(\frac{h_N}{2 \cdot r_k}\right) < \theta_P \leq \arcsin\left(\frac{h_N}{[2 \cdot r_k \cdot \cos(\arcsin[b/(2 \cdot r_k)])]}\right)$	$\frac{I_R}{\frac{r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha) - \beta(\theta_P) + \sin(\beta(\theta_P))]}{h_N \cdot b} \cdot \sin(\theta_P) \cdot I_0}$
$\arcsin\left(\frac{h_N}{[2 \cdot r_k \cdot \cos(\arcsin[b/(2 \cdot r_k)])]}\right) < \theta_P$	$\frac{I_R}{I_0}$

2.2 Röntgenreflexion

Hinsichtlich der Methodik ähneln Messungen mittels Röntgenreflexion (engl.: x-ray reflection) (XRR) stark den NR-Messungen. Das Ziel ist es erneut, das Reflexionsprofil $R(|\vec{q}|)$ aufzunehmen und daraus Rückschlüsse auf die Wiederholeinheitendicke, die Gesamtschichtdicke, die Rauigkeit und auf weitere Charakteristika des Systems zu ziehen. Zunächst werden im Unterkapitel 2.2.1 die Vorteile von XRR-Messungen dargelegt, im folgenden Abschnitt 2.2.2 die Grundprinzipien geschildert und im Unterkapitel 2.2.3 wird auf den verwendeten Aufbau eingegangen.

2.2.1 Vorteile der Methode

Die Strukturaufklärung mit XRR-Messungen erfolgt einem ähnlichen Bereich wie das auch bei den NR-Messungen der Fall ist. Ein enormer Vorteil von Röntgenquellen gegenüber Neutronenquellen ist dabei der hohe Fluss des einfallenden Strahls, sodass Messungen deutlich schneller durchgeführt werden können. Röntgenstrahlen haben jedoch den Nachteil, dass der Röntgenstrahl selbst eine Schädigung der untersuchten Probe verursachen kann. So beobachteten Gkosh *et al.* bei XRR-Messungen und einer Photonenenergie von 70 keV auch nach längerer Exposition keine strahleninduzierte Veränderung in der Struktur von DOPC-Multilagen-systemen, jedoch bereits nach wenigen Sekunden Bestrahlung eine Änderung des Volta-Potentials.^[36] Das Volta-Potential V_V ist dabei über die Energie $V_V \cdot q$ definiert. Diese Energie muss aufgebracht werden, um eine Ladung q aus dem Unendlichen auf eine Oberflächenentfernung von 1 μm des betreffenden Körpers zu bewegen. Durch XRR-Messungen wird demnach das Volta-Potential von Multilagensystemen beeinflusst - was auf eine Änderung der Kopfgruppenorientierung zurückzuführen ist - nicht aber die Struktur, welche mithilfe von XRR-Aufnahmen vermessen wurde.^[37, S.26 f.]

Ein weiterer Vorteil ist, dass keine Großforschungseinrichtung benötigt wird, um Messungen durchzuführen. Bei der Untersuchung weicher Materie ist es - im Gegensatz zu NR-Messungen - nicht möglich, den Kontrast einfach durch Isotopenvariation zu variieren. Da die beiden Reflexionstechniken unterschiedliche Kontraste der jeweiligen Komponenten zueinander aufweisen, ergänzen sich XRR-Messungen und NR-Messungen an derselben Probe ideal.^[18] Bei XRR-Messungen ist der Kontrast zwischen den Lipiden und der wässrigen Phase nur schwach, wobei hingegen der Kontrast von Goldnanopartikel (AuNP) sowohl zum Lösungsmittel als auch zu den Lipiden sehr hoch ist.^[19]

Alles in allem liefern die beiden Messmethoden voneinander unabhängige Informationen, die Aufschluss bei der Interpretation der Ergebnisse geben können.^[18] Eine weitere Herausforderung bei XRR-Messungen ist, dass die Transmission der Strahlung durch Wasser sehr gering ist. Sie ist besonders niedrig bei geringen Photonenenergi-

en.^[38] Diesem Umstand wird dadurch Rechnung getragen, dass eine vergleichsweise schmale Messzelle verwendet wird und anstelle einer üblichen Kupferquelle mit einer charakteristischen Röntgenstrahlung von 8,042 keV Molybdän mit einer charakteristischen Röntgenstrahlung von 17,445 keV als Quelle dient.^[19] XRR-Messungen können mit einer Vielzahl von Quellen durchgeführt werden. Je nach Quelle liegt der Wellenlängenbereich des einfallenden Strahls bei einem bis zu mehreren hundert Å.^{[18][39]}

2.2.2 Grundkonzept

Während Neutronen mit den Kernen wechselwirken und ihre Streuquerschnitte daher isotopenspezifisch sind, interagiert Röntgenstrahlung mit der Elektronenhülle von Atomen, sodass der Streuquerschnitt weitgehend proportional zur Ordnungszahl Z ist.^[40] Der Brechungsindex von XRR-Messungen lässt sich analog zum Brechungsindex von NR-Messungen nach Gleichung 2.9 berechnen, wobei die beiden Größen δ_{XRR} in Gleichung 2.17 und β_{XRR} in Gleichung 2.18 bestimmt werden.

$$\delta_{XRR} = \frac{r_0 \cdot \lambda^2}{2 \cdot \pi} \cdot N_A \cdot \sum_i \frac{\rho_i}{A_i} \cdot (Z_i + f') \quad (2.17)$$

$$\beta_{XRR} = \frac{r_0 \cdot \lambda^2}{2 \cdot \pi} \cdot N_A \cdot \sum_i \frac{\rho_i}{A_i} \cdot f'' \quad (2.18)$$

In den Gleichungen 2.17 und 2.18 handelt es sich bei N_A um die Avogadrozahl, bei r_0 um den klassischen Elektronenradius, bei λ um die Wellenlänge und bei ρ_i um die Dichte des Elements i mit der Atommasse A_i und der Ordnungszahl Z_i , während es sich bei f' und f'' um den realen (Dispersion) bzw. den imaginären (Absorption) Dispersionsfaktor handelt.^[18]

Wie aus Gleichung 2.17 hervorgeht, unterscheidet sich bei Röntgenreflektometrie die Interaktion der Strahlung mit der Materie im Gegensatz zur Neutronenreflektometrie nicht mehr für unterschiedliche Isotope, sodass durch die Wahl der Isotopen die SLD nicht variiert werden kann und daher mit den gegebenen SLD gearbeitet werden muss. Aufgrund der hohen Ordnungszahl von Gold Z_{Au} resultiert eine hohe SLD, sodass der Kontrast zu den Lipidfilmen deutlich höher ist, als das bei den NR-Messungen der Fall ist.

2.2.3 Aufbau

Aufgrund der Verwendung charakteristischer Röntgenstrahlung handelt es sich um einen monochromatischen Aufbau. Die Messmethode ist analog zu monochromatischen NR-Messungen, wie sie in Kapitel 2.1.8 beschrieben sind. Der Aufbau befindet

sich am Karlsruher Institut für Technologie (KIT).

2.2.4 Geometrische Überlegung zur Datenprozessierung

Analog zu Kapitel 2.1.9 und A wird auch für die XRR-Messungen das Prozessierskript erstellt. Aufgrund der rechteckigen Geometrie der XRR-Proben ist das Prozessieren der XRR-Daten vergleichsweise einfach. Während in Kapitel A die Länge des Kristalls $2 \cdot r_k$ entspricht, ist die Länge der XRR-Probe L_{XRR} . Anstelle der Höhe des Neutronenstrahls h_N ist an dieser Stelle die Höhe des Röntgenstrahls h_{XRR} entscheidend. Aufgrund der Probengeometrie entfällt der in Kapitel A diskutierte zweite Fall. Die Ergebnisse der Tabelle 2.1 lassen sich für die XRR-Messungen direkt in Tabelle 2.2 überführen.

Tabelle 2.2. Reflektivität bei den XRR-Messungen in Abhängigkeit von dem Probenwinkel θ_P .

Probenwinkel θ_P	Reflektivität $R(\theta_P)$
$\theta_P \leq \arcsin\left(\frac{h_{XRR}}{L_{XRR}}\right)$	$\frac{I_R}{\frac{L_{XRR}}{h_N} \cdot \sin(\theta_P) \cdot I_0}$
$\arcsin\left(\frac{h_{XRR}}{L_{XRR}}\right) < \theta_P$	$\frac{I_R}{I_0}$

Bei der Justage der XRR-Proben wurde eine große Diskrepanz bei den erhaltenen Reflektivitäten für dieselbe Probe im Bereich der Totalreflexion festgestellt. Um die Unabhängigkeit der Reflektivität von der Justage der Probe zu gewährleisten, werden die erhaltenen Messdaten normiert, sodass die Reflektivitäten für Winkel unterhalb des kritischen Probenwinkels $\theta_{P\ k} = \arcsin\left(\frac{h_{XRR}}{L_{XRR}}\right)$ eins betragen. Somit werden bedeutend höhere Reflektivitäten im Bereich der Totalreflexion erhalten, was dazu führt, dass bei den Anpassungen der XRR-Daten keine iSLD verwendet werden können, um die nicht-spekulare Streuung zu simulieren.

2.3 Ellipsometrie

Die Spektroskopische Ellipsometrie (SE) eignet sich, um zerstörungsfrei dünne adsorbierte Filme auf Festkörpern und Flüssigkeitsoberflächen zu untersuchen. In der Regel und in dieser Arbeit ist das Ziel der Messung, die Gesamtschichtdicke und den Brechungsindex des Systems zu bestimmen. Dabei liegt dem Messprinzip die Polarisationsänderung bei der Reflexion von Licht an einer Oberfläche zugrunde. Namensgebend ist hierbei die Verwendung elliptisch polarisierten Lichtes. Durch SE-Messungen können die in Abbildung 2.6 dargestellte Schichtdicke d und der Brechungsindex n_2 abgeleitet werden. Der Zusammenhang zwischen den Messgrößen und den abgeleiteten Größen ist den folgenden theoretischen Überlegungen zu entnehmen.^[41]

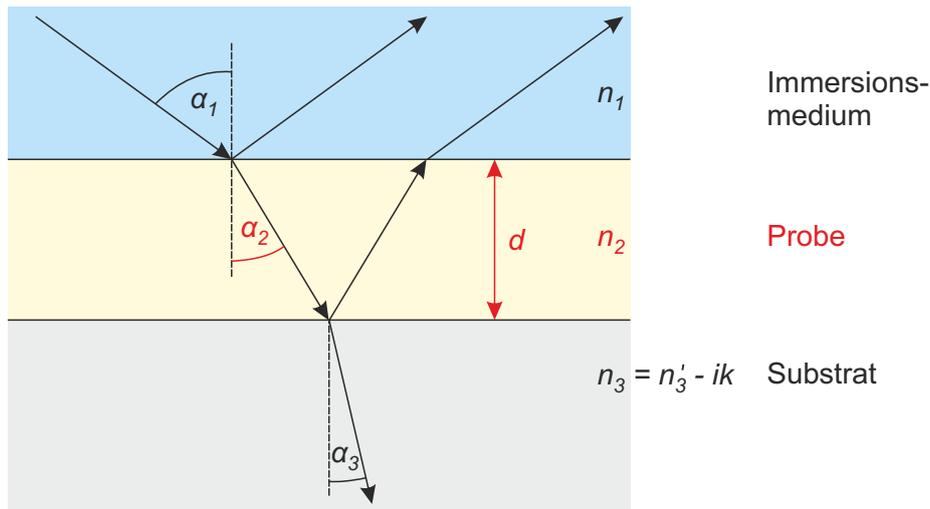


Abbildung 2.6. Reflexion von polarisiertem Licht an einer substratgebundenen Probe. Die Brechungsindizes des Immersionsmediums und der Probe werden als real und nur der Brechungsindex des Substrats als komplex angenommen, da davon ausgegangen wird, dass nur der ins Substrat eindringende Strahl absorbiert wird. Der Winkel α_1 beträgt beispielsweise für das hausinterne Ellipsometer zum Lot $75,0^\circ$.

Unter der Annahme einer planaren Oberfläche mit einem planparallelen, homogenen und isotropen Film können Zusammenhänge zwischen den Parametern abgeleitet werden. Die Brechungsindizes des Immersionsmediums und des Films werden als real angenommen, während der Brechungsindex des Substrats als komplex betrachtet wird.^[41]

Die Gesamtreflexionskoeffizienten R^p und R^s resultieren aus den Fresnelschen Reflexionskoeffizienten an der Grenzfläche Substrat-Film r_{12} und der Grenzfläche Film-Medium r_{23} und der Phasenverzögerung D . Der parallele Gesamtreflexionskoeffizient R^p ist in Gleichung 2.19 sowie der senkrechte Gesamtreflexionskoeffizient R^s in Gleichung 2.20 dargestellt, wobei der Zusammenhang zwischen der Schichtdicke d und der Phasenverzögerung D in Gleichung 2.21 dargestellt ist. Dabei handelt es sich bei λ um die Wellenlänge und bei ϕ um den Brechungswinkel. Die Basisgleichung der Ellipsometrie ergibt sich durch die Bildung des Quotienten aus den beiden Gesamtreflexionskoeffizienten, wie sie in Gleichung 2.22 dargestellt ist. Dabei handelt es sich bei der Messgröße Ψ um das Amplitudenverhältnis der beiden linear polarisierten Komponenten des Lichtes und bei der Messgröße Δ um die Phasendifferenz.^[41]

$$R^p = \frac{r_{12}^p + r_{23}^p \cdot \exp(-iD)}{1 + r_{12}^p \cdot r_{23}^p \cdot \exp(-iD)} \quad (2.19)$$

$$R^s = \frac{r_{12}^s + r_{23}^s \cdot \exp(-iD)}{1 + r_{12}^s \cdot r_{23}^s \cdot \exp(-iD)} \quad (2.20)$$

$$d = \frac{D \cdot \lambda}{4 \cdot \pi \cdot n_2 \cdot \cos(\alpha_2)} \quad (2.21)$$

$$\rho = \frac{R^p}{R^s} = \tan(\Psi) \cdot \exp(i\Delta) \quad (2.22)$$

Zur Anpassung der Messdaten wird der Brechungsindex des Oligolipidbilagensystems mithilfe des Cauchy-Modells angepasst. Der Brechungsindex in Abhängigkeit von der Wellenlänge $n_2(\lambda)$ gemäß des Cauchy-Modells ist in Gleichung 2.23 dargestellt. [42, S. 9-304 ff.] [43]

$$n_2(\lambda) = A_n + \frac{B_n [\mu\text{m}^2]}{\lambda^2} + \frac{C_n [\mu\text{m}^4]}{\lambda^4} \quad (2.23)$$

In Gleichung 2.23 ist die allgemeine Form dargestellt, in der Arbeit wird jedoch $C_n = 0$ angenommen, da bereits mit den Parametern A und B eine sinnvolle Anpassung der Messdaten möglich ist und bei den verwendeten Systemen für die Anpassungen in der Regel $\Delta C_n > C_n$ resultierte. Folglich wird die Wellenlängenabhängigkeit des Brechungsindex ausschließlich durch den Parameter B_n beschrieben.

Der Messbereich bei SE-Messungen liegt zwischen monomolekularen Schichten hin bis zu Dicken von mehreren 100 nm. [44]

2.4 Rasterkraftmessungen

Mithilfe der Rasterkraftmikroskopie (engl.: atomic force microscopy) (AFM) ist es möglich, die Oberflächenstruktur zu untersuchen. [45] Dabei wird eine sehr feine Messspitze im Bereich der Nahfeldwechselwirkung über eine Oberfläche bewegt. Währenddessen wechselwirkt die Messspitze mit dem Nahfeld der Probenoberfläche. Die Wechselwirkungspotentiale liegen hierbei im Bereich von circa 1 meV bis zu 10 eV. [46, S. 16 f.] Der generelle Aufbau ist in Abbildung 2.7 skizziert.

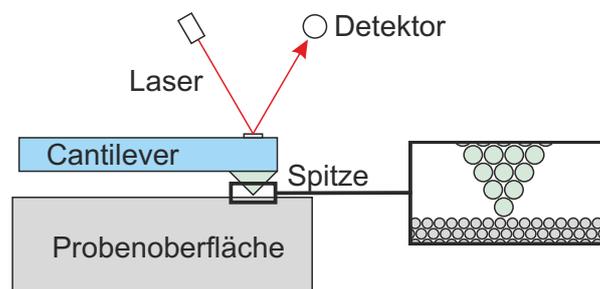


Abbildung 2.7. Skizze des Messprinzips eines AFM-Aufbaus mit Probenoberfläche, welche durch eine Spitze im Bereich des Nahfeldes untersucht wird. Die Cantileverauslenkung wird dabei mithilfe eines Lasers bestimmt.

Es sind unterschiedliche Messmodi möglich. So kann im Kontaktmodus auf verschiedene Arten die Probentopographie bestimmt werden. Zum einen kann mit konstanter Höhe gearbeitet werden, bei welcher die Auslenkung des Biegebalken (Cantilevers),

an welchem die Messspitze befestigt ist, aufgezeichnet wird. Zum anderen kann mithilfe eines Rückkopplungsregelkreises eine konstante Auslenkung des Cantilevers aufrechterhalten werden. Im intermittierenden Modus (tapping mode) wird die Amplitude und die Phase des Cantilevers nahe der Resonanzfrequenz überwacht. Bei Kontakt mit der Probe wird eine Kraft auf die extern angeregte Sonde ausgeübt. Dies führt zu einer Verschiebung der Resonanzfrequenz und der Schwingungsamplitude des Cantilevers bei den Frequenzen nahe der Resonanzfrequenz. Dadurch ist eine empfindliche Rückkopplung gegeben, wodurch sich das Verfahren für weiche Materie eignet. Im Kontaktmodus resultiert ein Drehmoment auf den Cantilever, welches mithilfe der Messung der Position des Cantilevers durch Aufnehmen der Laserposition am Photodetektor bestimmt werden kann.^[47]

2.5 Dynamische Lichtstreuung

Clark *et al.* zeigten, dass es möglich ist, mithilfe von Lichtstreuung die Brownsche Molekularbewegung von Teilchen zu untersuchen.^[48] Das Ziel der DLS-Messungen ist die Bestimmung des hydrodynamischen Radius von Partikeln. Der hydrodynamische Radius stellt den Radius des Partikels inklusive dessen Hydrathülle dar. Die theoretischen Grundlagen für die Dynamische Lichtstreuung (DLS) soll im Folgenden dargelegt werden.

Bei DLS-Messungen wird die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts analysiert. Die normierte Autokorrelationsfunktion der Intensität des gestreuten Lichts $g^{(2)}(\tau)$ bei einer gegebenen Verzögerungszeit τ ist durch den in Gleichung 2.24 dargestellten Zusammenhang gegeben.^[49]

$$g^{(2)}(\tau) = \frac{\langle I(t) \cdot I(t + \tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (2.24)$$

Dabei gibt I die Intensität und t die Zeit an. In den meisten Fällen kann die Intensitäts-Intensitäts-Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ auch durch die Feld-Feld-Autokorrelationsfunktion $g^{(1)}(\tau)$ ausgedrückt werden, wie dies in Gleichung 2.25, auch als Siegert-Gleichung bezeichnet, dargestellt ist.

$$g^{(2)}(\tau) = B + \beta \cdot [g^{(1)}(\tau)]^2 \quad (2.25)$$

Hierbei entspricht B dem Grenzwert für große Zeiten für $g^{(2)}(\tau)$, der theoretisch eins sein sollte, in der Praxis sich jedoch um etwa 10^{-4} von eins unterscheidet. Der Faktor β ist von der Geometrie des Aufbaus abhängig. $g^{(1)}(\tau)$ wird in Gleichung 2.26 definiert.

$$g^{(1)}(\tau) = \frac{\langle E(t) \cdot E^*(t + \tau) \rangle}{\langle E(t) \cdot E^*(t) \rangle} \quad (2.26)$$

Dabei handelt es sich bei \vec{E} um das gestreute elektrische Feld. Für monodisperse Partikel in einer Lösung fällt $g^{(1)}(\tau)$ exponentiell ab, wie dies Gleichung 2.27 entnommen werden kann.

$$g^{(1)}(\tau) = \exp(-\Gamma \cdot \tau) \quad (2.27)$$

In Gleichung 2.27 handelt es sich bei Γ um die Abklingzeit, deren Zusammenhang zum intensitätsgewichteten Diffusionskoeffizient D und zum Streuvektor \vec{q} in Gleichung 2.28 dargestellt ist.

$$\Gamma = D \cdot \vec{q}^2 \quad (2.28)$$

Die Größe des Streuvektors $|\vec{q}|$ ist Gleichung 2.29 zu entnehmen. Der Betrag $|\vec{q}|$ wird in dieser Arbeit synonym zu Q verwendet. Hierbei handelt es sich bei n_L um den Brechungsindex des Lösungsmittels, bei λ um die Wellenlänge des verwendeten Lichts und bei θ um den Winkel relativ zum Einfallswinkel, bei welchem die Intensität gemessen wird.

$$Q = |\vec{q}| = \frac{4 \cdot \pi \cdot n_L}{\lambda} \cdot \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.29)$$

In Gleichung 2.30 beschreibt die Stokes-Einstein-Relation, wie der Diffusionskoeffizient D mit dem hydrodynamischen Radius r_H des Partikels zusammenhängt. Diesen zu bestimmen ist das Ziel der Messung. Zudem handelt es sich in Gleichung 2.30 bei k_B um die Boltzmannkonstante, T bezeichnet die Temperatur und η die Viskosität.

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_H} \quad (2.30)$$

Für polydisperse Proben kann $g^{(1)}(\tau)$ nicht mehr durch ein einziges exponentielles Abklingen beschrieben werden, wie es in Gleichung 2.27 dargestellt ist. Folglich ist es notwendig, die Zeitabhängigkeit als Integral zu formulieren, wie das in Gleichung 2.31 der Fall ist.^[50]

$$g^{(1)}(\tau) = \int_0^\infty G(\Gamma) \cdot \exp(-\Gamma \cdot \tau) d\Gamma \quad (2.31)$$

Hierbei handelt es sich bei G um die Verteilung der Abklingzeiten.

Es gibt unterschiedliche Ansätze, D zu bestimmen.^[51] Dabei wird zwischen dem Ansatz der monomodalen Verteilung und der nicht-monomodalen Verteilung unterschieden.^[52] Relevant ist hierbei, dass bei einer monomodalen Verteilung die kumulative Methode bei der Auswertung verwendet werden kann. Diese ist bei Polydispersitätsindex (PDI)-Werten von unter 0,4 sinnvoll. Dabei gibt der PDI die Polydispersität einer Lö-

sung an, wobei ein PDI von unter 0,4 angibt, dass die Lösung für diesen Zweck hinreichend monodispers ist. Für den Fall, dass der PDI 0,4 übersteigt, sollte aufgrund der Polydispersität der contin-Algorithmus verwendet werden, um der nicht-monomodalen Verteilung Rechnung zu tragen.^[53]

2.6 Zetapotential

Bewegt sich ein Teilchen in einem elektrischen Feld, so bewegen sich auch Ionen an der Oberfläche des Teilchens mit ihm mit. Das Potential an der Grenzfläche, ab welcher die Ionen nicht mehr an das Teilchen fest gebunden sind und sich nicht mehr mitbewegen, nennt sich ζ -Potential. In Abbildung 2.8 ist es zudem visualisiert.^{[54][55]}

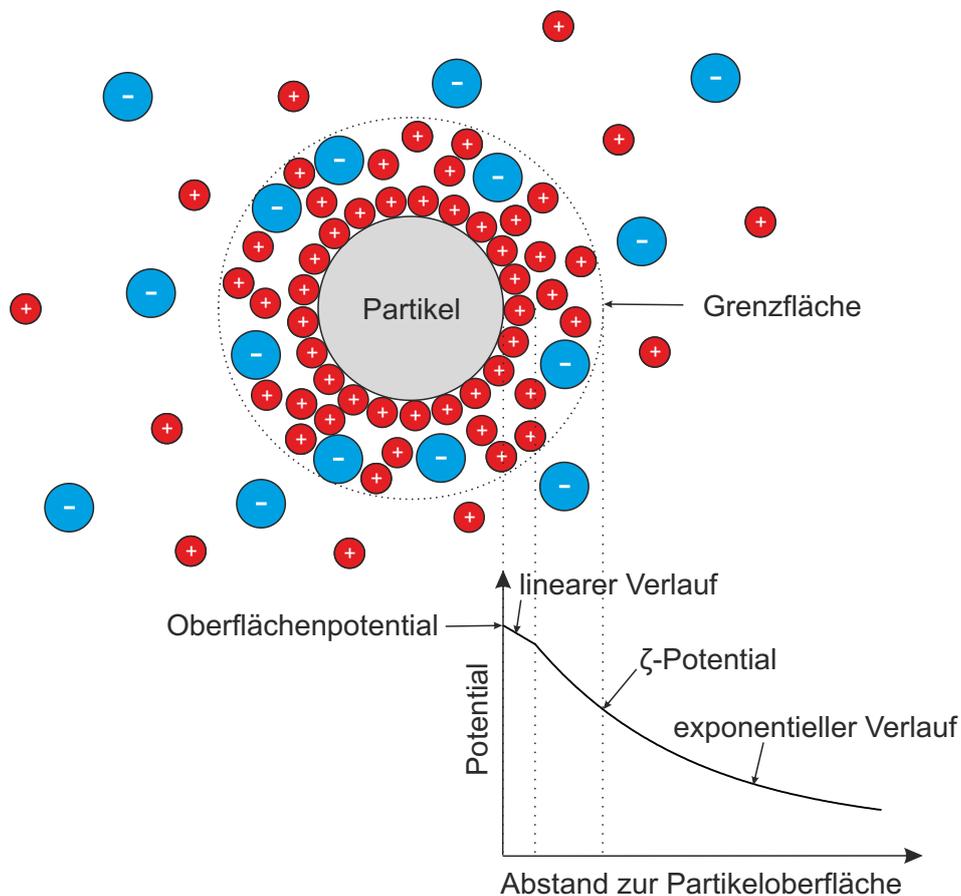


Abbildung 2.8. Schematische Darstellung eines Partikels in einer wässrigen Lösung mit der Grenzfläche, ab welcher die Ionen nicht mehr an das Teilchen fest gebunden sind. Dabei ist das Potential an jener Grenzfläche das ζ -Potential.

Es kann nicht direkt bestimmt werden und wird daher indirekt abgeleitet. Hierfür wird mithilfe der gemessenen Geschwindigkeit \vec{v} eines geladenen Teilchens in einem angelegten elektrischen Feld \vec{E} die elektrophoretischen Mobilität μ_e gemäß Gleichung 2.32 abgeleitet. Das Messprinzip der Geschwindigkeit \vec{v} beruht auf dem Dopplereffekt.

$$\mu_e = \frac{|\vec{v}|}{|\vec{E}|} \quad (2.32)$$

In Gleichung 2.33 - der Henry-Gleichung - ist der Zusammenhang zwischen der elektrophoretischen Mobilität μ_e und dem ζ -Potential dargestellt. Dabei handelt es sich bei ϵ_r um die stoffabhängige Permittivitätszahl, bei ϵ_0 um die elektrische Feldkonstante, bei η um die Viskosität und bei $f(\kappa \cdot a)$ um die Henry-Funktion, die von dem Radius des Teilchens a und der Debye-Konstante κ abhängt.

$$\mu_e = \frac{2}{3} \cdot \frac{\epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta \cdot f(\kappa \cdot a)}{\eta} \quad (2.33)$$

Im Grenzfall, dass der Radius der Partikel groß ist im Vergleich zur Abschirmlänge κ^{-1} und somit $a \gg \kappa^{-1}$ gilt, nimmt die Henry-Funktion den Wert 1,5 an und aus Gleichung 2.33 resultiert die in Gleichung 2.34 dargestellte Helmholtz-Smoluchowski-Gleichung.

$$\mu_e = \frac{\epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta}{\eta} \quad (2.34)$$

Dies ist bei hohen Salzkonzentrationen (10^{-2} M) und Partikeln in der Größenordnung von $1 \mu\text{m}$ der Fall. Im Grenzfall, dass der Radius der Partikel klein ist im Vergleich zur Abschirmlänge $a \ll \kappa^{-1}$, nimmt die Henry-Funktion den Wert eins an und aus Gleichung 2.33 resultiert die in Gleichung 2.35 dargestellte Hückel-Gleichung.

$$\mu_e = \frac{2}{3} \cdot \frac{\epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta}{\eta} \quad (2.35)$$

Dies ist für niedrige Salzkonzentrationen in der Größenordnung 10^{-5} M und darunter sowie Partikel kleiner als 100 nm der Fall.^{[51][53][56]}

2.7 Strömungspotential

Bei Strömungspotentialmessungen kann ebenfalls das Zeta-Potenzial gemessen werden, wobei hier die Bestimmung aus dem gemessenen Druckabfall und dem gemessenen Strömungspotential entlang eines einzelnen Kapillarrohrs mit kreisförmigem Querschnitt erfolgt. An der Phasengrenze zur Flüssigkeit kommt es zur Ausbildung einer Doppelschicht mit Ionen und Gegenionen.^[57, S. 394 f.] Wenn eine Flüssigkeit ohne ein angelegtes elektrisches Feld unter hydrostatischem Druck durch einen Kanal gepresst wird, werden die überschüssigen Gegenionen in der diffusen Schicht der elektrochemischen Doppelschicht von der Flüssigkeit mitgerissen und fließen stromabwärts, wobei sie einen elektrischen Strom, den sogenannten den Strömungsstrom (engl.: streaming current), bilden. Der Strömungsstrom I_S wird durch Gleichung 2.36 beschrieben.

$$I_S = \int_{A_C} |\vec{v}| \cdot \rho_e \cdot dA_c \quad (2.36)$$

In Gleichung 2.36 entspricht A_c dem Querschnitt des Kapillarrohrs, \vec{v} der Geschwindigkeit des Fluids und ρ_e der Nettoladungsdichte pro Volumeneinheit. Für eine Flüssigkeit, die durch ein zylindrisches Kapillarrohr mit dem Radius R im stationären Zustand fließt, ergibt sich der Betrag der lokalen Geschwindigkeit $|\vec{v}|$ der Flüssigkeit durch die Anwendung des Gesetzes von Hagen-Poiseuille, wie es in Gleichung 2.37 dargestellt ist.

$$|\vec{v}(r)| = \frac{\Delta p (R^2 - r^2)}{4 \cdot \eta \cdot L} \quad (2.37)$$

In Gleichung 2.37 entspricht r dem Abstand der Flüssigkeit von der Mitte der Kapillare, Δp dem Druckabfall entlang der Kapillare, η der Viskosität der Flüssigkeit und L der Länge der Kapillare. Die Verteilungen der Ionen und des elektrischen Potentials in der elektrochemischen Doppelschicht können durch Lösung der Poisson-Boltzmann-Gleichung bestimmt werden. Wird anstelle des allgemeinen Falls berücksichtigt, dass die Messungen in einem symmetrischen Elektrolyten durchgeführt werden, vereinfacht sich die Überlegung. Bei symmetrischen Elektrolyten gilt, dass die Ionenladungen $\pm q$ betragen.^[58] In diesem Fall ist die lokale Nettoladungsdichte pro Volumeneinheit ρ_e an jedem Punkt der Lösung proportional zum Konzentrationsunterschied zwischen Kationen und Anionen. Sie wird durch die Boltzmann-Gleichung in Gleichung 2.38 beschrieben.

$$\rho_e = z \cdot e \cdot (n_+ - n_-) = -2 \cdot z \cdot e \cdot n_0 \cdot \sinh\left(\frac{z \cdot e \cdot \Psi}{k_B \cdot T}\right) \quad (2.38)$$

In Gleichung 2.38 beschreibt z die Wertigkeit der Ionen, e die Elementarladung, k_B die Boltzmannkonstante, T die absolute Temperatur, Ψ das Potential der elektrochemischen Doppelschicht und n die Ionenkonzentration. Der Ausdruck für die lokale Nettoladungsdichte ρ_e von Gleichung 2.36 kann durch die Gleichung 2.38 ersetzt werden. Wenn man sich vergegenwärtigt, dass die lokale Nettoladungsdichte nicht nur im Bereich der elektrochemischen Doppelschicht, d. h. nicht nur in einem dünnen Bereich nahe der Kanalwand, gleich Null ist und dass das Potential der elektrochemischen Doppelschicht an der Kanalwand näherungsweise dem ζ -Potential entspricht, kann man zeigen, dass der Strömungsstrom I_S durch die zylindrische Kapillare I_S durch Gleichung 2.39 gegeben ist, wobei ϵ die Dielektrizitätskonstante darstellt.

$$I_S = \frac{\epsilon \cdot \zeta \cdot \pi \cdot R^2 \cdot \Delta p}{\eta \cdot L} \quad (2.39)$$

Das Strömungspotential erzeugt einen Leitungsstrom in umgekehrter Richtung. Unter Berücksichtigung der zylindrischen Geometrie ist der Leitungsstrom I_Z Gleichung 2.40 zu entnehmen.

$$I_Z = \frac{\pi \cdot R^2 \cdot \lambda_F \cdot E_S}{L} \quad (2.40)$$

In Gleichung 2.40 beschreibt λ_F die Leitfähigkeit des Fluids und E_S das Strömungspotential. Im stationären Zustand sollte der elektrische Nettostrom gleich Null sein, d. h. $I_S + I_Z = 0$. Unter dieser Bedingung ergibt sich Gleichung 2.41.

$$\zeta = \frac{\eta \cdot \lambda_F \cdot E_S}{\epsilon \cdot \Delta p} \quad (2.41)$$

Wie aus Gleichung 2.41 ersichtlich ist, kann durch die Messung des Strömungspotentials E_S und des Druckabfalls Δp sowie bei Kenntnis der Fluideigenschaften das ζ -Potential bestimmt werden.^[59, S. 618 ff.]

Durch die ζ -Potentialbestimmung eines Systems in Abhängigkeit von dem pH-Wert kann auf den pH-Wert geschlossen werden, bei welchem das ζ -Potential null beträgt. Dieser pH-Wert entspricht dem isoelektrischen Punkt.^[5, S. 88]

2.8 Schwingquarzmikrowaage mit Dämpfungsmessung

Ein piezoelektrischer Quarzkristallresonator ist ein präzise geschnittenes, dünnes Plättchen aus einem Quarzkristall. Dabei muss das Quarzkristallplättchen in einer bestimmten Ausrichtung in Bezug auf die Kristallachsen geschnitten werden. Eine solche Schwingquarzmikrowaage besteht aus einer dünnen Quarzscheibe mit darauf angebrachten Elektroden. Durch das Anlegen eines externen elektrischen Potentials an das piezoelektrische Material wird eine innere mechanische Spannung erzeugt. Da der Schwingquarz piezoelektrisch ist, wird durch ein oszillierend angelegtes elektrisches Feld eine Verformung und somit eine akustische Welle erzeugt, die sich durch den Kristall ausbreitet. Eine stehende Welle kann sich dabei ausbilden, wenn die Dicke des Kristalls ein Vielfaches der halben Wellenlänge der akustischen Welle beträgt. Dies ist bei der Resonanzfrequenz der Fall. Eine Schwingquarzmikrowaage ist damit eine Schermodusapparatur, bei der sich die akustische Welle in einer Richtung senkrecht zur Kristalloberfläche ausbreitet. Eine Resonanzschwingung wird erhalten, indem der Kristall in einem Schwingkreis eingebaut wird, wobei die angelegte Schwingung im Bereich der Grundfrequenz des Kristalls liegt. Die Schwingfrequenz ist dabei von der Dicke, Dichte und dem Schermodul des Quarzes und den physikalischen Eigenschaften der angrenzenden Medien - wie der Dichte und Viskosität - abhängig.^[60]

Mithilfe dieses Aufbaus kann die Schwingfrequenz sehr genau bestimmt werden. Bei

2. Physikalische Grundlagen

Messungen kann somit zuverlässig festgestellt werden, in welcher Form das System durch beispielsweise die Adsorption von Substanzen beeinflusst wird. Für den Fall, dass das auf dem Sensor adsorbierte Material einheitlich und starr ist, können die erhaltenen Daten mithilfe des Sauerbrey^[61]-Modells ausgewertet werden.^[62] Die Sauerbrey-Gleichung ist in Gleichung 2.42 dargestellt, wobei es sich bei Δm um die Massenzunahme pro Fläche des Systems durch die Adsorption der zugegebenen Substanz, bei n um die Nummer der harmonischen Schwingung der fundamentalen Resonanzfrequenz, bei Δf um die Frequenzänderung und C um eine Konstante handelt.^{[63][64]}

$$\Delta m = \frac{C \cdot \Delta f}{n} \quad (2.42)$$

Der Wert der Konstanten liegt bei den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Kristallen bei knapp $18 \text{ ng}/(\text{cm}^2 \cdot \text{Hz})$.^[65]

Für den Fall, dass das auf dem Sensor adsorbierte Material nicht einheitlich und starr ist, muss anstelle des Sauerbrey-Modells auf ein komplexeres Modell zurückgegriffen werden.^[62] Bildet das adsorbierte Material keine dünne, starre Schicht, ist vor allem die Änderung des Dissipationsfaktor ΔD eine wichtige Messgröße.^[64] Der Dissipationsfaktor D ergibt sich dabei aus dem Abklingen der Schwingung, welche proportional zu $\exp(-\pi \cdot f \cdot D \cdot t)$ ist, wobei es sich bei t um die Zeit handelt und typische Abklingzeiten im μs -Bereich liegen. Da neben f somit auch D von Interesse ist, ist die Rede von Schwingquarzmikrowaage mit Verlustüberwachung (engl.: quartz crystal microbalance with dissipation monitoring) (QCMD)-Messungen. In Abbildung 2.9 sind typische Frequenzen und Dämpfungen für Schwingquarze in Luft und Wasser dargestellt.^[65]

Laut Reviakine *et al.* kann für $|\Delta D_n / (-\Delta f_n/n)| \ll 4 \cdot 10^{-7} \text{ Hz}^{-1}$ das Sauerbrey-Modell verwendet werden.^[65] Gemäß Cho *et al.* sollte auf das viskoelastische Modell zurückgegriffen werden, wenn $|\Delta D_n / \Delta f_n| > 1 \cdot 10^{-8} \text{ Hz}^{-1}$ gilt.^[66]

Beim viskoelastischen Ansatz wird die adsorbierte Materie nicht als starr angenommen und somit sind die Frequenz und die Dämpfung Funktionen von vielen physikalischen Größen des angelagerten Materials: der Dicke, Dichte, Viskosität und des Schermoduls. Die Frequenz und Dämpfung sind aber auch Funktionen der Dichte und Viskosität des angrenzenden Mediums.^[62]

Die einfachste Möglichkeit, um den mechanischen Eigenschaften eines viskoelastischen Modells Rechnung zu tragen, ist die Einführung einer Scherviskosität und eines Scherelastizitätsmoduls. Eines der zwei Basismodelle für dieses Vorgehen ist das Maxwell-Modell, welches beispielsweise auf Polymerlösungen angewandt wird, die bei niedrigen Scherraten ein flüssigkeitsähnliches Verhalten zeigen. Das andere Basismodell ist das Voigt-Modell, welches auf Polymere angewandt wird, die ihre Form beibehalten und nicht fließen. Im Gegensatz zum Maxwell-Modell wird beim Voigt-Modell

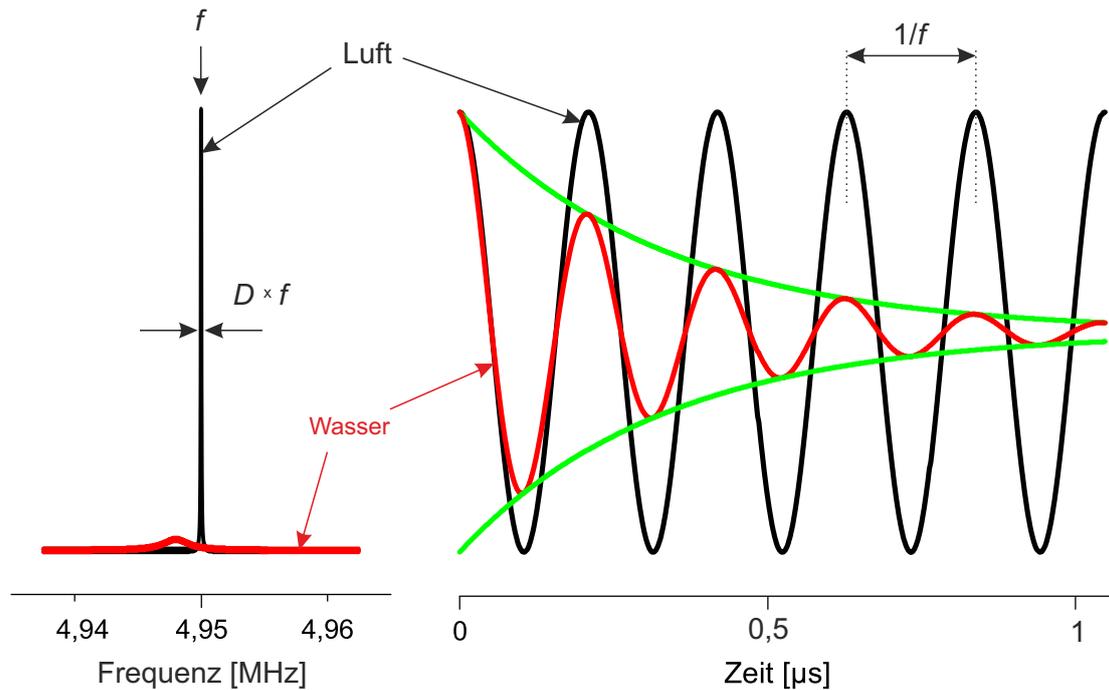


Abbildung 2.9. Skizze einer exemplarischen Schwingung eines Schwingquarzes in Luft mit sehr geringer Dämpfung und in Wasser mit deutlich stärkerer Dämpfung in Abhängigkeit der Frequenz (links) und der Zeit (rechts). Aufgrund der hohen Dämpfung im wässrigen Milieu klingt die Schwingungsamplitude binnen μs -Bruchteilen exponentiell ab. Die Einhüllenden der Amplitude sind dabei in grün dargestellt.

das viskoelastische Element komplexes Schermodul beschrieben, dessen Realteil frequenzunabhängig ist, während der Imaginärteil linear mit der Frequenz zunimmt. Der Realteil wird als Speichermodul und der Imaginärteil als Verlustmodul bezeichnet. In Abbildung 2.10 ist das Modell für eine viskoelastische Lage mit den zugehörigen charakteristischen Parametern skizziert. [67][68, S. 57 ff.]

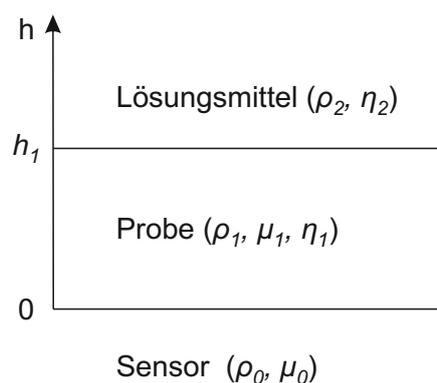


Abbildung 2.10. Schematische Darstellung eines Sensors, welcher mit einer Lage beschichtet ist, die sich durch ein viskoelastisches Modell beschreiben lässt. Dabei gibt h den Abstand zum Sensor und h_1 die Gesamtschichtdicke der Probe an. Des Weiteren gibt ρ_i die Massendichte, μ_i das elastische Schermodul und η_i die Viskosität der Komponente i an.

Das Modell wird an die für verschiedene Frequenzen gemessenen Frequenz- und Dämpfungswerte angepasst, um daraus mit $\rho_1 \approx 1 \cdot 10^3 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$ die Parameter der Probe

zu bestimmen, die neben der Schichtdicke h_1 das elastische Schermodul μ_1 und die Viskosität η_1 sind.

2.9 Dynamische Differenzkalorimetrie

Es ist die Dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: Differential Scanning Calorimetry) (DSC), mit der beispielsweise die Schmelztemperatur und Schmelzenthalpie bestimmt werden kann. Die Messgröße ist hierbei die spezifische Wärmekapazität in Abhängigkeit der Temperatur, aus welcher auf die Phasenübergangstemperatur und Enthalpie geschlossen werden kann. Bei der DSC handelt es sich um eine Weiterentwicklung der Differenz-Thermoanalyse (DTA). Die zu untersuchende Probe wird wie bei der DTA neben einer Referenzsubstanz in einer symmetrischen Messkammer einer definierten Temperaturreihe unterzogen und abschließend wieder abgekühlt. Im Gegensatz zur DTA ist es bei der DSC aufgrund der Geometrie beim Kammeraufbau und dessen Anordnung möglich, die Wärmeströme zwischen dem Ofen und der Probe bzw. zwischen dem Ofen und der Referenz zu kalibrieren, sodass eine quantitative Bestimmung kalorischer Stoffgrößen ermöglicht wird. Somit kann beispielsweise neben der Phasenübergangstemperatur auch die spezifische Wärmekapazität bestimmt werden.^[46, S. 90 f.] Mithilfe der DSC können beispielsweise Lipidvesikel charakterisiert werden, um die Phasenübergangstemperaturen von Lipiden in Lösungen zu untersuchen.^[69]

3 Experimentaltteil

Nach dem Darlegen der zugrunde liegenden Theorie im vorangegangenen Kapitel wird nun in diesem Kapitel geschildert, wie bei den jeweiligen Messungen vorgegangen wurde, um anschließend beginnend mit Kapitel 5 auf die Ergebnisse zu kommen. Es werden neben den verwendeten Substraten und Stoffen in Unterkapitel 3.1 die Aufbereitung der Substrate für die Rotationsbeschichtung in Abschnitt 3.2 sowie der experimentelle Ablauf in Unterkapitel 3.3 dargelegt.

3.1 Verwendete Substrate und Stoffe

Die verwendeten Substrate sind in Tabelle 3.1 gelistet, wobei alle Siliziumsubstrate in (100)-Orientierung mit einer nativen Siliziumoxidschicht an der Oberfläche vorliegen.

Tabelle 3.1. Auflistung der in der Arbeit verwendeten Substrate.

Substrat	Quelle	Spezifikation
2"-Wafer	Siegert Wafer GmbH Deutschland	Durchmesser: $(50,8 \pm 0,3)$ mm Dicke: (500 ± 25) μm Spezifischer Widerstand: 1-10 $\Omega\cdot\text{cm}$ Orientierung: $(100) \pm 1^\circ$
6 cm-Kristalle	Siliciumbearbeitung Andrea Holm GmbH Deutschland	Durchmesser: 60,0 mm Dicke: 10,0 mm Orientierung: $(100) \pm 0,5^\circ$
Schwingquarz- sensor (Au)	Quartz Pro Schweden	Durchmesser: 14 mm
		vorderseitige Elektrode Durchmesser: 12,0 mm Material: Chrom/Gold
		rückseitige Elektrode Durchmesser: 5,0 mm Material: Chrom/Gold
Schwingquarz- sensor (Si)	Quartz Pro Schweden	Durchmesser: 14 mm
		vorderseitige Elektrode Durchmesser: 12,0 mm Material: Chrom/Gold/Siliziumdioxid
		rückseitige Elektrode Durchmesser: 5,0 mm Material: Chrom/Gold

Für die Experimente wurde deionisiertes Wasser verwendet. Die Reinheit des selbigen wurde bei Messungen, die nicht mit NR stattfanden, durch die Verwendung ei-

3. Experimentalteil

nes Milli-Q plus Systems der Firma Millipore (Eschborn, Deutschland) weiter erhöht, sodass ein spezifischer Widerstand von $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ erzielt wurde. Bei der Verwendung der Begrifflichkeit Wasser ist dabei im Folgenden von Wasser die Rede, welches auf diese Weise aufgereinigt wurde. Die weiteren in dieser Arbeit verwendeten Stoffe sind in Tabelle 3.2 aufgeführt. Die Lipide Cholesterol (Chol), 1,2-Dimyristoyl-3-phosphatidylcholin (DMPC) sowie 1,2-Dimyristoyl-3-phosphatidylglycerol (Natriumsalz) (DMPG) und 1,2-Dimyristoyl-3-trimethylammoniumpropanchlorid (DMTAP) wurden dabei in nicht-deuterierter Variante und nicht weiter aufgereinigt verwendet. Eine phosphatgepufferte Salzlösung (engl.: phosphate-buffered saline) (PBS) wurde verwendet, um bei einem pH-Wert von 7,4 zu arbeiten, während Ethanol, Propan-2-ol und Natriumdodecylsulfat (engl.: sodium dodecyl sulfate) (SDS) ausschließlich zum Reinigen eingesetzt wurden.

Tabelle 3.2. Auflistung der in der Arbeit verwendeten Stoffe.

Stoff	Quelle	Reinheitsgrad/Spezifikationen
Chloroform	Uvasol Supelco div. Hersteller	> 99 %, für Messungen > 99 %, stabilisiert mit Ethanol, für Reinigung und Probemessungen
Chol	Avanti Polar Lipids	98 %, aus Schafwolle
Deuteriumoxid	Sigma-Aldrich	99,9 % Atom-% D
Ethanol	div. Hersteller Berkel	$\geq 99,8$ % 99 %, vergällt mit 1 % Petrolether
DMPC	Avanti Polar Lipids	> 99 %
DMPG	Avanti Polar Lipids	> 99 %
DMTAP	Avanti Polar Lipids	> 99 %
Propan-2-ol	div. Hersteller	$\geq 99,8$ %
Kalziumchlorid	Sigma-Aldrich	> 93 %
Magnesiumchlorid	Sigma-Aldrich	> 98 %
PBS	Sigma	Tablette für 200 mL Lösung 0,01 M Phosphatpuffer
SDS	Carl Roth	$\geq 99,5$ %

3.2 Aufbereitung der Substrate für die Rotationsbeschichtung

Die Vorgehensweise bei der Aufbereitung der Substrate für die Rotationsbeschichtung entspricht zu großen Teilen den in den letzten Publikationen des Arbeitskreises beschriebenen Verfahren und wird im Folgenden geschildert.^{[70]-[72]} Die Wafer und Kristalle wurden vor der Verwendung dreimal mit Chloroform und dreimal mit Ethanol abgespült, wobei nach jedem Abspülen der Wafer bzw. Kristall unter einem Stickstoff-

strom getrocknet wurde. Anschließend wurden diese einem einstündigen Ethanolbad unterzogen. Die bisher geschilderten Schritte wurden teilweise auch mit vergälltem Ethanol durchgeführt, wohingegen beim nächsten Schritt stets unvergälltes Ethanol verwendet wurde. Nach dem Bad wurden die Wafer und Kristalle erneut mit Ethanol abgespült und abschließend in einem Stickstoffstrom getrocknet. Die Substrate wurden unmittelbar vor der Beschichtung mithilfe eines Rotationsbeschichters zusätzlich dreimal mit Chloroform beschichtet und - sofern nicht anderweitig angegeben - dabei mit 4.000 Umdrehungen pro Minute 40 s lang gedreht.

Im nächsten Schritt erfolgte die Rotationsbeschichtung, wobei das Vorgehen detailliert in Abschnitt 3.3.1 dargelegt ist. Entsprechend der Erwartungen nach der Rotationsbeschichtung nicht den Erwartungen einer homogenen Benetzung und war dies bereits mit dem Auge ersichtlich, wurde die Oberfläche durch die Zugabe von Chloroform und eine anschließende Drehung aufgereinigt. Dieser Schritt wurde ebenfalls dreimal durchgeführt, wobei eine Geschwindigkeit und 4.000 Umdrehungen pro Minute für 39 s verwendet wurde.

Nach dem Aufreinigen der Substrate, dem Herstellen und Trocknen der Proben sowie der anschließenden Durchführung von Messungen im wässrigen Milieu, mussten die Substrate wieder aufgereinigt werden. Dabei erfolgte die Wiederaufbereitung der Oberflächen mithilfe der RCA-Reinigung. Die RCA-Reinigung besteht aus zwei Schritten, bei denen das Substrat unterschiedlichen Lösungen ausgesetzt wird. Beim ersten Schritt handelt es sich bei der Lösung um eine Mischung aus Ammoniumhydroxid, Wasserstoffperoxid und Wasser im Verhältnis von 1:1:5 bis 1:2:7 und beim zweiten Schritt um eine Lösung bestehend aus Salzsäure, Wasserstoffperoxid und Wasser im Verhältnis 1:1:6 bis 1:2:8. Bei der Aufreinigung wurden beide Schritte für zehn Minuten durchgeführt, wobei nach jedem Schritt das Substrat sehr gründlich mit Wasser abgespült wurde. Namensgebend für dieses Verfahren ist der Auftraggeber für die Entwicklung des Reinigungsverfahrens: die amerikanische Funkgesellschaft (engl.: Radio Corporation of America) (RCA).^{[73][74]}

3.3 Verwendete Versuchsaufbauten

In diesem Abschnitt werden die in der Arbeit verwendeten Versuchsaufbauten beschrieben. Dabei wird zunächst in Unterkapitel 3.3.1 die Probenpräparation vorgestellt, in Abschnitt 3.3.2 wird auf die Durchflusssysteme eingegangen, in Unterkapitel 3.3.3 werden die verwendeten NR-Versuchsaufbauten thematisiert und in Abschnitt 3.3.4 wird der XRR-Aufbau beschrieben. Die verwendeten SE-Aufbauten sind in Unterkapitel 3.3.5 das Thema, der AFM-Aufbau wird in Abschnitt 3.3.6 dargelegt und der Versuchsaufbau der DLS- sowie ζ -Messungen sind in Unterkapitel 3.3.7 aufgeführt. Nach der Beschreibung der Strömungspotentialmessungen in Abschnitt 3.3.8

3. Experimentalteil

und QCMD-Messungen in Unterkapitel 3.3.9 wird abschließend der DSC-Aufbau in Abschnitt 3.3.10 diskutiert.

3.3.1 Rotationsbeschichtung

Das Aufbringen der Oligolipidbilagen erfolgte mittels Rotationsbeschichtung, wie sie in Abbildung 3.1 skizziert ist. Für 2"-Wafer wird ein SpinCoater G3P-8 der Firma Speciality Coating Systems (USA) verwendet. Es wurde in Chloroform gelöstes Lipid auf das Substrat gegeben und dieses für eine Sekunde bei 500 Umdrehungen pro Minute und danach für 40 Sekunden bei 4.000 Umdrehungen pro Minute gedreht. Wurde eine sich von 4.000 Umdrehungen pro Minute unterscheidende Drehzahl verwendet, wird dies vermerkt. Unmittelbar nach der Beschichtung wurden die Proben für 24 Stunden in einem Vakuumschrank getrocknet, um das Chloroform aus den Filmen zu entfernen. Die 2"-Wafer wurden nach der Trocknung in der Regel für die jeweilige Anwendung in passende Bruchstücke zerteilt.

Für die bei den NR-Messungen verwendeten 6 cm großen und 1 cm dicken Kristalle, erfolgen die Beschichtungen mit einem SpinCoater 6708D der Firma Speciality Coating Systems (USA). Die Kristalle wurden jedoch analog beschichtet und alle mit 4.000 Umdrehungen pro Minute gedreht. Dabei wurde aus zwei Gründen keine Vorstufe von 500 Umdrehungen pro Minute verwendet. Zum einen ist dies dem Umstand geschuldet, dass die Steuerung keine Vorstufe ermöglicht und zum anderen aufgrund des hohen Trägheitsmoment des Kristalls, wodurch das Erreichen einer Drehzahl von 4.000 Umdrehungen pro Minute ohnehin eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt.

In der Arbeit wird bei der Benennung der Systeme die Stoffmengenzusammensetzung der Lösung angegeben, welche bei der Rotationsbeschichtung verwendet wurde.

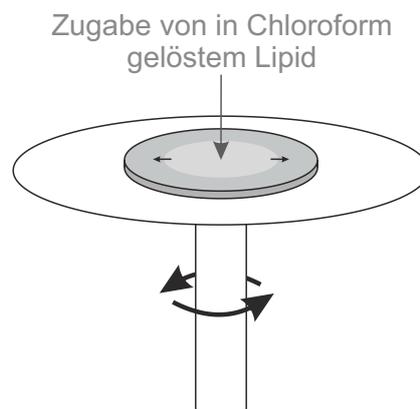


Abbildung 3.1. Bei der Rotationsbeschichtung wurde mithilfe einer Pipette in Chloroform gelöstes Lipid auf das Substrat aufgebracht und daraufhin wurde die Drehung des Probentisches um die eigene Achse gestartet. In Folge dessen wurde das Substrat vollständig mit der Lösung benetzt. Ein nicht zu vernachlässigender Teil der Lösung wurde durch die Drehung vom Substrat geschleudert. Bei nicht vollständiger Benetzung des Substrats wurde die Beschichtung wiederholt.

Nach der Rotationsbeschichtung wurden die Proben mindestens für 24 Stunden in einem Vakuumschrank der Firma Binder (Deutschland) des Arbeitskreises Tanaka, welcher im heimischen Institut ansässig ist, bei einem Druck von circa 10^3 Pa gelagert. Diese Vakuumtrocknung wird durchgeführt, um das Chloroform, welches als Lösungsmittel für das Rotationsbeschichten notwendig ist, anschließend wieder zu entfernen.

3.3.2 Durchflusssysteme

In Abbildung 3.2 ist eine schematische Skizze der verwendeten Durchflusssysteme dargestellt. Das verwendete Gesamtvolumen betrug für NR- und SE-Messungen 20 mL, für XRR- und Messungen mithilfe einer QCMD hingegen 10 mL. Die Durchflusssysteme sind dabei dergestalt aufgebaut, dass mithilfe eines Pumpsystems die Flüssigkeit eines Reservoirs in die Probenkammer geleitet wird. Diese Methode wird sowohl bei den NR-, XRR-, SE- als auch den QCMD-Messungen verwendet. Zunächst wurde das Reservoir - in der Regel mit Wasser - befüllt und anschließend erfolgt die Einleitung der Flüssigkeit in die Probenkammer. Zugaben von weiteren Komponenten erfolgen über das Reservoir, sodass mithilfe des Pumpsystems eine Gleichgewichtskonzentration für das ganze System erreicht wird.

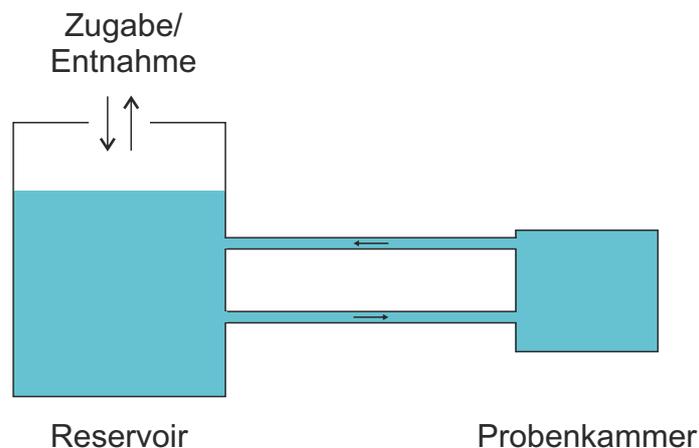


Abbildung 3.2. Schematische Zeichnung des bei den NR-, XRR-, SE- und QCMD-Messungen verwendeten Durchflusssystems.

3.3.3 NR

Die in der Arbeit beschriebenen NR-Messungen wurden am Aufbau V6 des HZB und am Aufbau FIGARO des ILLs durchgeführt. Dabei wurden bei V6 monochromatische Neutronen der Wellenlänge $\lambda = 4,66$ nm verwendet.^[33] Hingegen handelt es sich bei FIGARO um ein TOF-Reflektometer, welches sich aufgrund der variablen Wellenlängenaufösung auch für zeitaufgelöste Messungen anbietet.^[31] Die Proben wurden an allen Instrumenten mithilfe eines Wasserflusses und eines Kryostaten temperiert.

3. Experimentalteil

Nach der in Kapitel 2.1.9 bzw. A beschriebenen Prozessierung der Rohdaten wurden die NR-Daten mithilfe der Software Motofit 0.1.16 refnx ausgewertet.^[75] Für die Visualisierung der Daten und Anpassungen wurde OriginPro 2020b der Firma OriginLab (USA) verwendet. Wurden Datensätze in RQ^4 -Darstellung visualisiert und die Daten mit einer symmetrischen Funktion angepasst, erfolgten diese Schritte ebenfalls mit dem Programm OriginPro 2020b. Dasselbe gilt für die im Folgenden skizzierten XRR-Messergebnisse. Die NR-Kinetikmessungen wurden mit Igor Pro 6.37 der Firma WaveMetrics (USA) visualisiert.

Alle erhaltenen Grafiken wurden als eps-Dateien exportiert. Die Überführung in eine pdf, wie sie dann schließlich in die Arbeit eingebunden wurde, erfolgte mit dem Programm CorelDraw X5 der Firma Corel Corporation (Kanada). CorelDraw X5 wurde in der Arbeit ebenfalls für die Erstellung aller Skizzen verwendet. Hingegen wurden alle Moleküle mit der Software ChemDraw Professional 21.0.0.28 der Firma PerkinElmer (USA) erstellt.

3.3.4 XRR

Die XRR-Messungen wurden mit einem D8 Diffraktometer der Firma Bruker (Deutschland) durchgeführt. Dabei wurde die charakteristische Röntgenstrahlung K_{α} von Molybdän mit einer Wellenlänge von $\lambda = 0,711$ nm verwendet.^[19] Die verwendete Probenkammer besteht aus Teflon mit Kaptonfenstern, wobei die Weglänge der Röntgenstrahlung durch die Probenkammer 15 mm beträgt. Die Proben werden während der Messungen mithilfe eines Peltierelements temperiert. Außerhalb der Messvorrichtung wurden die restlichen Proben durch eine mittels eines Kryostaten temperierten Kupferplatte auf der gewünschten Temperatur gehalten. Nach der in Kapitel 2.2.4 dargelegten Prozessierung der Rohdaten erfolgte eine zu den NR-Daten analoge Auswertung mit derselben Software.^[75]

3.3.5 SE

Für die gleichzeitigen NR-, Infrarot (IR)- und SE-Kinetikmessungen wurde der SE-Aufbau der schwedischen Kooperationspartner Thomas Ederth und Béla Nagy verwendet. Dabei handelt es sich um ein Ellipsometer der Firma J. A. Woollam des Typs iSE mit einem Spektralbereich von 400 nm bis 1.000 nm.^[71] Die Auswertung der Daten erfolgte mittels der Software CompleteEase 6.49a.

Für die hausinternen Ellipsometriemessungen wurde ein M44 der Firma J.A. Woollam Co. Inc. (USA) bei einem Winkel von $75,0^{\circ}$ verwendet. Die Steuerung und die Datenanalyse erfolgt mit der Software WVASE32. Zur Bestimmung der Schichtdicke des Oligolipidbilagensystems wird angenommen, dass sich der Siliziumwafer über die von Jellison *et al.* bestimmten optischen Konstanten für Silizium beschreiben lässt.^[76] Das

sich auf dem Siliziumwafer befindende Oligolipidbilagensystem wird durch ein Cauchy-Modell gemäß Gleichung 2.23 modelliert, um die Schichtdicke der Oligolipidbilagensysteme zu ermitteln.

Bei den Messungen wurde α_1 in engen Grenzen um den eingestellten Einfallswinkel angepasst, was zu Variationen des Winkels von bis zu $0,3^\circ$ gegenüber des Einfallswinkels von $75,0^\circ$ führte. Diese Vorgehensweise deckt sich nicht nur mit der Datenverarbeitung des verwendeten SE-Aufbaus bei den gleichzeitigen NR-, IR- und SE-Kinetikmessungen, es liefert darüber hinaus eine bedeutend bessere Anpassung der Messdaten, als wenn stattdessen ein durch eine Referenzmessung bestimmter fester Winkel angenommen wird.

Die Temperaturstabilität wird durch einen permanenten Wasserfluss durch den Probenisch gewährleistet. Die erhaltenen Grafiken wurden mit OriginPro 2020b erzeugt. Die im Anhang in den Abbildungen E.2 bis E.5 dargestellten SE-Messungen wurden durch Vincenz Kohler durchgeführt, welcher von mir im Rahmen eines Forschungspraktikums in unserer Arbeitsgruppe betreut wurde.

3.3.6 AFM

Die AFM-Messungen wurden auf Siliziumsubstraten mit einem JPK Nanowizard 3 der Firma JPK Instruments AG (Deutschland) durchgeführt. Für die in der Arbeit gezeigten Aufnahmen an Luft wurde der intermittierende Modus gewählt. Dabei wurde ein Cantilever des Modells NCHV-A der Firma Bruker (Deutschland) mit einer Federkonstanten von $42 \frac{\text{N}}{\text{m}}$ verwendet. Die abgebildete Fläche betrug dabei in der Regel $40 \mu\text{m} \times 40 \mu\text{m}$ mit einer Auflösung von $1024 \text{ Pixel} \times 1024 \text{ Pixel}$ und einer Linienrate von $0,3 \text{ s}^{-1}$. Die 1D-Höhenprofile wurden exportiert und mit OriginPro 2020b visualisiert. Die in der Arbeit gezeigten AFM-Aufnahmen wurden - falls nicht anderweitig vermerkt - von Elisabeth Wolcke aufgenommen, welche von mir im Rahmen eines Forschungspraktikums in unserer Arbeitsgruppe betreut wurde. Die Einweisung, Erklärungen und Unterstützungen bei den Messungen erfolgten durch Julian Czajor und Dr. Sven Mehlhose der Arbeitsgruppe Tanaka, die uns an ihrem Aufbau messen ließ.

3.3.7 DLS- und ζ -Potentialmessungen

Die DLS- und ζ -Potentialmessungen wurden - sofern nicht anders angegeben - bei $20,0^\circ\text{C}$ mittels eines Malvern Zetasizer Nano ZS der Firma Malvern Instruments Ltd. (Großbritannien) durchgeführt. Die Messungen erfolgten mittels einer Detektion der Rückstreuung bei einem konstanten Streuwinkel von 173° , wobei ein Helium-Neon-Laser mit einer Wellenlänge von $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ verwendet wurde.^[77, S. 186 f.] Für jede Bestimmung wurden drei Messungen durchgeführt, wobei bei jeder Messung 20-100 Messdurchläufe absolviert wurden. Für AuNP wurde als Brechungsindex 0,2 und

3. Experimentalteil

für die Absorption 0,01 verwendet, für die Lipidvesikel wurde ein Brechungsindex von 1,48 und eine Absorption von 0,00 angenommen und für die Titanoxidnanopartikel (TiO₂-NP) wurde ein Brechungsindex von 1,56 und eine Absorption von 0,01 verwendet.

Für die ζ -Potentialmessungen wurde eine DTS1060C-clear disposable zeta cell (dt.: klare Einweg- ζ -Zelle) verwendet. Wurde für dasselbe System sowohl eine Größenbestimmung mittels DLS-Messungen als auch durch ζ -Potentialmessungen durchgeführt, so wurde entsprechend für beide Messungen dieselbe Zelle verwendet. Standen ausschließlich Größenmessungen an, wurden diese in einer DTS0012 - disposable sizing cuvette (dt.: Einwegküvette zur Größenbestimmung) durchgeführt.

Die im Anhang in Tabelle F.1 dargestellten ζ -Potentialmessungen wurden von Lucca Neupert durchgeführt, welcher von mir im Rahmen eines Forschungspraktikums in unserer Arbeitsgruppe betreut wurde.

3.3.8 Strömungspotential

Die Strömungspotentialmessungen und somit die Datenerhebung der von mir erstellten Proben wurden von Vanessa Fronk von der Firma Anton-Paar (Deutschland) mit dem Instrument SurPASS 3 durchgeführt. Die Datenanpassung erfolgte anschließend mit OriginPro 2020b.

3.3.9 QCMD

Die für die QCMD-Messungen verwendeten Goldsensoren wurden vor jeder Messung für fünf Minuten einem Ozonbad unterzogen. Anschließend wurde die Oberfläche kräftig mit Wasser abgespült, unter Stickstoffstrom getrocknet und für weitere fünf Minuten einem Ozonbad ausgesetzt. Nach den Messungen wurden die Sensoren und der QCMD-Aufbau mit SDS gereinigt. Daraufhin wurde das System kräftig mit Wasser gespült. Die Siliziumsensoren wurden hingegen ausschließlich mit SDS und Wasser gereinigt.

Die Messungen, bei denen keine Nanopartikel (NP) zum Einsatz kamen, wurden mit dem Gerät Q-Sense Omega Auto von Biolin Scientific AB (Schweden) durchgeführt. Bei Messungen mit NP wurde hingegen der Aufbau Q-Sense 0W C301 LOT von der Firma LOT (Deutschland) verwendet. Zur Datenanalyse wurde in beiden Fällen das erweiterte viskoelastische Modell der Software QTools verwendet. Zur Konvertierung der Daten des Geräts Q-Sense Omega Auto wurde die Software QSense Dfind verwendet. Die allgemeine Erweiterung des Modells auf alle QCMD-Messungen erfolgte im Rahmen des Forschungspraktikums mit Oktay Apari.

3.3.10 DSC

Die DSC-Messungen wurden mit einem MicroCal VP-DSC der Malvern Instruments GmbH (Deutschland) durchgeführt. Die verwendeten Vesikel wurden dabei mithilfe eines Titanmikrospitzen sonicator S3000 der Misonix Inc. (USA) für eine Stunde einem Ultraschallbad ausgesetzt.^[78] Um die Vesikellösung von möglichen Titanpartikeln zu trennen, die sich von der Spitze gelöst hatten, wurde die Lösung für vier Minuten bei 13.400 g geschleudert. Die hierfür verwendete Zentrifuge wurde von Eppendorf (Deutschland) hergestellt. Die bei den DSC-Messungen gewählte Stoffmengenkonzentration der Vesikellösungen betrug 1,48 mM.

4 Modellsysteme

In diesem Kapitel werden zunächst einfache Zellmembranen in Unterkapitel 4.1, eukaryotische Zellmembranmodelle in Abschnitt 4.2 und prokaryotische Zellmembranmodelle in Unterkapitel 4.3 vorgestellt. Anschließend werden die verwendeten Nanopartikel in Abschnitt 4.4 thematisiert und das Kapitel 4 wird mit den Modellsystemen in Unterkapitel 4.5 abgeschlossen.

4.1 Einfache Zellmembranen

Zur Beschreibung von Lipiden wird der hydrophobe Teil im Folgenden Kettengruppe und der hydrophile Teil Kopfgruppe genannt. Lipide mit einer Phosphatidylcholin (PC)-Kopfgruppe machen einen großen Anteil in eukaryotischen Zellmembranen aus. In der Plasmamembran von roten Blutzellen sind sie mit 17 % ähnlich stark vertreten wie Lipide mit einer Phosphatidylethanolamin (PE)-Kopfgruppe mit 18 %.^[8]

Um die PC- und die PE-Kopfgruppe miteinander vergleichen zu können, sind das DMPC-Molekül in Abbildung 4.1 und in Abbildung 4.2, mit derselben Kettengruppe und lediglich unterschiedlicher Kopfgruppe, das 1,2-Dimyristoyl-3-phosphatidylethanolamin (DMPE)-Molekül dargestellt.^[79]

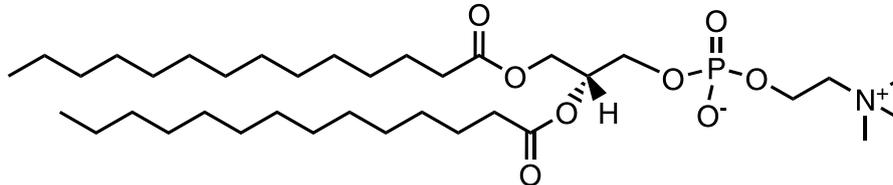


Abbildung 4.1. Strukturformel des zwitterionischen DMPC-Moleküls mit PC-Kopfgruppe.

Die Kopfgruppen unterscheiden sich lediglich darin, dass am Stickstoffatom anstelle von drei Methylgruppen bei DMPC drei Wasserstoffatome bei DMPE gebunden sind.

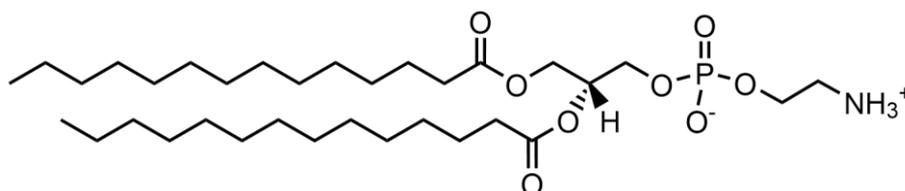


Abbildung 4.2. Strukturformel des zwitterionischen DMPE-Moleküls mit PE-Kopfgruppe.

Lipide mit einer PC-Kopfgruppe sind der am häufigsten vorkommende Bestandteil in der Plasmamembran der Leberzelle mit 24 %, in Mitochondrienmembranen mit 39 % und im Endoplasmatischen Retikulum mit 40 %.^[8] Aus genau diesem Grund werden die Modellmembranen in dieser Arbeit aus Lipiden mit einer PC-Kopfgruppe aufgebaut.

Das Lipid 1,2-Dipalmitoyl-3-phosphatidylcholin (DPPC) ist mit einem Anteil von 45 % in der Gelenkflüssigkeit^[80] und mit 40 % im Atmungstrakt dort die Hauptlipidkomponente.^[81] Die Phasenübergangstemperatur von DPPC liegt bei 41 °C.^[82] Folglich müsste bei der Wahl von DPPC das Modellsystem deutlich über die gängige Temperatur im Laborbetrieb erhitzt werden, um Messungen nahe an oder oberhalb der Phasenübergangstemperatur durchführen zu können. Wird stattdessen auf eine etwas kürzere Kettengruppe und somit auf DMPC zurückgegriffen, reduziert sich die Phasenübergangstemperatur. Je nachdem welche Eigenschaft herangezogen wird, um die Phasenübergangstemperatur zu ermitteln, unterscheidet sich auch das Resultat. Bei den meisten Publikationen liegt die Phasenübergangstemperatur für DMPC in Wasser im Bereich zwischen 23 und 24 °C. Unter Berücksichtigung von 47 Veröffentlichungen zur Bestimmung der Phasenübergangstemperatur mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie (engl.: Differential Scanning Calorimetry) (DSC) zur Phasenübergangstemperatur von DMPC von Phase $P\beta'$ zu Phase $L\alpha$ liegt diese bei $(23,6 \pm 1,4)$ °C.^[83] Somit liegt die Phasenübergangstemperatur von DMPC ideal, um bei Bedarf im Laborbetrieb Messungen unter- oder oberhalb der Phasenübergangstemperatur durchzuführen, weshalb in dieser Arbeit als Membranlipid DMPC verwendet wird. Der Vorübergang von $L\beta'$ zu $P\beta'$ liegt laut Literatur im groben Bereich von 14 °C.^[83] Die Phasenzustände $L\beta'$, $P\beta'$ und $L\alpha$ von DMPC, welche im Temperaturbereich von 10 °C bis 35 °C von Relevanz sind, können Abbildung 4.3 entnommen werden.^{[83][84]} Die Phasenübergangstemperaturen werden dabei in dieser Arbeit bestimmt.

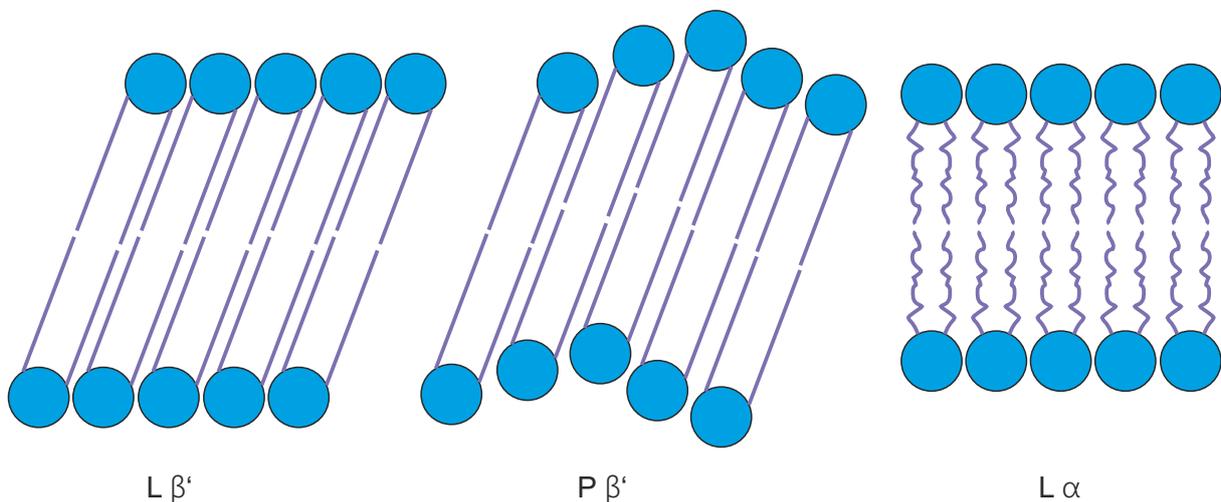


Abbildung 4.3. Die DMPC-Phasenzustände $L\beta'$, $P\beta'$ und $L\alpha$.

Zum Vergleich von DMPC- und DPPC ist in Abbildung 4.4 das DPPC-Molekül dargestellt.^[85] Wie aus einem Vergleich der Moleküle hervorgeht, ähneln sich das DMPC- und DPPC-Molekül in starkem Maße. So besitzen sie dieselbe Kopfgruppe und die Kettengruppen sind gesättigt. Lediglich in ihren Kettenlängen unterscheiden sie sich, wobei die Ketten des DMPC-Moleküls jeweils um zwei CH_2 -Gruppen kürzer sind. Da-

4. Modellsysteme

durch resultieren etwas geringere Van-der-Waals-Wechselwirkungen der Systeme, so dass die Phasenübergangstemperatur für DMPC unter der von DPPC liegt.

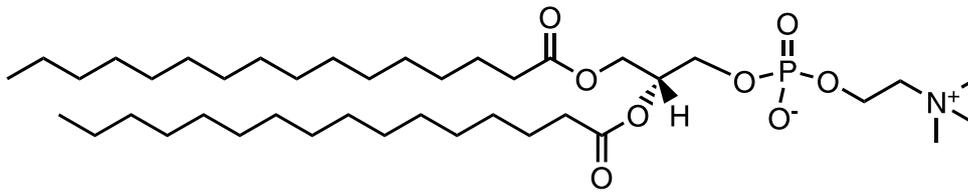


Abbildung 4.4. Strukturformel des zwitterionischen DPPC-Moleküls mit PC-Kopfgruppe.

Die charakteristischen literaturbekannten Größen für DMPC-Bilagen bei 20,0 °C sind in Tabelle 4.1 dargestellt. Die Längen der Ketten- und Kopfgruppen werden dem Modell IV der Publikation von Tristram-Nagle *et al.* entnommen.^[86]

Tabelle 4.1. Parameter trockener DMPC-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. Die für die NR- und XRR-Anpassungen relevanten Parameter sind hier und im Folgenden blau dargestellt.^{[19][86]}

Parameter	DMPC
Länge zweier Kettengruppen d_{Kette}	30,3 Å
Länge der trockenen Kopfgruppe $d_{Kopf\ trocken}$	7,25 Å
Länge der solvatisierten Kopfgruppe d_{Kopf}	12,67 Å
Querschnittsfläche	46,5 Å ²
Massendichte der Kettengruppen $\rho_{m\ Kette}$	862 $\frac{kg}{m^3}$
Massendichte der Kopfgruppen $\rho_{m\ Kopf}$	1256 $\frac{kg}{m^3}$
$SLD_{XRR\ Kette}$	8,38 · 10 ⁻⁶ Å ⁻²
$SLD_{XRR\ Kopf}$	11,05 · 10 ⁻⁶ Å ⁻²
$SLD_{NR\ Kette}$	-0,413 · 10 ⁻⁶ Å ⁻²
$SLD_{NR\ Kopf}$	1,88 · 10 ⁻⁶ Å ⁻²

4.2 Eukaryotische Zellmembranmodelle

Ein zusätzlicher wichtiger Bestandteil, um eukaryotische Zellmembranen zu modellieren, ist Cholesterol (Chol). Das Chol-Molekül ist in Abbildung 4.5 dargestellt. Der Chol-Gehalt in eukaryotischen Membranen liegt - je nach Art - im Bereich zwischen 0 und 50 %.^{[5, S. 405 ff.][8][87][88]}

Zur Beschreibung der Auswirkungen einer Chol-Einlagerung auf die Kettenlänge der Modellsysteme wurden die Publikationen von Greenwood *et al.*,^[89] Kaminski *et al.*,^[90] Pan *et al.*^[91] und besonders Giri *et al.*^[92] herangezogen.

Durch die Einlagerung von Chol in Membranen bestehend aus Lipiden mit PC-Kopfgruppen wird deren Bilagendicke beeinflusst.^[93] Es drängt sich dabei die Frage auf, in welcher Form sich die Bilagendicke und Querschnittsfläche durch die Einlagerung von

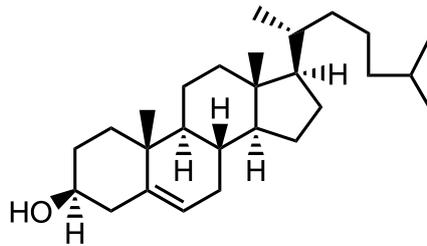


Abbildung 4.5. Strukturformel des Chol-Moleküls.

Chol ändern. Besteht die Kohlenwasserstoffkette der Lipidmoleküle aus 16 Kohlenstoffatomen oder weniger, führt die Einlagerung von Chol-Molekülen zu einer Zunahme der Bilagendicke, wohingegen bei Lipidbilagen mit Lipidmolekülen aus 18 Kohlenstoffatomen oder mehr die Einlagerung von Chol-Molekülen zu einer Abnahme der Bilagendicke führt.^[88]

Die maximale Bilagendicke für ein DMPC-Chol-System wird dabei bei einem Chol-Gehalt von 38 mol-% erreicht. Der maximal in DMPC-Multilagen lösliche Anteil von Chol beträgt 44 mol-%. Bei höheren Chol-Konzentrationen kommt es zur Bildung von phasengetrenten Chol-Domänen.^[94] Eine entscheidende Rolle in Phasendiagrammen von DMPC-Chol-Gemischen spielen sowohl die Temperatur als auch die Luftfeuchtigkeit, wobei Details der Literatur zu entnehmen sind.^{[87][95]–[97]} Durch den zusätzlichen Bestandteil beschreiben die in Tabelle 4.1 dargestellten Werte das neue System nicht mehr treffend und müssen den neuen Gegebenheiten angepasst werden. Während ohne Chol die hydrophilen Kopfgruppenmoleküle lediglich die hydrophoben Kettengruppen gegen das hydrophile Lösungsmittel abschirmen, erhöht sich durch die Einlagerung von Chol die Komplexität des Systems. Die Kopfgruppen schirmen nun nicht nur die hydrophoben Kettengruppen, sondern auch die Chol-Moleküle gegenüber des Lösungsmittels ab. Dies hat zur Folge, dass die Kopfgruppenmoleküle etwas breiter werden. Bei gleichbleibendem Gesamtvolumen hat dies zur Folge, dass die Kopfgruppen etwas dünner werden.^[98] Dabei wird die Fläche, die sie abdecken, größer. Für diesen Sachverhalt wird in der Literatur das Regenschirmmodell bemüht.^{[98][99]} Es wird davon ausgegangen, dass die Kettengruppendickenzunahme durch die Einlagerung von 30 mol-% Chol unterhalb der Phasenübergangstemperatur bei etwa 5 Å liegt. Diese angestellten Überlegungen sind zunächst in Abbildung 4.6 zusammenfassend qualitativ skizziert.

Die Längenzunahme der Kettengruppe liegt laut Kaminski *et al.* für DPPC bei 23 °C mit 50 mol-% Chol bei 5,0 Å und die Abnahme der Länge der Kopfgruppe bei 1,9 Å pro Monolage.^[90]

Die Längenzunahme der DMPC-Kettengruppe ist darauf zurückzuführen, dass durch die Chol-Einlagerung die Ketten gerader und somit länger werden.^[88] Die Längenzunahme liegt bei 15 °C durch 25 mol-% Chol bei 2,5 Å pro Monolage, während die Kopfgruppenlänge durch die Einlagerung von Chol von 8,5 Å auf 6,5 Å abnimmt.^[92]

4. Modellsysteme

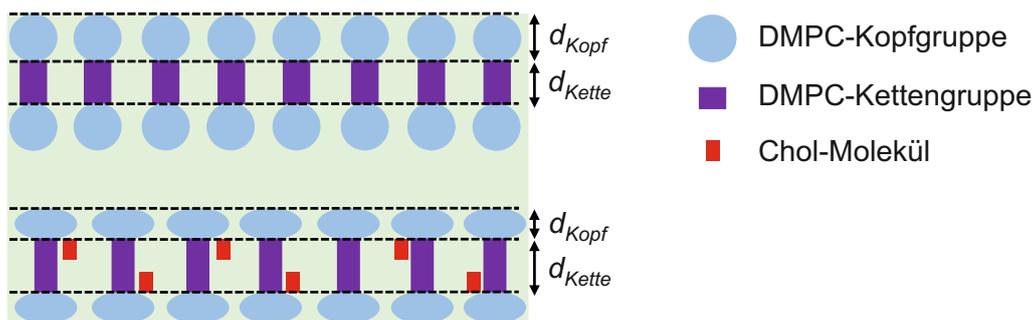


Abbildung 4.6. Skizze des Bilagenaufbaus für das System aus DMPC (oben) und aus 70 % DMPC 30 % Chol (unten) in wässriger Lösung. Durch die Anwesenheit von Chol verbreitert sich die Kopfgruppe, um neben den Kettengruppen auch das Chol gegen Wasser abzusichern. Durch die Verbreiterung und das gleichbleibende Volumen der Kopfgruppe nimmt die Dicke der Kopfgruppe ab. Durch die Anwesenheit von Chol nimmt die Kettenkrümmung von DMPC ab, sodass die Kettenlänge zunimmt.

Bei 30,0 °C und 98 % relativer Luftfeuchtigkeit fanden Hung *et al.* für DMPC, dass sich bei XRR-Messungen die Beugungsmuster für ein DMPC Chol-System ab einem Chol-Anteil von 23 mol-% bis hin zu einem Anteil von 44 mol-% Chol sehr stark ähneln.^[94] Demzufolge ändert sich die Bilagendicke eines Systems aus DMPC und Chol mit zunehmendem Chol-Gehalt nur bis 23 % in einem starken Maße. Oberhalb der Phasenübergangstemperatur bestimmten Pan *et al.* für die Einlagerung von 30 mol-% Chol bei DMPC eine Dickenzunahme von gut 6 Å,^[91] sodass auch oberhalb der Phasenübergangstemperatur eine Zunahme der Bilagendicke zu beobachten ist, wenn Chol in das System eingelagert wird. Unter der Annahme, dass die relative Volumenänderung der DMPC-Moleküle durch die Einlagerung von Chol-Molekülen oberhalb und unterhalb der Phasenübergangstemperatur ähnlich sind, kann der Publikation von Tristram-Nagle *et al.* das Volumen der Kopf- und Kettengruppen entnommen werden.^[86] Darauf aufbauend geht das Volumen der Chol-Moleküle und die prozentuale Änderung des Volumens der DMPC-Moleküle in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt aus der Publikation von Greenwood *et al.* hervor.^[89] Werden die prozentualen Änderungen auf die Werte unterhalb der Phasenübergangstemperatur übertragen, ergeben sich die in den Tabellen 4.2 bis 4.4 dargestellten Werte. In diesen Tabellen stehen die Prozentangaben für Stoffmengenprozent, wie dies auch im Folgenden in der Arbeit der Fall sein wird. Die SLD der Kopfgruppenbereiche mit Wassereinlagerungen^{[100]–[106]} wurden sowohl für XRR-Messungen als auch für NR-Messungen der Literatur entnommen.^[19]

Tabelle 4.2. Charakteristische Parameter trockener 90 % DMPC 10 % Chol-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. [19][86][89]

Parameter	90-% DMPC 10-% Chol
Länge des Kettenbereichs d_{Kette}	32,0 Å
Länge der trockenen Kopfgruppe $d_{Kopf\ trocken}$	7,02 Å
Länge der solvatisierten Kopfgruppe d_{Kopf}	12,19 Å
Querschnittsfläche für neun DMPC-Moleküle und ein Chol-Molekül	418 Å ²
Massendichte des Kettenbereichs ρ_{Kette}	884,7 $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Massendichte der Kopfgruppen ρ_{Kopf}	1255,9 $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
$SLD_{XRR\ Kette}$	$8,60 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{XRR\ Kopf}$	$11,05 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{NR\ Kette}$	$-0,360 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{NR\ Kopf}$	$1,88 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$

Tabelle 4.3. Charakteristische Parameter trockener 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. [19][86][89]

Parameter	80 mol-% DMPC 20 mol-% Chol
Länge des Kettenbereichs d_{Kette}	33,6 Å
Länge der trockenen Kopfgruppe $d_{Kopf\ trocken}$	6,70 Å
Länge der solvatisierten Kopfgruppe d_{Kopf}	11,63 Å
Querschnittsfläche für acht DMPC- und zwei Chol-Moleküle	386 Å ²
Massendichte des Kettenbereichs ρ_{Kette}	907,8 $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Massendichte der Kopfgruppen ρ_{Kopf}	1255,9 $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
$SLD_{XRR\ Kette}$	$8,80 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{XRR\ Kopf}$	$11,05 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{NR\ Kette}$	$-0,305 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{NR\ Kopf}$	$1,88 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$

Die resultierenden trockenen Bilagendicken des DMPC-Chol-Systems in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt sind in Abbildung 4.7 zusammenfassend quantitativ dargestellt. Mit zunehmendem Chol-Gehalt gewinnt die Dickenabnahme der Kopfgruppe im Vergleich zu der Längenzunahme der Kettengruppe immer stärker an Gewicht, sodass die Kurve in Abbildung 4.7 für steigende Chol-Anteile abflacht, wie es gemäß den Ergebnissen von Hung *et al.* zu erwarten ist.^[94] Ein Vergleich der Tabellen 4.1 und 4.4 bzw. ein Blick auf Abbildung 4.7 zeigt eine Zunahme der Bilagendicken von knapp 3 Å durch die Einlagerung von 30 % Chol. Die Massendichte der Bilage nimmt ebenfalls durch

4. Modellsysteme

Tabelle 4.4. Charakteristische Parameter trockener 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen bei 20,0 °C. ^{[19][86][89]}

Parameter	70 mol-% DMPC 30 mol-% Chol
Länge des Kettenbereichs d_{Kette}	35,3 Å
Länge der trockenen Kopfgruppe $d_{Kopf\ trocken}$	6,23 Å
Länge der solvatisierten Kopfgruppe d_{Kopf}	10,81 Å
Querschnittsfläche für sieben DMPC- und drei Chol-Moleküle	373 Å ²
Massendichte des Kettenbereichs ρ_{Kette}	923,9 $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Massendichte der Kopfgruppen ρ_{Kopf}	1255,9 $\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
$SLD_{XRR\ Kette}$	$8,91 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{XRR\ Kopf}$	$11,05 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{NR\ Kette}$	$-0,245 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
$SLD_{NR\ Kopf}$	$1,88 \cdot 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$

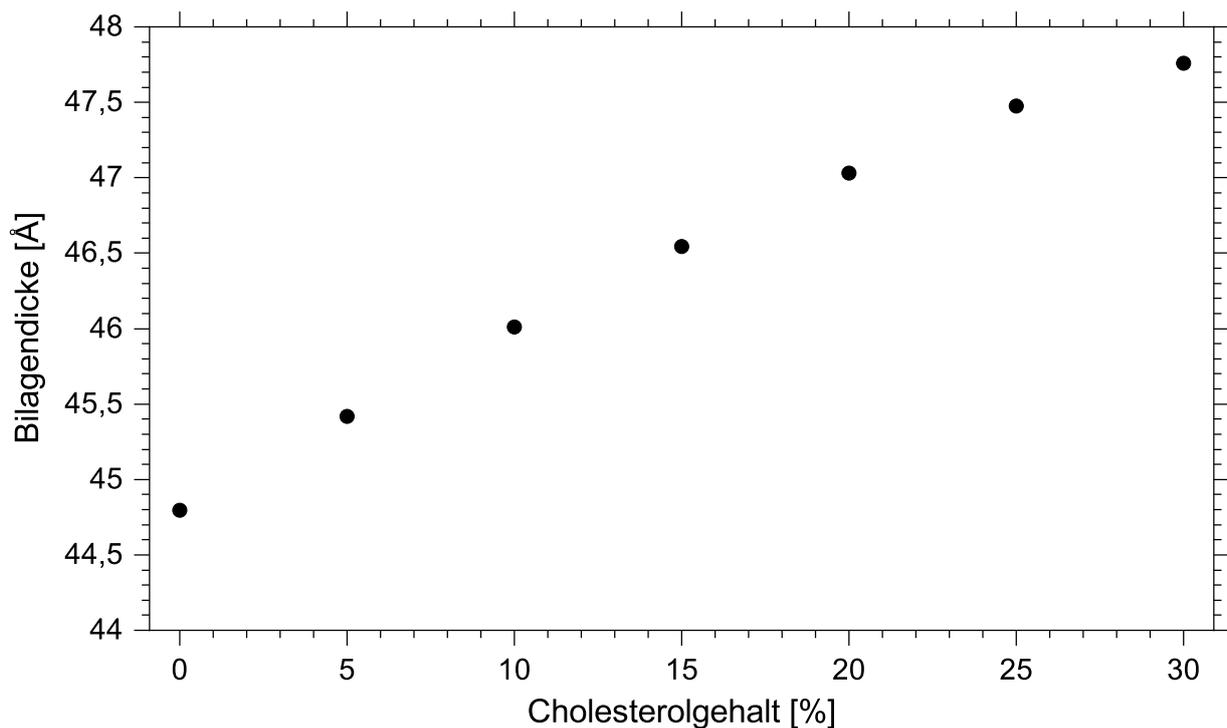


Abbildung 4.7. Die aus den Überlegungen in Kapitel 4.2 resultierenden trockenen Bilagendicken des DMPC-Chol-Systems in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt. ^{[19][86][89][92][94]}

die Einlagerung von Chol zu. Neben dem durch Chol bedingten Kondensationseffekt^[94] ist auch die höhere Massendichte des Chol-Moleküls im Vergleich zur Kettengruppe hierfür ausschlaggebend. Bei späteren Betrachtungen des Systems in Lösung ist davon auszugehen, dass die Kopfgruppen solvatisiert sind, sodass dem Kopfgruppenbereich einige Wassermoleküle zugerechnet werden. In der Regel wird der von Tristram-

Nagle *et al.* erhaltene Wert an Wassermolekülen pro Kopfgruppe verwendet, der für das Modell IV von Tristram-Nagle *et al.* bei 8,4 liegt.^[86]

Da sich die Konformation von DMPC-Chol-Systemen niedrigen Chol-Gehalts zu Konformationen hohen Chol-Anteils gemäß Greenwood *et al.* bei 30 °C bei 24 % ändert,^[89] ist die Konformation hohen Chol-Gehalts von besonderem Interesse, um den Einfluss von Chol auf die Eigenschaften des Systems zu verdeutlichen. Da in dieser Arbeit die Chol-Anteile lediglich in 10 %-Schritten variiert werden, liegt der niedrigste Chol-Gehalt, bei dem die Konformation hohen Chol-Anteils vorliegt, bei 30 %. Aus diesem Grund wird stellvertretend für Systeme mit einem hohen Chol-Anteil ein 70 % DMPC 30 % Chol Oligolipidbilagensystem gewählt.

4.3 Prokaryotische Zellmembranmodelle

Während Chol in Modellmembransysteme eingebaut werden kann, um eukaryotische Zellmembranen zu simulieren, wären das Pendant dazu für Bakterien Hopanoide.^[107] Das Hopanmolekül, welches der Klasse der Hopanoide ihren Namen verleiht, ist in Abbildung 4.8 dargestellt. Hopanderivate sind Bestandteile von Bakterienmembranen.^[108]

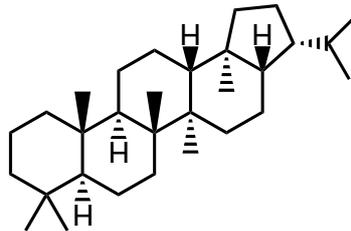


Abbildung 4.8. Strukturformel des Hopanmoleküls.

In dieser Arbeit wird jedoch nicht auf Hopanoide zurückgegriffen, um bakterielle Membranen zu modellieren, sondern es werden stattdessen geladene Lipide, in Form von DMPG, in die DMPC-Systeme eingebaut. Der Grund hierfür ist, dass neben der Modellierung der Zellmembranmodelle von unterschiedlichen Lebensformen zusätzlich der Einfluss geladener Lipide auf die Eigenschaften von Zellmembranen untersucht werden kann. Geladene Lipide sind in Membranen von Bakterien allgegenwärtig und reichlich vorhanden und eignen sich daher optimal für die Zellmembranmodellierung von Bakterien.^[109] Der Anteil an Lipiden mit einer Phosphatidylglycerol (PG)-Kopfgruppe wie bei DMPG liegt bei den von Epan *et al.* aufgelisteten Bakterien zwischen 3 % und 58 %.^[110] Das Verhältnis anionischer zu zwitterionischen Lipide in Bakterien ist dabei nicht nur vom Organismus, sondern auch von dem Salzgehalt des Nährmediums abhängig.^[111] Geladene Lipide sind jedoch keineswegs ein Alleinstellungsmerkmal von Prokaryoten, sondern kommen auch in Eukaryoten vor.^[112] Das DMPG-Molekül ist in Abbildung 4.9 dargestellt.^[113] Es wird verwendet, um die Än-

4. Modellsysteme

derung der Membraneigenschaften durch die Einbettung negativ geladener Lipide zu untersuchen.

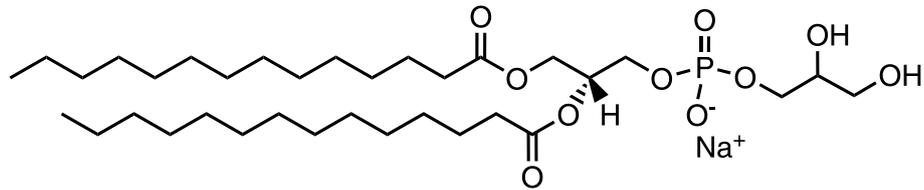


Abbildung 4.9. Strukturformel des negativ geladenen DMPG-Moleküls mit einem Natriumkation als Gegenion.

Hingegen wird DMTAP verwendet, um die Auswirkungen durch die Einlagerung positiv geladener Lipide in die Modellmembran zu untersuchen. Das DMTAP-Molekül ist in Abbildung 4.10 dargestellt.^[113] Die Bedeutung von DMTAP liegt dabei nicht darin begründet, dass es ein bedeutender Bestandteil in Zellmembranen wäre, sondern dass es als Gentransportmittel - in vivo und in vitro - eingesetzt werden kann, da kationische Lipidmembranen kompakte Komplexe mit der Desoxyribonukleinsäure bilden.^[114] Durch das Einbauen von DMTAP in Membranen und den Vergleich zu Membranen, die DMPG beinhalten, können Rückschlüsse auf die Bedeutung von Ladung und Ladungsvorzeichen in Membranen gezogen werden.

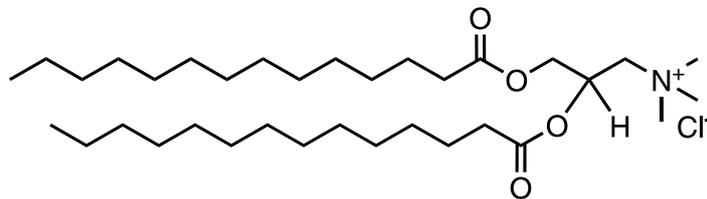


Abbildung 4.10. Strukturformel des einfach positiv geladenen DMTAP-Moleküls mit einem Chloridanion als Gegenion.

4.4 Nanopartikel

Nanopartikel (NP), welche beispielsweise mit dem menschlichen Körper in Berührung kommen, unterscheiden sich grundlegend in ihrer Beschaffenheit und Größe. Wie auch schon bei der Membranzusammensetzung werden in dieser Arbeit zunächst NP verwendet, die möglichst gleich groß und funktionalisiert sind, um dann im Folgenden zu einer größeren Bandbreite überzugehen.

Zunächst wird von AuNP ausgegangen. AuNP werden beispielsweise bei der Wirkstoffgabe in Zellen eingesetzt, wobei überwiegend hydrophile AuNP zum Einsatz kommen.^[3] Bei der Synthese der verwendeten AuNP resultieren im ersten Schritt hydrophobe AuNP.^[115] Die Größe der AuNP kann gemäß der Publikation von Hostetler *et al.* variiert werden.^[116] Ein hydrophober AuNP ist exemplarisch in Abbildung 4.11 skizziert.

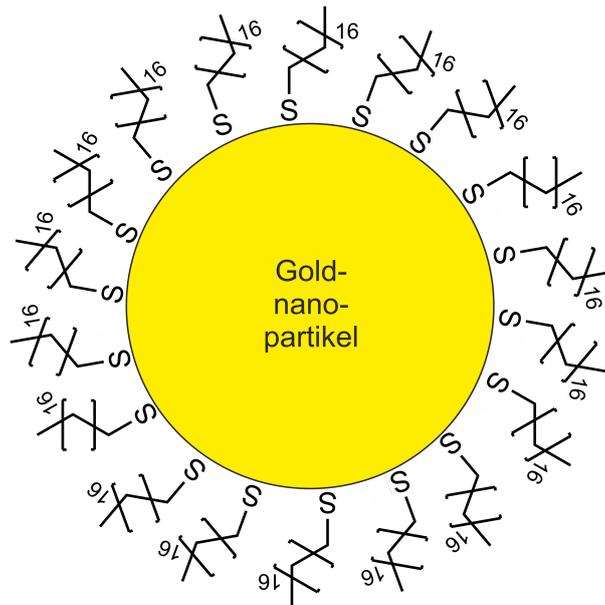


Abbildung 4.11. Skizze eines hydrophoben AuNP.

Da die Lipid-NP-Interaktion allerdings in Wasser oder wässrigen Lösungen untersucht wird, ist es von Vorteil, anstelle von hydrophoben AuNP hydrophile AuNP zu verwenden. Dementsprechend wird eine Umfunktionalisierung in Form eines Ligandenaustauschs vorgenommen. Die Synthese der kationisch funktionalisierten Liganden, welche die bessere Wasserlöslichkeit bedingen, ist der Publikation von Tien *et al.* zu entnehmen.^[117] Durch einen Ligandenaustausch von knapp 70 % resultiert der in Abbildung 4.12 dargestellte kationische AuNP.^[115] Größere AuNP entstehen, wenn die NP über mehrere Monate in wässriger Lösung gelagert werden.

Bei den in der Arbeit verwendeten TiO_2 -NP handelt es sich um hydrophile NP, sodass ebenfalls die Interaktion mit Oligolipidbilagen im wässrigen Milieu untersucht werden kann.^[118] Aufgrund der angesprochenen Präsenz von TiO_2 -NP beispielsweise in Lebensmitteln und Zahnpasta, ist ihre Interaktion mit Oligolipidbilagensystemen von besonderem Interesse.^[2]

Zur Untersuchung dieser ist es unabdingbar, dass die frei schwimmenden Bilagen auch in Kontakt mit den NP kommen. Um eine breite Exposition zu gewährleisten, müssen die Filme zunächst über Fehlstellen verfügen, über die ein Eindringen in die tieferen Schichten möglich ist. Des Weiteren müssen die Abstände der frei schwimmenden Bilagen untereinander hinreichend groß sein, sodass die NP in den Bereich dazwischen vordringen können.

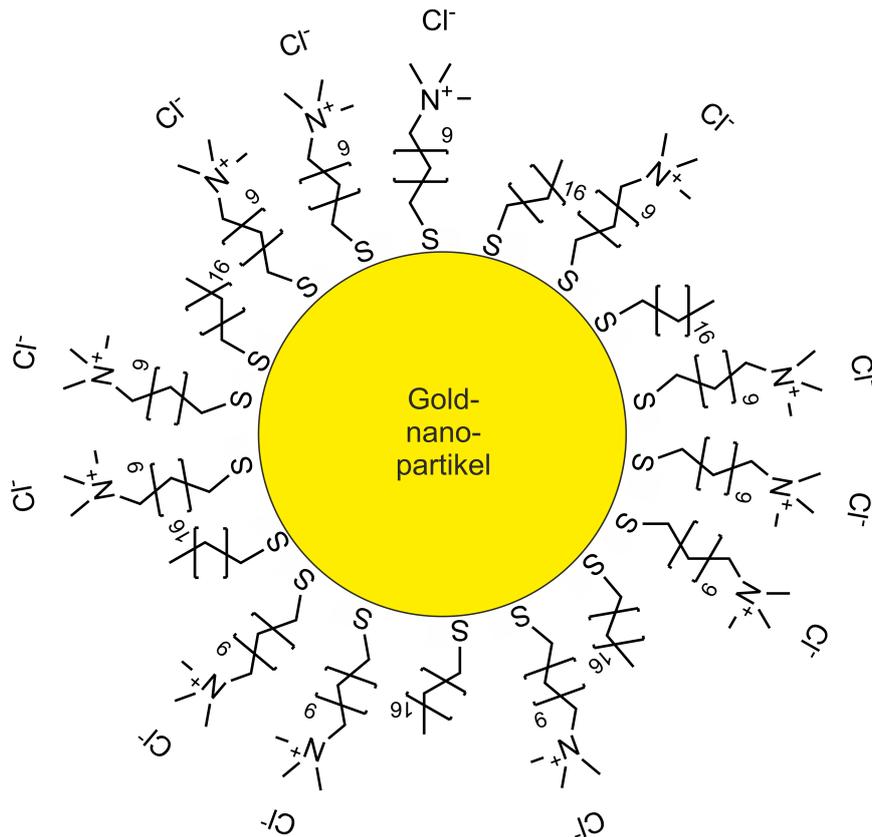


Abbildung 4.12. Skizze eines kationisch umfunktionalisierten AuNP.

4.5 Das Modellsystem

Die im Labor kreierte Oligolipidsysteme befinden sich auf einem Trägermaterial, so dass sie mittels Reflektivitätsmessungen charakterisiert werden können. Bei dem Träger handelt es sich in der Regel um Silizium, wobei auf der Oberfläche eine Siliziumoxidschicht vorliegt. Aufgrund des Einflusses des Trägers auf die direkt aufliegende Bilage stellt diese kein gutes Modell für eine menschliche Zellmembran dar.

Ziel ist es daher, frei schwimmende Lipidbilagen zu charakterisieren.^[119] Um diese zu erhalten, werden Oligolipidbilagen verwendet.^[70] Der Vorteil von Oligolipidbilagen gegenüber einer einzelnen Bilage ist, dass bei Reflektivitätsmessungen eine höhere Reflektivität erzielt wird und vor allem, dass nicht nur eine substratgebundene Bilage vorliegt, sondern die weiteren Bilagen frei beweglich mit Wasserkontakt ober- und unterhalb der jeweiligen Bilage vorliegen und diese deutlich weiter vom Siliziumsubstrat entfernt sind. Stattdessen befinden sie sich in der Nähe weiterer Bilagen, sodass die Umgebung deutlich nativer gestaltet wird, als das für eine an einem Siliziumsubstrat adsorbierte Bilage der Fall ist.

Nach der Herstellung des Oligolipidbilagensystem liegt dies zunächst an Luft vor und kann dementsprechend bereits charakterisiert werden. Das hierfür zugrundeliegende

Modell wird in Unterkapitel 4.5.1 dargelegt. Das nach der Wasserzugabe erhaltene Modellsystem wird in Abschnitt 4.5.2 visualisiert.

4.5.1 Modellsystem an Luft

Das Modellsystem für Oligolipidbilagensysteme an Luft ist in Abbildung 4.13 dargestellt. In das Modellsystem muss zunächst das Siliziumsubstrat mit einer nativen Siliziumoxidschicht an dessen Oberfläche eingebunden werden. Dabei nimmt die Oxidationszahl der Siliziumatome immer weiter zu je näher sie sich an der Oberfläche befinden. Es ist daher im Kontext mit der nativen Siliziumoxidschicht nicht pauschal von Siliziumdioxid die Rede, sondern von Siliziumoxid mit dem stöchiometrischen Verhältnis der Atome von SiO_x mit $0 \leq x \leq 2$. Für die Dicke der nativen Siliziumoxidschicht wird eine Schichtdicke von 15 \AA und eine Rauigkeit von 3 \AA angenommen.

Auf der Oberfläche des Substrats befindet sich die substratgebundene Bilage. Diese wird in eine Kopfgruppe, zwei Kettengruppen und eine weitere Kopfgruppe untergliedert, wobei der Bereich, in dem die aufeinanderfolgender Kettengruppen vorliegen, als ein Kettengruppenbereich zusammengelegt wird. Der Parameter d_{Kette} gibt daher die Länge des Kettengruppenbereichs an, welcher als die Länge zweier aufeinanderfolgender Kettengruppen betrachtet werden kann. Die an die Kopfgruppe assoziierten Wassermoleküle werden als Teil der solvatisierten Kopfgruppen angesehen. Es handelt sich bei d_{Kopf} somit um die Dicke der solvatisierten Kopfgruppe.

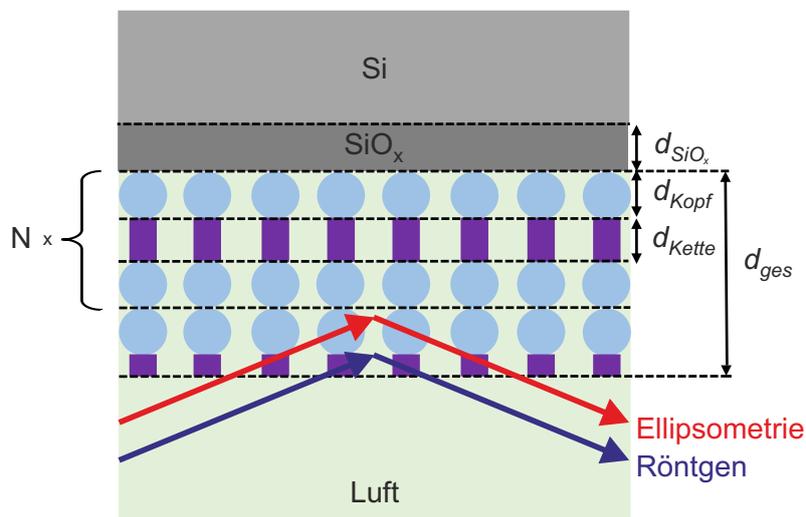


Abbildung 4.13. Verwendetes Modellsystem bei den Anpassungen der SE- und XRR-Daten an Luft. Neben der Siliziumoxidschicht des Trägers besteht das Modellsystem aus sich wiederholenden Bilageneinheiten und einer abschließenden Monolage, d.h. einer halben Bilage. Dabei ist die Anordnung der Membranlipidmoleküle dergestalt vereinfachend dargestellt, dass die Kettengruppe eines Lipidmoleküls nahtlos an die des folgenden Moleküls angrenzt. Dieses exakt paarweise Auftreten zweier angrenzender Lipide innerhalb einer Bilage entspricht nicht der Realität und ist lediglich eine Andeutung für die grobe Anordnung.

4. Modellsysteme

Ein grundlegender Unterschied zu Oligolipidlagen an Luft im Vergleich zu wässriger Umgebung besteht darin, dass im wässrigen Milieu das System mit einer Kopfgruppe und an Luft mit einer Kettengruppe schließt. Diese Annahme verbessert die Güte der Anpassung in den jeweiligen Milieus drastisch. Da die Rotationsbeschichtung mit dem hydrophoben Lösungsmittel Chloroform durchgeführt wird und es sich bei dem Träger um hydrophiles Siliziumoxid auf Silizium handelt, ist die Annahme gerechtfertigt, dass auf der Kontaktfläche zum Siliziumoxid Kopfgruppen vorliegen, wohingegen auf der zum Chloroform orientierten Seite Kettengruppen vorhanden sind.

Die in der Arbeit verwendeten Messmethoden zur Charakterisierung der Oligolipidbilagensysteme an Luft beschränken sich auf SE- und XRR.

Die zu dem in Abbildung 4.13 beschriebenen Modell zugehörigen Parameter sind in Tabelle 4.5 dargestellt.

Tabelle 4.5. Modell für die Anpassung der XRR-Daten für Oligolipidbilagen an Luft.

Komponente i	Schichtdicke d_i	$\rho_{SL\ i}$
Silizium	∞	$19,88 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2[19]}$
Siliziumdioxid	$d_{\text{Siliziumdioxid}}$	$18,68 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2[19]}$
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ \text{Kopf}}$
Kettenbereich	d_{Kette}	$\rho_{SL\ \text{Kette}}$
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ \text{Kopf}}$
	$\cdot N$	
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ \text{Kopf}}$
Kettengruppe	$\frac{d_{\text{Kette}}}{2}$	$\rho_{SL\ \text{Kette}}$
Luft	∞	0

Die Grundannahmen für die Anpassungen an Luft sind in den Tabellen 4.1 - 4.4 dargestellt. Da das System mit einer halben Bilage endet und d_{Kette} die Dicke zweier aufeinanderfolgenden Kettengruppen angibt, beträgt die Kettenlänge für die abschließende Kettengruppe in Tabelle 4.5 $\frac{d_{\text{Kette}}}{2}$.

Aufgrund der auftretenden Luftfeuchtigkeit in der Messzelle können sich Wassermoleküle im hydrophilen Kopfgruppenbereich anlagern. Dabei werden die an der Kopfgruppe angelagerten Wassermoleküle der Kopfgruppe zugerechnet. Hierbei wird erwartet, dass die Anzahl an eingelagerten Wassermolekülen im Kopfgruppenbereich geringer ist, als dass der Fall ist, wenn die Kopfgruppen in Lösung vollständig solvatisiert sind. Bei einer vollständigen Solvatisierung wird für die Kopfgruppeneinheit $d_{\text{Kopf}} = 12,7 \text{ \AA}$ erwartet. Als Kettenlänge werden $30,3 \text{ \AA}$ angenommen,^[86] sodass einzig die Größe der Kopfgruppe als Parameter zur Anpassung der lamellaren Schichtdicke fungiert. Dabei werden im Folgenden lamellare Schichtdicke und Wiederholeinheitendicke synonym verwendet. Sie geben an Luft die Gesamtdicke einer Bilage mit solvatisierten Kopfgruppen an.

Die angepasste Streulängendichte der Kette $\rho_{SL\ Kette}$ wird verwendet, um den Lochanteil zu bestimmen. Für die Komponenten des Oligolipidbilagensystems wird eine einheitliche Rauigkeit Σ angenommen, die anhand der Messdaten angepasst wird. Die Auflösung $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ wird zudem auch angepasst, da davon ausgegangen wird, dass die Auflösung nicht durch das Instrument, sondern durch die Struktur des Oligolipidbilagensystems limitiert wird. Als Grund hierfür sei die Welligkeit des Films genannt. Illustriert wird diese Annahme in Abbildung 4.14.

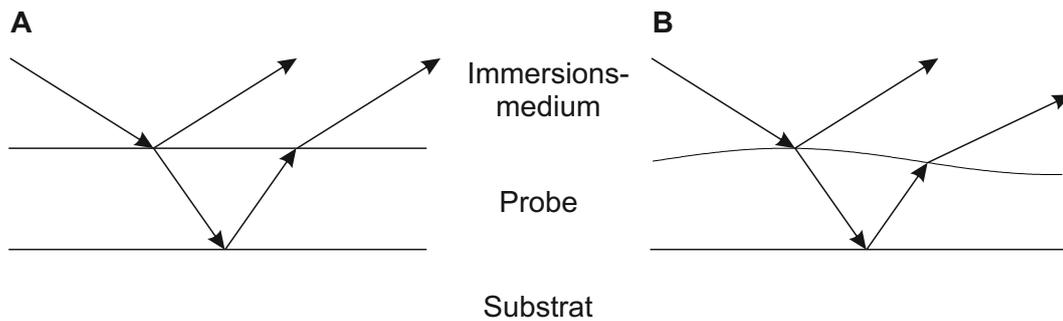


Abbildung 4.14. Skizze zur Verringerung der Auflösung durch die Welligkeit der Filme. **A** Die planparallele Orientierung des Filmes gewährleistet, dass die Probe mit der instrumentenbedingten Auflösung charakterisiert werden kann. **B** Durch die Welligkeit des Filmes resultieren unterschiedliche Winkel für an unterschiedlichen Stellen ein- bzw. austretende Strahlen. Die Strahldivergenz nimmt somit zu. Dem kann dadurch Rechnung getragen werden, dass eine geringere Auflösung angenommen wird, als dies instrumentenbedingt der Fall ist.

Die Anzahl an angelagerten Wassermolekülen pro Kopfgruppe wird für alle Kopfgruppen, unabhängig von ihrer Nähe zum Substrat, als gleich angenommen. Grund hierfür ist in erster Linie die Anzahl an verwendeten Parameter zu begrenzen. Die dadurch resultierende enorme Reduzierung an benötigten Parametern führte gleichzeitig nur zu einer verschwindend geringen Absenkung der Anpassungsgüte.

4.5.2 Modellsystem im wässrigen Milieu

Damit die Umgebungsbedingungen für die Zellmembranmodelle noch natürlicher gestaltet werden, werden die Oligolipidbilagen in der Regel in Feuchtekammern mit einer hohen Luftfeuchtigkeit hydriert.^[17] Anschließend könnten die Proben zwar charakterisiert werden, aber weder entspricht eine hohe Luftfeuchtigkeit den realen Gegebenheiten in einer Zelle noch kann auf diese Weise die Interaktion der Bilagen mit Ionen und NP untersucht werden. Somit wird anstelle einer Feuchtekammer auf ein Durchflusssystem zurückgegriffen, sodass nach der Hydrierung der Lipide anschließend auch Ionen und NP zugegeben werden können. Um das Modellsystem bei den Messungen in wässrigen Lösungen zunächst so einfach wie möglich zu halten und gleichzeitig die Vergleichbarkeit zu den Resultaten der Literatur in den Feuchtekammern zu gewährleisten, wird als Umgebung reines Wasser gewählt. Das verwendete Modellsystem in

4. Modellsysteme

wässrigem Milieu ist in Abbildung 4.15 dargestellt.

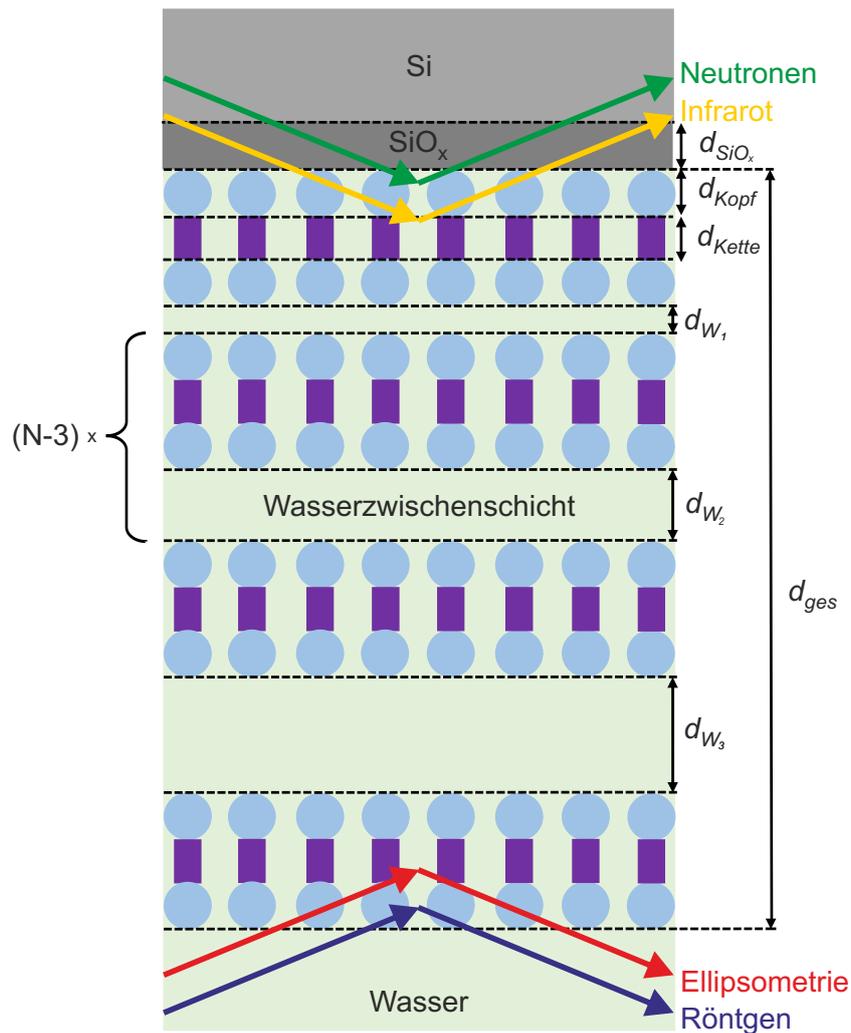


Abbildung 4.15. Verwendetes Modellsystem für die substratgebundenen Oligolipidbilagen mit den verfügbaren Messmethoden im wässrigen Milieu. Im Unterschied zu dem Modellsystem an Luft schließt das System mit einer vollständigen Bilage ab. Die Wasserzwichenschichten in der Wiederholeit sind dabei gleich groß, wohingegen die Wasserzwichenschicht angrenzend an die substratgebundene Bilage am kleinsten und die Wasserzwichenschicht zwischen äußerster und zweiäußerster Bilage am größten ist.

Analog zum Modellsystem an Luft im vorangegangenen Kapitel 4.5.1 beinhaltet das Modellsystem das Siliziumsubstrat mit einer nativen Siliziumoxidschicht an dessen Oberfläche, für welche eine Schichtdicke von 15 Å und eine Rauigkeit von 3 Å angenommen wird. Die Wiederholeinheitsdicke hingegen unterscheidet sich. Entsprechend diese im Modellsystem an Luft einer Bilage mit solvatisierten Kopfgruppen, so erhöht sich die Wiederholeinheitsdicke d_{W_2} im wässrigen Milieu um die Dicke einer wässrigen Zwischenschicht. Zwischen der substratgebundenen und der darauffolgenden Bilage ist die innerste Wasserzwichenschicht mit der Dicke d_{W_1} lokalisiert. Diese Dicke ist etwas geringer als die Wasserzwichenschichtdicke der Wiederholeinheit d_{W_2} , welche wiederum etwas schmaler ist als die äußerste Wasserzwichenschicht. Die dabei

vorgenommene Differenzierung zwischen einer innersten und äußersten Wasserzwichenschicht sowie einer Wiederholeinheit gewährleistet eine gute Übereinstimmung mit den Messdaten bei einer gleichzeitig überschaubaren Menge an Parametern. Für gute Anpassungen ist auch die Berücksichtigung von Fehlstellen notwendig, da beispielsweise Löcher in den Strukturen vorliegen. Dem wird dadurch Rechnung getragen, dass ein Lösungsmittelanteil in den Bilagen angenommen wird, welcher im Kopf- und Kettengruppenbereich identisch groß ist. Daher wird der Solvatisierungsgrad der Kopfgruppe in der Regel nicht angepasst, sondern der Wert für eine vollständige Hydratisierung der Literatur entnommen, sodass durch den Lösungsmittelanteil nur der Lochanteil berücksichtigt wird.

In Abbildung 4.15 sind zudem die möglichen Messmethoden dargelegt. Während mithilfe von SE-Messungen die Gesamtschichtdicke sehr schnell bestimmt werden kann, eignen sich NR- und XRR-Messungen auf der anderen Seite für eine genauere Charakterisierung des Systems. IR-Messungen bieten sich hingegen vor allem an, um den Phasenzustand eines Systems zu bestimmen. Zudem können bei komplexeren Membranen Aussagen über die Konformation vorhandener Proteine - und deren Änderungen - getroffen werden.^[71]

Die zum Modellsystem in Abbildung 4.15 zugehörigen Parameter sind in Tabelle 4.6 dargestellt.

Dabei wird das Modellsystem durch die Anzahl der Bilagen N , die Dicken der Wasserschichten 1-3 d_{W1-3} , die Dicken der Kopfgruppen d_{Kopf} , die Dicken des Kettenbereichs d_{Kette} , die Dicken des Siliziumoxids d_{SiO_x} sowie die SLD der Komponente i $\rho_{SL i}$, die Rauigkeit zwischen den Schichten Σ , den Wassergehalt in den Bilagen und die Auflösung $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ charakterisiert. Bei der SLD der Kopfgruppe wird in der Regel bereits von einer vollständigen Solvatisierung mit 8,4 Wassermolekülen pro Kopfgruppe ausgegangen. Dabei wird angenommen, dass das Volumen der Wassermoleküle 30 \AA^3 beträgt.^[14]

Aufgrund der Annahme einer vollständigen Solvatisierung der Kopfgruppe und keiner Solvatisierung des hydrophoben Kettengruppenbereichs kann davon ausgegangen werden, dass der zusätzliche Wasseranteil in den Kopf- und Kettengruppen in Form von Löchern im Film vorliegt. Da sich die Löcher über den Kopf- und Kettengruppenbereich erstrecken, wird der Lochanteil in beiden Regionen als gleich groß angenommen.

Ferner wird angenommen, dass die Wasserzwichenschichten zwischen den Bilagen - mit Ausnahme der innersten und der äußersten Wasserzwichenschicht - gleich groß sind. Dabei wird angenommen, dass $d_{W1} < d_{W2} < d_{W3}$ sei. In manchen Fällen ist die Wasserzwichenschicht 1 oder 3 ähnlich dick wie die Schicht 2. Allgemein erweist sich die Unterscheidung der Wasserzwichenschichtdicken in diese drei unterschiedlichen Bereiche als äußerst nützlich zur Anpassung der Messdaten.

Tabelle 4.6. Allgemeines Modell für die Anpassung der Reflektivitätsmessungen für Oligolipidbilagen in Wasser.

Komponente i	Schichtdicke	$\rho_{SL\ i}$	
Silizium	∞	$\rho_{SL\ Si}$	
Siliziumoxid	d_{SiO_x}	$\rho_{SL\ SiO_x}$	
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$	
Kettenbereich	d_{Kette}	$\rho_{SL\ Kette}$	
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$	
Wasserzwichenschicht 1	d_{W1}	$\rho_{SL\ Wasser}$	
Kopfgruppe Kettenbereich Kopfgruppe Wasserzwichenschicht 2	$\left. \begin{array}{l} \\ \\ \\ \end{array} \right\} \cdot (N - 3)$	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$
		d_{Kette}	$\rho_{SL\ Kette}$
		d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$
		d_{W2}	$\rho_{SL\ Wasser}$
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$	
Kettenbereich	d_{Kette}	$\rho_{SL\ Kette}$	
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$	
Wasserzwichenschicht 3	d_{W3}	$\rho_{SL\ Wasser}$	
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$	
Kettenbereich	d_{Kette}	$\rho_{SL\ Kette}$	
Kopfgruppe	d_{Kopf}	$\rho_{SL\ Kopf}$	
Wasser	∞	$\rho_{SL\ Wasser}$	

Die Gesamtschichtdicke d_{ges} ergibt sich bei inkohärenten Summen für Systeme mit mindestens drei Bilagen gemäß Gleichung 4.1 und der Fehler Δd_{ges} gemäß Anhang B Gleichung B.3, der durch Gaußsche Fehlerfortpflanzung ermittelt wird.^[120, S. 31]

$$d_{ges} = \sum_i g_i \cdot N_i \cdot d_{Bilage} + d_{W1} + \sum_i g_i \cdot (N_i - 3) \cdot d_{W2} + d_{W3} \quad (4.1)$$

Dabei handelt es sich bei g_i um den Gewichtungskoeffizienten der Filmanteile und bei N_i um die Gesamtbilagenanzahl der Komponente i . Dabei kann im kohärenten Fall ebenfalls von Gleichung 4.1 ausgegangen werden, wobei sie sich dergestalt vereinfacht, dass die Faktoren $\sum_i g_i$ aus der Gleichung gestrichen werden können. Die Kohärenzlänge an V6 am HZB ändert sich kontinuierlich mit dem Winkel, liegt aber grob im Bereich von 20 μm .^[33] Die entsprechenden Kohärenzlängen für FIGARO am ILL ergeben sich mithilfe der Publikation von Maestro *et al.* und sind stark von $|\vec{q}|$ abhängig, liegen jedoch grob im Bereich von 5 μm bis 600 μm .^[121]

Hinsichtlich des Modellsystems in Salzlösungen wird zunächst auf dem Modell in Wasser aufgebaut. Das verfeinerte Modellsystem wird durch die Ergebnisse in Kapitel 8.3.1 entwickelt.

5 Messungen an Luft

Nach den Ausführungen zur Theorie, den Versuchsdurchführungen und den angewandten Modellen kann im Folgenden mit der Charakterisierung der Systeme begonnen werden. Hierbei wird zunächst in diesem Kapitel auf Oligolipidbilagensysteme an Luft eingegangen.

Die Herstellung von Oligolipidbilagen kann durch das Fusionieren von Vesikeln^[122] oder durch Rotationsbeschichtung^{[20][70]} erfolgen. Da jedoch aufgrund der erhöhten NR- und XRR-Reflektivität auf ein System mit vielen Bilagenschichten übereinander zurückgegriffen wird, bietet sich in aller erster Linie das Rotationsbeschichten als Methode an.^[8] Durch die Rotationsbeschichtung im Lösungsmittel Chloroform und das anschließende Vakuumtrocknen können Oligolipidbilagen ohne das Lösungsmittel erhalten werden.^[20] Die Oligolipidbilagensysteme können darauffolgend an Luft charakterisiert werden, sodass bereits einige Rückschlüsse auf das System möglich sind. Zudem sind die Systeme nach der Trocknung unkompliziert zu beispielsweise Großforschungseinrichtungen zu transportieren.

In Unterkapitel 5.1 soll die Frage geklärt werden, wie ein einfach zu transportierendes Oligolipidbilagensystem gewünschter Dicke hergestellt werden kann, während in Abschnitt 5.2 die Frage beleuchtet wird, wie das Höhenprofil der erstellten Systeme aussieht. Daran schließen sich die XRR-Messungen in Unterkapitel 5.3 an, mithilfe derer die lamellaren Schichtdicken für DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit und ohne Chol bestimmt werden. Abgerundet wird das Kapitel durch die Zusammenfassung in Abschnitt 5.4.

5.1 Ellipsometriemessungen

Zur Bestimmung der Gesamtschichtdicke des getrockneten Systems bietet sich in erster Linie SE an, da die Messungen vor Ort und schnell erfolgen können. Die Dicke der Proben, die mittels SE-Messungen ermittelt wurden, konnten im Anschluss mit den folgenden XRR-Messungen bestätigt werden. Die Abweichung der Gesamtschichtdicken an Luft betragen dabei nie mehr als 2σ , wobei der typische Fehler knapp unter 1σ liegt. Zur Herstellung der Oligolipidbilagensysteme wurde die Gesamtschichtdicke in Abhängigkeit von der Massenkonzentration des im Chloroform gelösten DMPC bestimmt. Bei den durchgeführten Messungen drehte sich der Rotationsbeschichter für eine Sekunde bei 500 Umdrehungen und anschließend für 40 Sekunden mit 3.000 Umdrehungen pro Minute. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.1 dargestellt.

Ein offensichtlicher Vorteil der Rotationsbeschichtung besteht gemäß Abbildung 5.1 darin, dass die gewünschte Gesamtschichtdicke der Oligolipidbilagen durch die Wahl der Massenkonzentration gezielt gesteuert werden kann. Neben der Massenkonzen-

5. Messungen an Luft

tration spielen die Rotationsgeschwindigkeit beim Beschichten und der Umstand, ob eine Stufe mit niedriger Umdrehungszahl vorgeschaltet wurde, ebenfalls eine Rolle. Durch das Absenken der Drehgeschwindigkeit auf 100 bis 200 Umdrehungen pro Minute ist es möglich, Filme herzustellen, bei denen die Bilagenanzahl im Bereich von 100 bis 1.000 liegt.^[20]

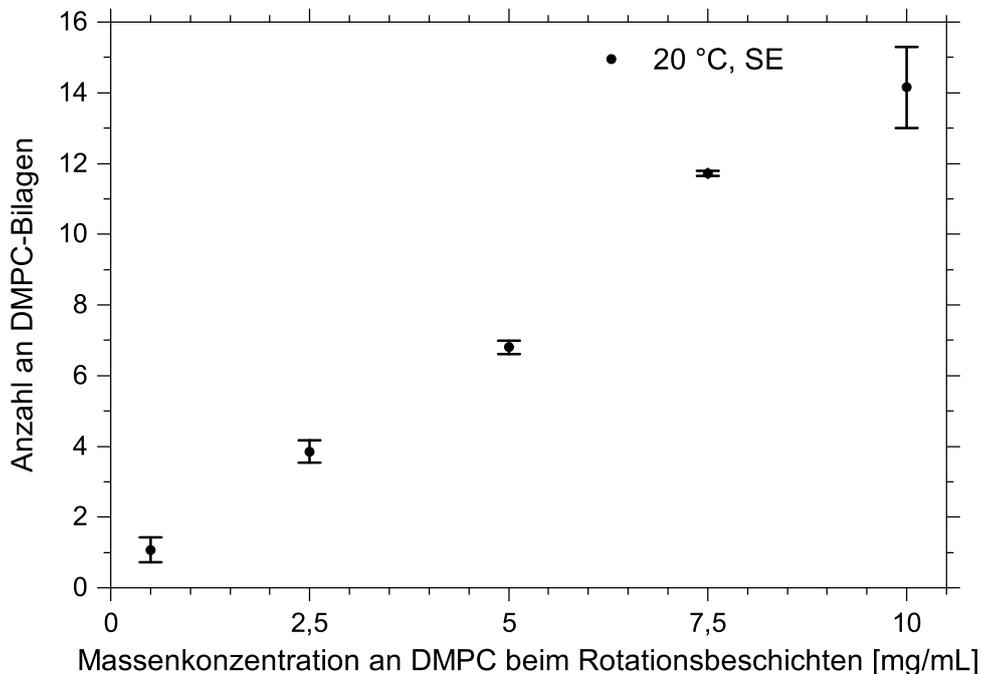


Abbildung 5.1. Mittels SE bestimmte Bilagenanzahl rotationsbeschichteter und vakuumgetrockneter DMPC-Filme in Abhängigkeit von der Massenkonzentration des in Chloroform gelösten DMPCs. Die verwendete Drehzahl beträgt für die erste Sekunde 500 Umdrehungen pro Minute und für die folgenden 40 Sekunden 3.000 Umdrehungen pro Minute.

Bei einer Beschichtung mit 4.000 Umdrehungen pro Minute auf einem Siliziumwafer mit einem Durchmesser von zwei Zoll entspricht die Anzahl der Bilagen, die mittig auf dem Wafer vorzufinden sind, laut SE-Messungen etwa 0,5 Bilagen mehr als am Rand des Wafers. Bei einer Herabsenkung der Drehgeschwindigkeit nimmt der Dickegradient von innen nach außen stark zu. Eine Verringerung der Umdrehungsgeschwindigkeit führt somit sowohl zu einer Erhöhung der Bilagenanzahl, als auch zu einem größeren Bilagenanzahlgradienten.

Die kontinuierliche Abnahme der Gesamtschichtdicke von innen nach außen wirft die Frage nach der Struktur des Filmes auf. Von innen nach außen könnte die Bilagenanzahl aufgrund der Präparationsmethode abfallen, wobei die Abnahme dann stufenförmig um jeweils eine Bilage denkbar wäre. Mithilfe von AFM-Messungen soll im Folgenden diese Hypothese überprüft werden.

5.2 Rasterkraftmikroskopiemessungen

In diesem Unterkapitel soll die Oberflächenstruktur der hergestellten Modellsysteme geklärt werden. Zudem soll untersucht werden, welche Einflüsse die Einlagerung von Chol auf die Struktur hat. Die SE-Messungen eignen sich zwar zur Bestimmung der Gesamtschichtdicke, jedoch ist durch die SE-Messungen noch nichts über die Topografie der Modellmembran bekannt. Diese Informationen können mithilfe von AFM-Messungen erhalten werden.

Eine AFM-Aufnahme eines DMPC-Filmes ist Abbildung 5.2 zu entnehmen. Die Domänengrößen liegen typischerweise im Bereich von unter 1 μm . Die auftretenden Loch-tiefen betragen 20 nm bis 70 nm.

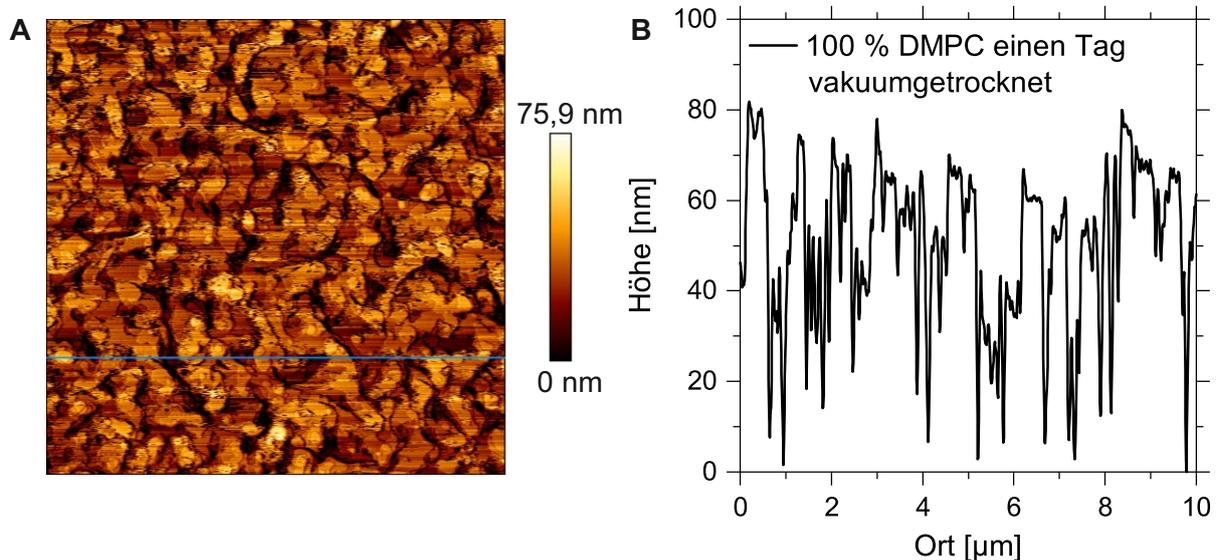


Abbildung 5.2. **A** AFM-Aufnahme eines für eine Sekunde bei 500 und 39 Sekunden bei 3.000 Umdrehungen pro Minute rotationsbeschichteten DMPC-Films mit einem Scanbereich von $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$, der einen Tag zur Trocknung im Vakuum aufbewahrt wurde. Das Höhenprofil entlang der eingezeichneten blauen Linie ist der Abbildung **B** zu entnehmen. **B** Höhenprofil entlang des der blauen Linie des Bildausschnittes in **A**. Der niedrigste gemessene Wert wurde dabei auf eine Höhe von 0 nm gesetzt.

Aus Abbildung 5.2 geht hervor, weshalb bei den SE-Messungen in Kapitel 5.1 als Gesamtschichtdicke nicht ausschließlich das $(N + \frac{1}{2})$ -fache der Bilagendicke für die Gesamtschichtdicke gemessen wurde. Da innerhalb eines kleinen Bereichs die Oberflächenstruktur sehr inhomogen ist, wird bei der SE-Messung über den ausgeleuchteten Bereich gemittelt und die dadurch erhaltene Bilagenanzahl ist nicht notwendigerweise das $(N + \frac{1}{2})$ -fache der Bilagendicke. Bei einer solch inhomogenen Oberfläche stellt sich die Frage, ob überhaupt Oligolipidbilagen vorliegen. Dieser Frage wird bei den XRR-Messungen in Abschnitt 5.3 nachgegangen.

Wie in Kapitel 4.2 dargelegt, ist Chol ein wichtiger Bestandteil eukaryotischer Membranen. Um Rückschlüsse auf den Einfluss von Chol auf das Oligolipidbilagensystem zie-

5. Messungen an Luft

hen zu können, wird im Folgenden auch ein Film mit einem Chol-Anteil von 30 % untersucht. Die entsprechende AFM-Aufnahme mit einem Scanbereich von $40\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ ist in Abbildung 5.3 dargestellt.

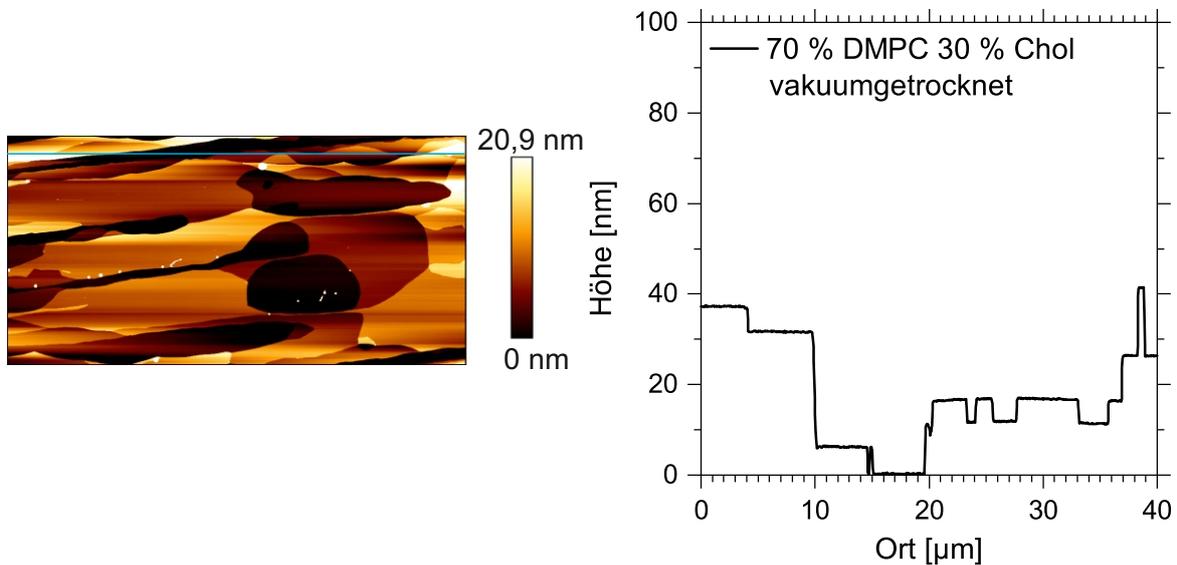


Abbildung 5.3. **A** AFM-Aufnahme eines Scanbereichs von $40\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ eines Filmes, bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol, welcher für eine Sekunde bei 500 und 39 Sekunden bei 3.000 Umdrehungen pro Minute rotationsbeschichtet wurde. Das Höhenprofil entlang der eingezeichneten blauen Linie ist der Abbildung **B** zu entnehmen. **B** Höhenprofil entlang des blau gekennzeichneten $40\ \mu\text{m}$ Bildausschnittes in **A**. Der niedrigste gemessene Wert wurde dabei auf eine Höhe von 0 nm gesetzt.

Wie in Abbildung 5.3**A** zu sehen ist, ist das aus 70 % DMPC 30 % Chol bestehende System homogener aufgebaut, was sich in selteneren Höhenänderungen niederschlägt, die auch geringer ausfallen als das ohne Chol in Abbildung 5.2 der Fall ist. Dabei liegen mit Chol große Löcher und Furchen vor. Der Abbildung 5.3**B** ist zu entnehmen, dass die Höhe der auftretenden Stufen in etwa der Dicke oder ganzzahligen Vielfachen der Dicke von Bilagen entspricht, wie sie mit knapp 5 nm Tabelle 4.4 zu entnehmen ist. Obgleich das Höhenprofil in Abbildung 5.3**B** trotz der vierfachen Scanstrecke viel weniger Sprünge aufweist als das Höhenprofil in Abbildung 5.2**B**, ist auch diese Struktur nicht homogen und die Anzahl an Bilagen variiert im Bereich von $40\ \mu\text{m}$ stark, ist aber im Bereich von einigen Mikrometern konstant. Innerhalb eines Oligolipidbilagensystems variiert jedoch die Bilagenanzahl N stark.

Im Anhang in Kapitel C sind noch eine Vielzahl weiterer AFM-Messungen dargestellt, mithilfe derer untersucht wurde, wie die Oberflächenstruktur der Systeme optimiert werden kann. Die dabei variierten Parameter sind die Länge und der Zeitpunkt einer Vakuumtrocknung. Zudem wurden die Auswirkungen einer Heizplattentrocknung und die Einflüsse unterschiedlicher Drehgeschwindigkeiten beim Rotationsbeschichten untersucht. Um auch den Einfluss der Kettenlänge des verwendeten Lipids zu studieren, wurde zudem die Oberflächenbeschaffenheit von DPPC-Systemen untersucht.

5.3 Röntgenreflexionsmessungen

Um tiefere Einblicke in Systeme an Luft zu erhalten und auch Rückschlüsse auf die Bilagendicken, Gesamtschichtdicke und Rauigkeiten ziehen zu können, werden in diesem Unterkapitel XRR-Messungen zu Rate gezogen. Zunächst stehen in den Abschnitten 5.3.1 sowie 5.3.2 für Oligolipidbilagensysteme bestehend aus DMPC und 70 % DMPC 30 % Chol die Anpassung der Messdaten mithilfe des in Abschnitt 4.5.1 beschriebenen Modells und die Bestimmung der lamellaren Schichtdicke im Vordergrund. Anschließend werden als wichtige Charakteristika die Rauigkeiten in Abschnitt 5.3.2, der Wasseranteil im Kopfgruppenbereich in Abschnitt 5.3.2 und die SLD-Profile in Abschnitt 5.3.2 der beiden Systeme thematisiert.

5.3.1 100 % DMPC

Bei den Anpassungen an Luft konnte die während der Messung innerhalb der Probenzelle vorliegende Luftfeuchtigkeit nicht bestimmt werden. Diese Information wäre interessant, da bei einer Temperatur von 20,0 °C - je nach Luftfeuchtigkeit - DMPC in unterschiedlichen Phasenzuständen vorliegt.^[123] Im Folgenden wird davon ausgegangen, dass DMPC in der Gelphase vorliegt und daher durch das Modell IV von Tristram-Nagle *et al.* beschrieben werden kann.^[86]

Die Anpassung für drei Oligolipidbilagensysteme bestehend aus DMPC sind in Abbildung 5.4 dargestellt. Die zugehörigen Parameter sind Tabelle 5.1 zu entnehmen. Die Filme wurden für eine Sekunde bei einer Rotationsgeschwindigkeit von 500 Umdrehungen pro Minute und für 39 Sekunden bei 3.000 Umdrehungen pro Minute aufgebracht. Die Massenkonzentration an DMPC im Lösungsmittel Chloroform betrug $7,5 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$. Bei dieser Konzentration werden gemäß den Ellipsometriemessungen in Abbildung 5.1 etwas über zehn Bilagen erhalten. Mit dieser Anzahl an Bilagen ist die Reflektivität des Filmes hoch und die Gesamtschichtdicke ist noch nicht zu hoch, als dass dadurch die Kiessig-Oszillationen verschwinden.

Gemäß Tabelle 5.1 ergibt sich eine durchschnittliche Bilagendicke von $(53,8 \pm 0,2)$ Å. Dieser Wert liegt im erwartbaren Bereich.^[20] Die durchschnittliche Rauigkeit beträgt $\Sigma = (4,2 \pm 0,2)$ Å. Die Bestimmung des Fehlers ist dabei im Anhang in Kapitel B beschrieben. Die durchschnittliche Rauigkeit Σ liegt im unteren erwartbaren Bereich, da bereits aufgrund des Auftretens thermischer Fluktuationen eine Rauigkeit im Bereich von 3 Å erwartet wird.^[23] Mit $(3,94 \pm 0,18)$ Å bis $(4,61 \pm 0,16)$ Å liegen die Rauigkeiten im Bereich bzw. nicht statistisch signifikant oberhalb der von Campbell *et al.* bestimmten Rauigkeiten von 2,9 Å bis 4,0 Å für Lipidmonolagen.^[24] Die Auflösung wird generell in den ersten Durchläufen mit angepasst, aber danach festgesetzt, sodass kein Fehler angegeben wird.

5. Messungen an Luft

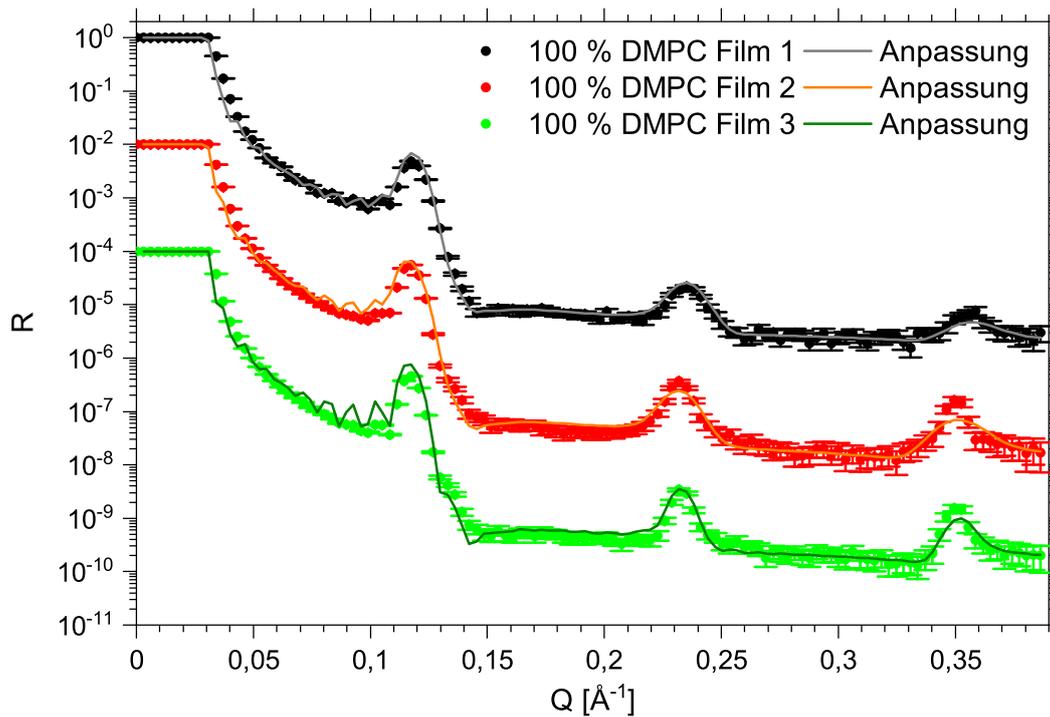


Abbildung 5.4. XRR-Daten der DMPC-Systeme an Luft mit zugehörigen Anpassungen. Für eine bessere Übersicht ist die gemessene Reflektivität von Film 2 um zwei und von Film 3 um vier Größenordnungen versetzt. Auch in den folgenden Abbildungen wird der Versatz der Reflektivitäten zwei Größenordnungen betragen, sofern dies nicht anderweitig beschrieben ist.

Tabelle 5.1. Parameter der XRR-Anpassung der DMPC-Bilagen an Luft. Die beiden Werte für N geben an, wie viele Bilagen für beide Summanden der inkohärenten Summe angenommen wurden. Der Lochanteil wird als Bestandteil der inkohärenten Summanden betrachtet und tritt nicht als weiterer Summand auf. Solange nicht anders vermerkt, sind die beiden Summanden gleich gewichtet. Der angepasste Lochanteil gibt den Lochanteil aller Bilagen an. Die Kettenlänge wurde dem Modell IV von Tristram-Nagle *et al.* entnommen und nicht angepasst.^[86]

Parameter	Film 1	Film 2	Film 3
Auflösung $\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	6,2	4,2	3,0
Σ [Å]	4,61 ± 0,16	3,94 ± 0,18	4,05 ± 0,20
N	11 & 12	10 & 11	10 & 11
d_{Kette} [Å]	30,3	30,3	30,3
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å^{-2}]	5,02 ± 0,20	5,53 ± 0,44	5,80 ± 0,39
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,96 ± 0,16	10,38 ± 0,47	10,72 ± 0,44
Lochanteil [%]	40 ± 2	34 ± 5	31 ± 5
d_{Kopf} [Å]	11,51 ± 0,04	11,91 ± 0,05	11,82 ± 0,04
d_{Bilage} [Å]	53,32 ± 0,08	54,12 ± 0,10	53,94 ± 0,08
d_{ges}	639,84 ± 0,96	595,32 ± 1,10	593,34 ± 0,88
H ₂ O pro Kopfgruppe	6,60 ± 0,07	7,23 ± 0,08	7,09 ± 0,06
χ^2	1,28	2,49	2,79

Bei den bestimmten Kopfgruppendicken d_{Kopf} ist zu beachten, dass in diesen auch die eingelagerten Wassermoleküle beinhaltet sind. Die Kiessig-Oszillationen in Abbildung 5.4 sind schwach, aber die Rauigkeiten Σ können nicht alleine die Erklärung sein, da die Intensitäten des zweiten und dritten Bragg-Peaks bei der Anpassung mit bedeutend höheren Rauigkeiten als den in Tabelle 5.1 gelisteten Werten verschwinden würde. Aus der AFM-Aufnahme in Abbildung 5.2 wird ersichtlich, dass das Oligolipidbilagensystem nicht einheitlich aufgebaut ist, sondern an unterschiedlichen Stellen unterschiedliche Anzahlen an Bilagen vorliegen. Daher wurde bei der Anpassung nicht von einer homogenen Struktur, sondern einer Superposition unterschiedlicher Bilagenanzahlen ausgegangen. Wie in der Zeile N in Tabelle 5.1 zu erkennen ist, wurde bei den dargestellten Anpassungen von einer Superposition aus zwei unterschiedlichen Anzahlen an Bilagen ausgegangen. Beide Strukturen wurden bei der Anpassung mit 50 % gewichtet. Die Gesamtschichtdicke d_{ges} ergibt sich dementsprechend aus dem gemittelten N , der Dicke der Bilage plus einer Monolage, die sich am Übergang zur Luft befindet, wie dies in Abbildung 4.13 dargestellt ist und beträgt (610 ± 15) Å. Die gemittelte Bilagenanzahl N deckt sich gut mit der Erwartung gemäß Abbildung 5.1. Das SLD-Profil für die Anpassungen der Filme 1 und 3 ist exemplarisch in Abbildung 5.5 mit den in Tabelle 5.1 notierten Parametern dargestellt. Dabei wurde für die Übersichtlichkeit und bessere Vergleichbarkeit für beide Filme eine Bilagenanzahl von elf gewählt, da dies die einzige Bilagenanzahl ist, welche bei beiden Anpassungen verwendet wurde. Der Parameter z gibt dabei die Eindringtiefe in den Film an.

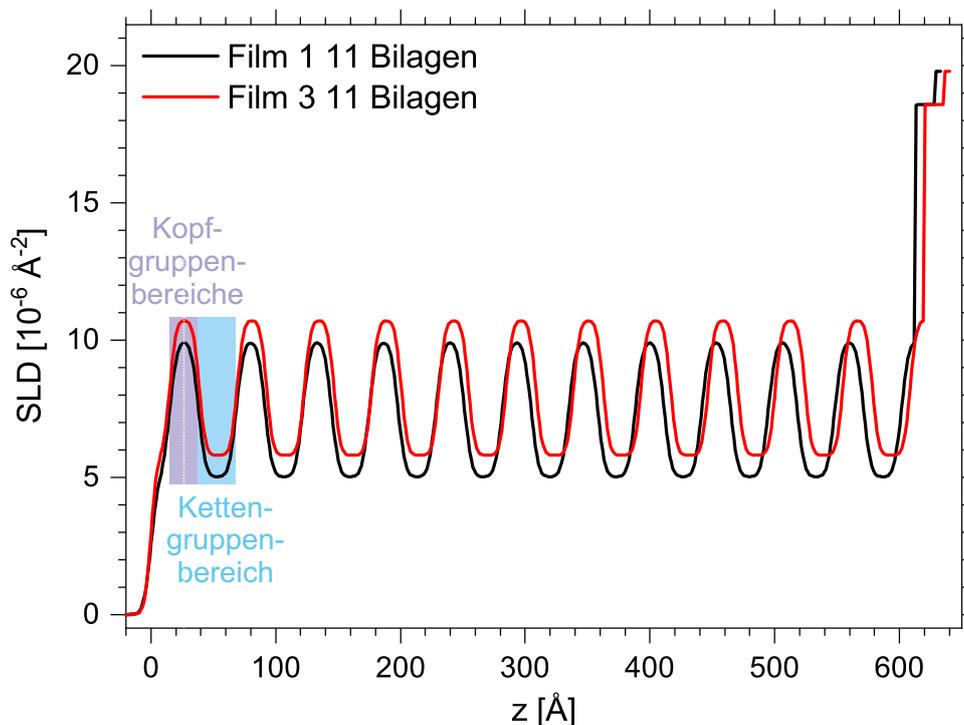


Abbildung 5.5. SLD-Profil der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus DMPC an Luft mit zugehöriger Anpassung. Exemplarisch sind Film 1 und Film 3 dargestellt.

5. Messungen an Luft

Wie Abbildung 5.5 und Tabelle 5.1 entnommen werden kann, unterscheiden sich die ermittelten SLD im Ketten- und Kopfgruppenbereich für Film 1 und Film 3, wobei der Kontrast in beiden Fällen ähnlich ist. Die Anzahl an freien Parametern könnte noch weiter gesenkt werden, indem die SLD der Kopfgruppen- und Kettenbereiche der Filme 1 bis 3 miteinander gekoppelt würden, was jedoch eine starke Verringerung der Anpassungsgüte zur Folge hätte.

Unter der Annahme, dass sich Wassermoleküle im Kopfgruppenbereich anlagern, nicht aber im Kettenbereich, kann anhand der durch die Anpassung erhaltenen SLD der Kettengruppe mithilfe der Gleichung 5.1 der Lochanteil der Filme im Medium Luft abgeschätzt werden.

$$\begin{aligned}\rho_{SL \text{ Kette}} &= (1 - \text{Lochanteil}) \cdot \rho_{SL \text{ Kette Literatur}} \\ \text{Lochanteil} &= 1 - \left(\frac{\rho_{SL \text{ Kette}}}{\rho_{SL \text{ Kette Literatur}}} \right)\end{aligned}\quad (5.1)$$

Anhand von Gleichung 5.1 wurden die Lochanteile in Tabelle 5.1 erhalten. Diese decken sich grob mit dem Lochanteil, der sich auch bspw. in Abbildung 5.2 finden lässt. Die Anteile sind etwas geringer als die in Kapitel C.5 im Anhang erhaltenen Lochanteile von etwa 50 %. Die angepassten SLD der Kopfgruppen sind größer als es gemäß Literatur zu erwarten wäre.^{[19][86]} Mit geringeren Kopfgruppen-SLD wären auch geringere Kettengruppen-SLD und damit größere Lochanteile zu erwarten.

Anhand der bestimmten Kopfgruppengröße d_{Kopf} wird auf die Anzahl an Wassermolekülen geschlossen, die sich pro Kopfgruppe anlagern, wenn davon ausgegangen wird, dass die Volumendiskrepanz zwischen der Kopfgruppe und der experimentell bestimmten Größe auf die Einlagerung von Wassermolekülen zurückzuführen ist. Dieser Ansatz wird in Gleichung 5.2 verfolgt, wobei $V_{Kopf \text{ exp}}$ das durch die Anpassung bestimmte Kopfvolumen an Luft, $V_{Kopf \text{ trocken Lit}}$ der Literaturwert des Volumens der trockenen Kopfgruppe, $V_{Wassermolekül}$ das Volumen eines Wassermoleküls und n_W die Anzahl an Wassermolekülen pro Kopfgruppe darstellt.

$$\begin{aligned}V_{Kopf \text{ exp}} - V_{Kopf \text{ trocken Lit}} &= n_W \cdot V_{Wassermolekül} \\ n_W &= \frac{V_{Kopf \text{ exp}} - V_{Kopf \text{ trocken Lit}}}{V_{Wassermolekül}}\end{aligned}\quad (5.2)$$

Der zu den Gleichungen 5.1 und 5.2 zugehörige Fehler ergibt sich gemäß Gaußscher Fehlerfortpflanzung.^[124, S. 81 f.]

Die Anzahl an Wassermolekülen pro Kopfgruppe n_W liegt gemäß Tabelle 5.1 mit 6,6 bis 7,2 unter den Angaben von Tristram-Nagle *et al.* von 8,4 für deren Modell IV.^[86] Dies ist zu erwarten, da Tristram-Nagle *et al.* mit vollständig hydratisierten Kopfgruppen arbeiteten, während bei dem hier beschriebenen Experiment kein Einfluss auf die Luftfeuchtigkeit genommen wurde.

5.3.2 70 % DMPC 30 % Chol

Neben dem System bestehend aus reinem DMPC sind ebenfalls Messungen von Interesse, bei denen neben DMPC auch 30 mol-% Chol eingelagert wird. Hierbei stellt sich die Frage, ob neben den mittels AFM bestimmten Unterschieden im Höhenprofil auch grundlegend unterschiedliche Charakteristika in den Eigenschaften der Bilagen resultieren.

Die Messdaten mit den zugehörigen Anpassungen sind Abbildung 5.6 zu entnehmen, wohingegen die abgeleiteten Parameter in Tabelle 5.2 dargestellt sind. Da die Kohärenzlänge bei den XRR-Messungen nicht bekannt ist, konnte keine Vorhersage getroffen werden, ob die Daten mit einer kohärenten Anpassung oder mittels einer inkohärenten Summe modelliert werden können. Die Messwerte des Systems 70 % DMPC 30 % Chol an Luft konnten bedeutend besser durch die Verwendung einer inkohärenten Summe angepasst werden. Um die Unterschiede zwischen inkohärenter und kohärenter Anpassung zu veranschaulichen, wurde auch eine kohärente Anpassung für Film 1 durchgeführt. Im Falle von Film 2 entsprach der χ^2 -Wert für die kohärente Anpassung mehr als dem dreifachen Wert der inkohärenten Summe, weshalb für die Gegenüberstellung kohärent-inkohärent Film 1 gewählt wurde.

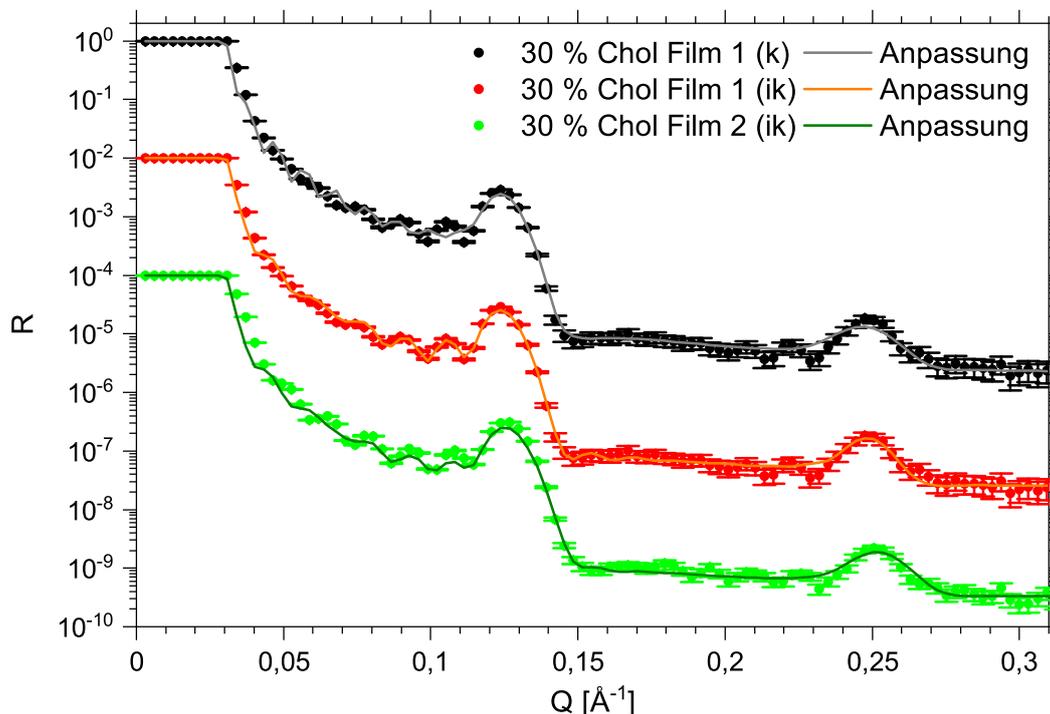


Abbildung 5.6. XRR-Daten der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol an Luft mit zugehörigen Anpassungen. Neben der kohärenten (k) Anpassung für Film 1 sind auch die inkohärenten (ik) Anpassungen für Film 1 sowie Film 2 dargestellt.

Die Bilagenanzahl N in Tabelle 5.2 wurde mittels der Kiessig-Oszillationen ermittelt. Dabei ergibt sich, dass die Daten am besten angepasst werden können, wenn ein

5. Messungen an Luft

Teil des Oligolipidbilagensystems aus neun, ein Teil aus acht und der Rest aus drei Bilagen aufgebaut ist. Welcher Teil dabei wie stark zu gewichten ist, wurde in einer anschließenden Anpassung ermittelt. Da mithilfe der Software Motofit 0.1.16 keine Verschränkung der Gewichtungen dergestalt möglich war, dass die Gewichtung aller drei Bestandteile des Systems in Summe zusammen 100 % ergeben, wurden diese Werte manuell so angepasst, dass χ^2 minimiert wurde und die Summe aus den drei Teilen zusammen 100 % ergibt. Diese manuell angepassten Werte wurden anschließend festgesetzt und alle weiteren Parameter erneut angepasst. Folglich wird für Gewichtung der drei Summanden bei den inkohärenten Summen kein Fehler angegeben. Wie Abbildung 5.6 entnommen werden kann, gelingt besonders die Anpassung der Kiessig-Oszillationen deutlich besser, wenn eine inkohärente Summe angenommen wird, als das bei der kohärenten Anpassung der Fall ist.

Anhand der in Tabelle 5.2 dargestellten inkohärenten Anpassungen resultiert eine Rauigkeit von $\Sigma = (7,3 \pm 0,2) \text{ \AA}$ und eine Bilagendicke von $d_{\text{Bilage}} = (49,8 \pm 0,4) \text{ \AA}$.

Tabelle 5.2. Parameter der XRR-Anpassungen der Oligolipidbilagen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol an Luft. Zur Gegenüberstellung ist an dieser Stelle angegeben, ob es sich um eine kohärente (k) oder inkohärente Anpassung (ik) handelt. Im Folgenden ist an der Bilagenanzahl N abzulesen, in welcher Form die Anpassung erfolgt. Bei der Angabe einer Bilagenanzahl liegt eine kohärente Anpassung vor, wohin bei der Angabe unterschiedlicher Bilagenanzahlen für dasselbe System eine inkohärente Anpassung vorgenommen wird.

Parameter	Film 1 (k)	Film 1 (ik)	Film 2 (ik)
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} } [\%]$	7,8	5,1	6,7
$\Sigma [\text{\AA}]$	7,48 ± 0,21	7,45 ± 0,15	7,15 ± 0,21
N	11	9 (36 %) 8 (55 %) 3 (9 %)	9 (45 %) 8 (45 %) 6 (10 %)
$d_{\text{Kette}} [\text{\AA}]$	35,3	35,3	35,3
$\rho_{SL \text{ Kette}} [10^{-6} \text{\AA}^{-2}]$	5,68 ± 0,35	5,15 ± 0,24	4,50 ± 0,37
$\rho_{SL \text{ Kopf}} [10^{-6} \text{\AA}^{-2}]$	11,40 ± 0,24	12,01 ± 0,21	11,74 ± 0,31
Lochanteil [%]	36 ± 4	42 ± 3	50 ± 4
$d_{\text{Kopf}} [\text{\AA}]$	7,61 ± 0,08	7,43 ± 0,05	7,09 ± 0,08
$d_{\text{Bilage}} [\text{\AA}]$	50,52 ± 0,16	50,16 ± 0,10	49,48 ± 0,16
$d_{\text{ges}} [\text{\AA}]$	581,0 ± 1,8	421,8 ± 0,8	433,0 ± 1,4
Anzahl an Wassermolekülen Kopfgruppe	2,0 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1
χ^2	1,16	0,64	1,53

Rauigkeiten

Die Rauigkeiten Σ der Filme haben durch die Einlagerung von Chol deutlich zugenommen und liegen nicht mehr im Bereich, der für thermische Fluktuationen erwartet wird.^[23] Die Zunahme der Rauigkeit beträgt im Vergleich zum System ohne Chol über zehn Standardabweichungen und ist somit statistisch signifikant. Die Berechnung, ob eine Abweichung statistisch signifikant ist, erfolgt gemäß Gleichung B.1 im Anhang. Eine Zunahme ist bei dem verwendeten Modell zu erwarten, da sich die Chol-Moleküle in dem Bereich der Kettengruppe anlagern, der an die Kopfgruppen grenzt. Der Übergang vom Kopfgruppen- zum Kettengruppenbereich ist daher nicht mehr so scharf, wie das ohne Chol der Fall ist. Zudem ist die SLD im Kettenbereich durch die Anwesenheit von Chol weniger homogen, da die Chol-Moleküle kürzer sind als die DMPC-Kettengruppe. Da die Rauigkeit an allen Übergängen als gleich groß angenommen wird, führt die lokale Zunahme der Rauigkeit dazu, dass die generell angenommene Rauigkeit zunimmt.

Eine andere Möglichkeit wäre, dem Umstand dahingehend zu begegnen, dass der Bereich der Kettengruppen, in dem sich das Chol anlagert, als getrennte Schicht behandelt wird, wie es beispielsweise Giri *et al.* angenommen haben. Dabei wird zwischen einem kürzeren an die Kopfgruppen grenzenden Kettenbereich mit hoher Dichte und einem längeren Kettenbereich geringerer Dichte unterschieden.^[92]

Bei den eigenen Anpassungen, die mit diesem Zwei-Kettenmodell durchgeführt wurden, liefen einige Parameter stets gegen ihre Grenze. Zudem nahmen - unter anderem auch aufgrund der Erhöhung der Parameteranzahl - die relativen Fehler der Parameter stark zu. Der wichtigste Grund, weshalb das Modell jedoch in dieser Arbeit nicht verwendet wird, ist, dass die Anpassungsgüte sich dramatisch verschlechterte. So lag der Wert für χ^2 stets im Bereich von über zehn. Bei den meisten Anpassungen lag jedoch die so ermittelte Rauigkeit Σ bedeutend unter den Rauigkeitswerten des Modells, welches in Abbildung 4.13 dargestellt ist.

Die geringere angepasste Rauigkeit im Zwei-Kettenmodell ist auf die größere Anzahl an Übergängen im SLD-Profil zurückzuführen. Gerade für die Anpassungen mit NP wäre ein höher auflösendes Modell mit geringen Rauigkeiten von Vorteil, aber da gleichzeitig die Fitgüte und die Fehler der Parameter stark ansteigen, ist es sinnvoll, an dem bisherigen Modell - auch für Bilagensysteme mit Chol - festzuhalten.

H₂O-Einlagerungen an die Kopfgruppe

Die angepasste $\rho_{SL\ Kopf}$ ist bei reinem DMPC kleiner als bei den Filmen, die zusätzlich Chol enthalten. Dieses Ergebnis ist zu erwarten, da gemäß Literatur durch die Einlagerung von Chol die Hydrophobie des Filmes zunimmt^[125] und die SLD von Wasser geringer ist als die der Kopfgruppe.^[19]

5. Messungen an Luft

Die Dicken von Membranen mit Chol sind unabhängig von der Luftfeuchtigkeit und somit auch nicht abhängig von der Hydratisierung, sodass in der Literatur in Bezug auf Chol auch von einem Bilagendickenpuffer hinsichtlich der Luftfeuchtigkeit die Rede ist.^[94] Zudem sind durch die deutlich stärkere Einlagerung von Wassermolekülen in die Kopfgruppen die Bilagendicken, bei denen die angelagerten Wassermoleküle berücksichtigt werden, im Falle von reinem DMPC, größer. Hier ist festzuhalten, dass die Abnahme der lamellaren Schichtdicke über neun Standardabweichungen beträgt, sodass auch diese Änderung statistisch signifikant ist. Der Lochanteil scheint bei allen Systemen ähnlich zu sein, wobei System 1 mit 70 % DMPC 30 % Chol mit einem besonders hohen Lochanteil auffällt.

SLD-Profile

Das SLD-Profil für die Anpassungen des Films 1 bestehend 70 % DMPC 30 % Chol aus der Abbildung 5.6 mit den in Tabelle 5.2 notierten Parametern ist in Abbildung 5.7 dargestellt.

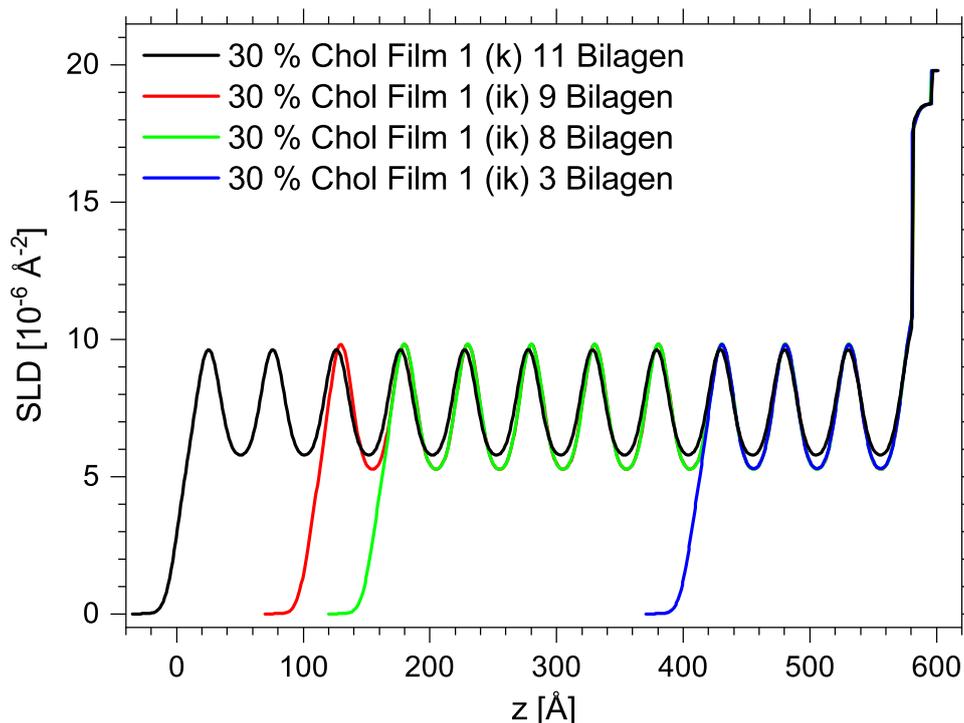


Abbildung 5.7. SLD-Profil des Oligolipidbilagensystems 1 bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol an Luft in Abhängigkeit vom Ort z . Dabei liegen negative Werte von z in der Luft und nähern sich mit zunehmendem z dem Substrat. Somit beginnt bei 0 \AA die nach außen stehende Monolage für die kohärente Anpassung. Aufgrund der Rauigkeit ist die SLD auch bei sehr schwach negativen Werten für z größer als 0 . Die Profile wurden in z -Richtung dergestalt verschoben, dass sich das Substrat für die beiden Profile an derselben Stelle befindet. In schwarz ist die kohärente Anpassung (k) und in Farbe sind die drei Teile der inkohärenten Summe (ik) dargestellt.

Dabei wird die kohärente Anpassung der inkohärenten gegenübergestellt. An dieser Stelle ist aufgrund der Anpassungen der Kiessig-Oszillationen in Abbildung 5.6 klar, dass die kohärente Anpassung keine sinnvollen Ergebnisse liefern kann. Obgleich der χ^2 -Wert nicht bedeutend höher und der bestimmte Lochanteil ähnlich ist, fällt auf, dass sich die ermittelten Gesamtschichtdicken stark unterscheiden. Der Grund hierfür liegt darin, dass durch die kohärente Anpassung der Bragg-Peak und die Kiessig-Oszillationen nicht gleichzeitig treffend angepasst werden können.

Indem eine hohe Gesamtschichtdicke angenommen wird, können die Kiessig-Oszillationen ein Stück weit unterdrückt werden, sodass sich an dieser Stelle eine bessere Übereinstimmung mit den Messdaten ergibt. Durch die höhere Bilagenanzahl steigt jedoch auch die Intensität des Bragg-Peaks. Um dem entgegenzuwirken, wird der Kontrast im SLD-Profil geringer, wie aus Abbildung 5.7 hervorgeht. Dies führt wiederum zu einer Absenkung der Intensität des Bragg-Peaks. Es verwundert somit nicht, dass bei der kohärenten Anpassung die Bilagenanzahl deutlich höher und dafür der Kontrast zwischen Kopf- und Kettengruppe geringer ausfällt. Beim Vergleich des SLD-Profiles mit der entsprechenden Anpassung ohne Chol in Abbildung 5.5 fällt besonders die Zunahme der Rauigkeiten bei der Einlagerung von Chol auf.

5.4 Zusammenfassung

Abschließend wird festgestellt, dass sich das bei den XRR-Messungen verwendete Modell eignet, um die erhaltenen Rohdaten anzupassen. Dies wird besonders bei den Filmen mit einem Chol-Anteil von 30 % deutlich. Insgesamt ist bei den Messungen an Luft festzuhalten, dass aufgrund der sich ergänzenden verschiedenen Messmethoden ein genaueres Bild des Systems erhalten wird. Wie SE-Messungen zeigen, ist es möglich, anhand der Variation der Massenkonzentration beim Rotationsbeschichten die gewünschte Bilagenanzahl zu generieren.

Derweil belegen AFM-Messungen, dass das entstandene Oligolipidbilagensystem nicht frei von Defekten ist, sondern sich durch eine große Inhomogenität auszeichnet. Systeme mit einem Chol-Gehalt von 30 % haben über größere Gebiete ähnliche Gesamtschichtdicken, wobei dementsprechend auch die Löcher breiter sind. Bei höheren Chol-Anteilen erstrecken sich somit die Verwerfungen über ein größeres Gebiet, sodass diese durchaus größer werden können als beispielsweise die Kohärenzlängen bei NR-Messungen. XRR-Messungen zeigen, dass durch die Einlagerung von Chol an Luft die lamellare Schichtdicke signifikant abnimmt, während - bei der Beibehaltung eines ähnlichen Modells - die angepasste Rauigkeit signifikant zunimmt.

Ausgehend von diesen Erkenntnissen wird das System im nächsten Schritt mit Wasser in Kontakt gebracht, um den Einfluss von Ionen und Nanopartikeln auf die Lipidfilme zu untersuchen.

6 Wässriges Milieu

Es stellt sich in diesem Kapitel die Frage, inwieweit die Eigenschaften des Systems durch die Zugabe von Wasser verändert und im nächsten Schritt, in welcher Form die Systeme durch die Interaktionen mit NP beeinflusst werden. Um dabei zunächst - soweit wie möglich - nur den Einfluss des Wassers zu messen, wird kein Puffer verwendet. Durch die Anwesenheit von Kohlenstoffdioxid in der Luft liegt der experimentell bestimmte und theoretisch vorhergesagte pH-Wert in der wässrigen Lösung etwa bei 6.^[126, S. 87 ff.] Die Auswirkungen von Salzen auf das System werden in Kapitel 8 beleuchtet.

Zunächst werden die Auswirkungen der Wasserzugabe auf die bereits an Luft charakterisierten Systeme mithilfe von NR-Messungen und XRR-Messungen in den Unterkapiteln 6.1 sowie 6.2 untersucht. Zusätzlich werden auch Systeme mit einem Chol-Gehalt von 10 %, 20 % und 50 % thematisiert.

Anschließend werden geladene Lipide in die Membranen integriert und deren Interaktion mit Wasser mithilfe von SE- und NR-Experimenten in den Abschnitten 6.3 und 6.4 untersucht. Zum tieferen Verständnis der Ergebnisse werden in Unterkapitel 6.5 Strömungspotentialmessungen an DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Systemen durchgeführt und danach wird in Abschnitt 6.6 die Interaktion von geladenen Oligolipidbilagensystemen mit AuNP untersucht. Als Abschluss des Kapitels werden in Unterkapitel 6.7 die Ergebnisse zusammengefasst.

6.1 Neutronenreflexionsmessungen an ungeladenen Systemen

Da NR-Messungen die Probe schonen, können bei Messungen, die sich über einen langen Zeitraum erstrecken, Veränderungen und etwaige Beschädigungen der Probe auf Interaktionen innerhalb des Modellsystems zurückgeführt werden. Daher wird diese Methode zunächst gewählt, sodass im Folgenden darauf aufbauend mit anderen Messmethoden das Bild verfeinert werden kann.

Die Messmethode wurde nicht zur Charakterisierung der Proben an Luft verwendet. Der Grund besteht darin, dass die rar gesäte NR-Messzeit vollständig zur Charakterisierung des Systems in wässriger Umgebung verwendet wurde, um dabei die Interaktionen der Membranen mit Komponenten der Lösung untersuchen zu können.

Zu Beginn werden reine DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Abschnitt 6.1.1 charakterisiert. Anschließend wird der Chol-Anteil schrittweise auf 10 %, 20 %, 30 % und 50 % in den Abschnitten 6.1.2, 6.1.3, 6.1.4 und 6.1.5 erhöht.

6.1.1 100 % DMPC

Zunächst wird ein DMPC-Oligolipidbilagensystem gewählt, da es lediglich aus einer Komponente besteht. Die Messpunkte und die zugehörigen Anpassungen sind in Abbildung 6.1 dargestellt. Bei den hier und im Folgenden gezeigten Daten befinden sich die Systeme in einem Gleichgewichtszustand. Das Vorliegen des Gleichgewichtszustandes wurde mindestens mit einer Wiederholungsmessung verifiziert, bei welcher die Messdaten sehr gut mit der Messung davor übereinstimmten. Dies gilt gleichermaßen für NR-Messungen und XRR-Messungen. Der zeitliche Versatz zwischen beiden Messungen beträgt bei NR-Messungen mindestens eine Stunde, aber sehr oft auch zwei bis drei Stunden. Bei XRR-Messungen kann der Versatz in manchen Fällen nur 30 Minuten betragen.

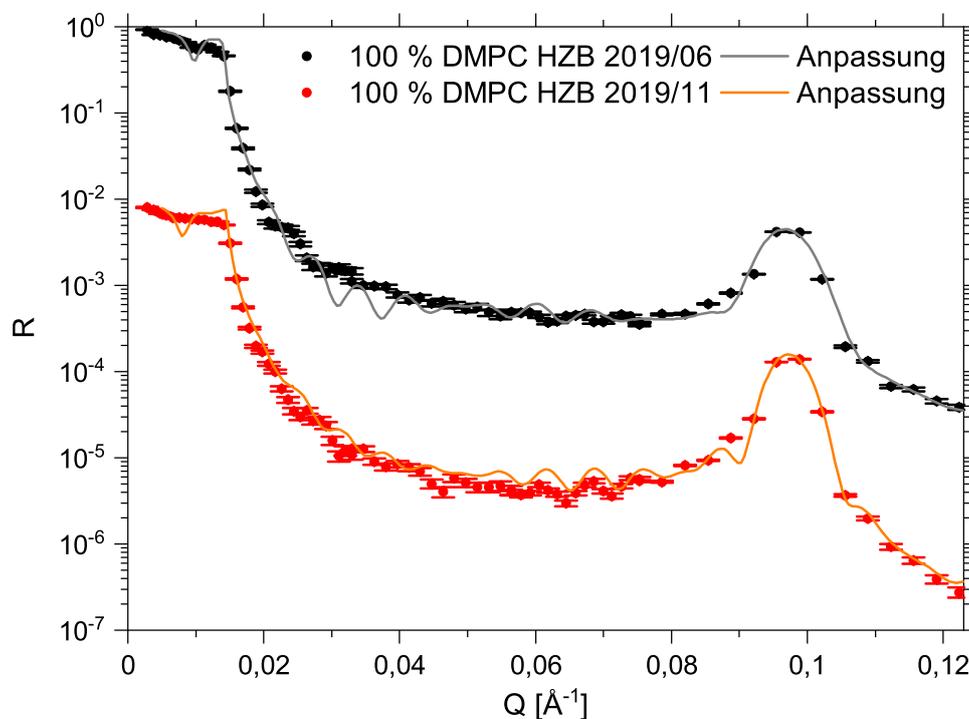


Abbildung 6.1. NR-Daten des Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPC in schwerem Wasser mit zugehörigen inkohärenten Anpassungen.

Die erhaltenen Parameter der NR-Anpassungen sind Tabelle 6.1 zu entnehmen. Während bei den Anpassungen an Luft die Kopfgruppendinge verwendet wurde, um die lamellare Schichtdicke so zu variieren, dass die Lage des Bragg-Peaks mit den Messdaten übereinstimmt, beeinflusst in wässrigen Lösungen zusätzlich die Wasserzweischichtdicke die lamellare Schichtdicke. Aufgrund des zweiten variablen Parameters kann die Kopfgruppengröße nicht mehr zuverlässig bestimmt werden.

Deshalb und auch zur Vereinfachung wird die Annahme getroffen, dass die Größe der solvatisierten Kopfgruppen in etwa gleich groß ist, wie das bei Modell IV von Tristram-

6. Wässriges Milieu

Nagle *et al.* der Fall ist. Somit werden pro Kopfgruppe 8,4 Wassermoleküle angenommen und die Anzahl der anzupassenden Parameter reduziert sich um zwei: die Größe der Kopfgruppe und die zugehörige SLD.

Tabelle 6.1. Parameter der NR-Anpassungen der DMPC-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 20,0 °C.

Parameter	HZB 2019/06	HZB 2019/11
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	4,8 ± 0,0	3,6 ± 0,0
Σ [Å]	9,76 ± 0,03	6,11 ± 0,04
$i\rho_{SL}$	0,134 ± 0,001	0,106 ± 0,001
N	11 & 14	12 & 15
d_{Kette} [Å]	30,3	30,3
d_{W1} [Å]	3,3 ± 0,2	8,0 ± 0,2
d_{W2} [Å]	9,05 ± 0,01	8,71 ± 0,01
d_{W3} [Å]	22,9 ± 0,1	16,3 ± 0,2
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	-0,41	-0,41
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	3,88	3,88
$\rho_{SL\ Wasser}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	6,051 ± 0,004	6,318 ± 0,004
Lochanteil [%]	29,5 ± 0,1	15,4 ± 0,1
d_{Kopf} [Å]	12,7	12,7
d_{Wh} [Å]	64,69 ± 0,02	64,35 ± 0,02
d_{ges} [Å]	807,7 ± 0,4	866,9 ± 0,5
χ^2	12.067	9.197

Ogleich die AFM-Aufnahmen an Luft im Vergleich zur Kohärenzlänge der Neutronen die Erwartung weckten, dass eine kohärente Anpassung der Messdaten möglich sei, zeigen gerade die beiden Messungen, die am HZB erfolgten, dass eine kohärente Anpassung nur möglich ist, wenn die Kiessig-Oszillationen bei den Anpassungen nicht berücksichtigt werden.

In Abbildung 6.1 sind im Bereich von $0,05 \text{ \AA}^{-1} < |\vec{q}| < 0,1 \text{ \AA}^{-1}$ Kiessig-Oszillationen ersichtlich, welche außerhalb dieses Bereichs nicht auftreten. Um diese schwachen Strukturen ausschließlich in diesem Bereich simulieren zu können, ist für die Anpassungen die Verwendung inkohärenter Summen notwendig, wie sie Abbildung 6.1 und Tabelle 6.1 zugrunde liegen.

Im Vergleich zu den an Luft erhaltenen Rauigkeiten sind diese durch die Anwesenheit von Wasser stark angestiegen, wie ein Vergleich von Tabelle 6.1 mit Tabelle 5.1 zeigt. Betrug die mittels XRR-Messungen bestimmte Rauigkeit an Luft noch $(4,2 \pm 0,2) \text{ \AA}$, liegt sie hier in Wasser bei $(7,9 \pm 1,8) \text{ \AA}$. Die Zunahme der Rauigkeit ausgehend von den XRR-Messungen an Luft hin zu den NR-Messungen in Wasser entspricht 2,0 Stan-

Standardabweichungen und ist daher nicht statistisch signifikant. Hierbei ist zu beachten, dass bei der Datenprozessierung der XRR-Messungen die Reflektivität im Bereich der Totalreflexion auf eins gesetzt wird, wie dies in Kapitel 2.2.4 beschrieben ist.

Die lamellare Schichtdicke ist von $(53,8 \pm 0,2)$ Å an Luft auf $(64,5 \pm 0,2)$ Å in Wasser angestiegen, wobei die Zunahme über 35 Standardabweichungen beträgt und somit statistisch signifikant ist. Während bei den Systemen in Wasser die Lochanteile mit $(29,5 \pm 0,1)$ % und $(15,4 \pm 0,1)$ % stark variieren, liegen die Dicken der Wiederholeinheiten d_{wh} mit $(64,69 \pm 0,02)$ Å und $(64,35 \pm 0,02)$ Å eng beieinander.

Bei Anpassungen der NR-Messungen wird auch die iSLD angepasst. Diese wird für die Kopf- und Kettengruppen modelliert und dient der Simulation der nicht-spekularen Reflexion. Die Anpassung erfolgt in erster Linie durch die Reflektivität im Bereich der Totalreflexion. Durch das in Kapitel 2.1.9 beschriebene Procedere werden auch für die Messungen am HZB Reflektivitätswerte im Totalreflexionsbereich erhalten, die unter eins liegen. Somit kann für die NR-Anpassungen dasselbe Modell verwendet werden, unabhängig davon, ob die Daten am HZB oder am ILL gewonnen wurden.

Mit den in Tabelle 6.1 gelisteten Parametern, die bei der Anpassung für Abbildung 6.1 verwendet wurden, ergeben sich die in Abbildung 6.2 dargestellten SLD-Profile.

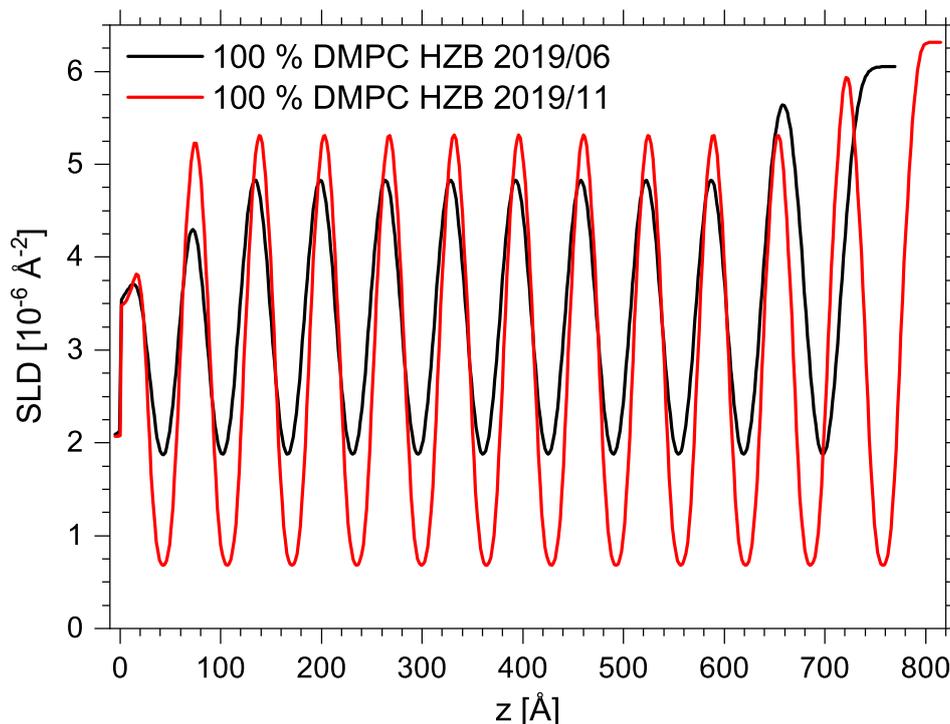


Abbildung 6.2. SLD-Profile der DMPC-Systeme in schwerem Wasser. Als Bilagenanzahl wurde die geringere Anzahl aus Tabelle 6.1 verwendet. Im Gegensatz zu den XRR-Messungen verläuft die z -Achse in die umgekehrte Richtung und bei $z < 0$ Å befindet sich das Substrat. Die Kopfgruppen-SLD lässt sich an dem auf dem Substrat aufliegenden Kopfgruppenbereich, welches das erste Maximum bildet, abschätzen. An den lokalen Minima der SLD-Profile lässt sich der Wasseranteil abschätzen, da ein hoher Lochanteil in den Ketten zu einem hohen Wasseranteil führt. Je höher die Kettengruppen-SLD ist, umso höher liegt der resultierende Lochanteil.

Hierbei sind die unterschiedlichen Wasseranteile, Rauigkeiten und Schichtdicken für die Wasserschicht 1 und 3 erkennbar. Im Gegensatz zu den XRR-SLD-Profilen ist bei den NR-SLD-Profilen ein höherer Wasseranteil vergleichsweise einfach zu erkennen, da die SLD von schwerem Wasser höher ist als die SLD der Kopf- und Kettengruppen. Folglich macht sich die Wassereinlagerung in einer Zunahme der Kopfgruppen- und Kettengruppen-SLD bemerkbar.^[19]

Eine Gemeinsamkeit zu den bisherigen XRR-SLD-Profilen ist, dass die SLD in Abbildung 6.2 im Kopfgruppenbereich höher ist als im Kettengruppenbereich, was primär auf die höhere Massendichte im Kopfgruppenbereich zurückzuführen ist. Durch die Zugabe von Wasser bildet sich eine Wasserzwichenschicht aus. Aufgrund der angenommenen Rauigkeiten und der relativ geringen Zwischenschichtdicke wird in diesem Bereich jedoch nicht die SLD von Wasser erreicht.

6.1.2 90 % DMPC 10 % Chol

Während mittels XRR-Messungen lediglich DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit einem Chol-Gehalt von 30 % charakterisiert wurden, wird an dieser Stelle ein System mit einem Chol-Anteil von 10 % untersucht. Dabei werden die in Tabelle 4.2 gelisteten Parameter verwendet.

Am HZB wurden 2019 zwei Systeme mit 10 % Chol charakterisiert. Eines der beiden ist mit zugehöriger Anpassung in Abbildung 6.3 dargestellt, wobei die zugehörigen Parameter in Tabelle 6.2 gelistet sind.

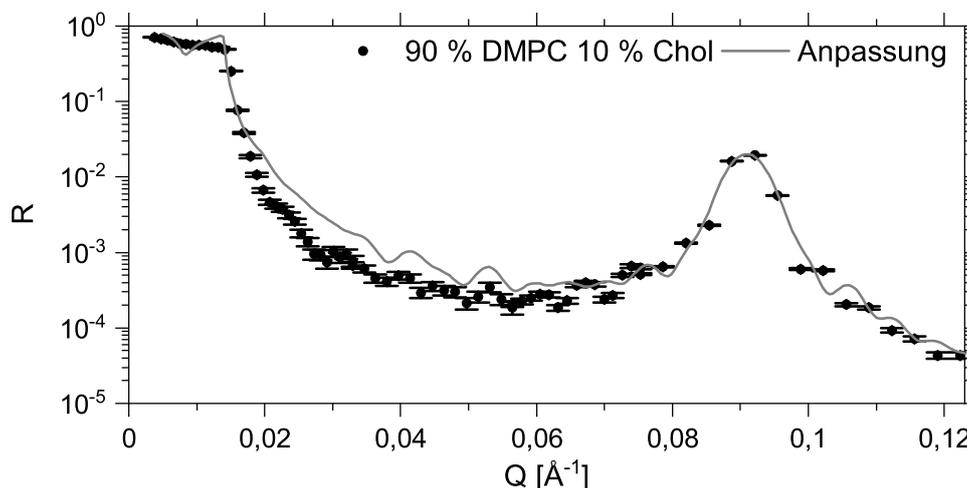


Abbildung 6.3. NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 90 % DMPC 10 % Chol in schwerem Wasser mit zugehöriger Anpassung (ik).

Wie aus Abbildung 6.3 hervorgeht, sind die Positionen der Kiessig-Oszillationen und die des Bragg-Peaks in der Anpassung an der richtigen Stelle, jedoch liegt die angepasste Reflektivität kurz nach der Totalreflexionskante bis kurz vor dem Bragg-Peak bei höheren Reflektivitätswerten als die Messdaten. Auch durch eine Erhöhung der

Anzahl angepasster Parameter - um beispielsweise die Länge und SLD der Ketten - verbessert die Anpassung nicht.

Tabelle 6.2. Parameter der NR-Anpassungen der 90 % DMPC 10 % Chol-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 20,0 °C.

Parameter	HZB 2019/11
$\frac{\Delta \bar{q} }{ \bar{q} }$ [%]	2,1
Σ [Å]	2,32 ± 0,15
$i\rho_{SL}$	0,119 ± 0,001
N	8, 10 & 15
d_{Kette} [Å]	31,97
d_{Kopf} [Å]	12,19
d_{W1} [Å]	7,3 ± 0,3
d_{W2} [Å]	12,84 ± 0,01
d_{W3} [Å]	14,1 ± 0,1
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å ⁻²]	-0,36
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å ⁻²]	3,88
$\rho_{SL\ Wasser}$ [10^{-6} Å ⁻²]	6,00 ± 0,01
Lochanteil [%]	17,0 ± 0,2
d_{Wh} [Å]	69,19 ± 0,01
d_{ges} [Å]	950,7 ± 0,3
χ^2	11.705

Da auch eine Anpassung der Kettenlänge und Ketten-SLD nicht zu einer besseren Anpassungsgüte führen, kann weiterhin von einer festgesetzten SLD und Länge des Kettenbereichs ausgegangen werden. Auch eine Anpassung der SLD im Kopfgruppenbereich führte zu keiner Verbesserung der Modellierung, da der dadurch erhaltene Wert nur marginal höher wird als der ohnehin angenommene Wert, der bei einer Solvatisierung analog zu Modell IV von Tristram-Nagle *et al.* vorliegt.^[86] Die Abweichung zum verwendeten Wert liegt unter einer Standardabweichung. Die Anpassung ergibt somit, dass eine vollständige Hydratisierung des Kopfgruppenbereichs analog zu den DMPC-Filmen vorliegt.

Zur weiteren Untersuchung der Diskrepanz wurden zudem die Rohdaten auch einmal nicht gemäß Kapitel 2.1.9 prozessiert, sondern dergestalt, dass die Reflektivität im Bereich der Totalreflexionskante auf eins festgesetzt wurde. Es resultieren zwangsweise höhere Reflektivitätswerte, sodass die Abweichung geringer wird. Die Modellierung der Messdaten gelingt dadurch deutlich besser, aber die hohe Reflektivität im Bereich zwischen Abbruchkante und Bragg-Peak wird auch bei der Anpassung dieser Daten nicht vollumfänglich unterdrückt.

Bei dieser Anpassung streben neben der iSLD auch die Rauigkeiten gegen Null. Da bei den XRR-Messungen die Totalreflexionskante auch auf eins gesetzt wird und hier deutlich ersichtlich wird, dass die Beeinflussung der Reflektivität im Totalreflexionsbereich einen großen Einfluss auf die ermittelte Rauigkeit hat, sind die mittels XRR-Messungen und NR-Messungen bestimmten Rauigkeiten nicht ohne Weiteres miteinander vergleichbar. Hingegen können jedoch die mit derselben Methode erhaltenen Werte bedenkenlos zueinander in Beziehung gesetzt werden.

Die Wasserzwichenschichtdicken d_{W1-3} und der Lochanteil vergrößerten sich bei dieser Form der Anpassung leicht zu $d_{W1} = (8,4 \pm 0,4) \text{ \AA}$, $d_{W2} = (12,85 \pm 0,01) \text{ \AA}$, $d_{W3} = (14,4 \pm 0,2) \text{ \AA}$ und $Lochanteil = (23,1 \pm 0,6) \%$. Um die Vergleichbarkeit zu den anderen Anpassungen zu wahren, werden für die weitere Betrachtung die Parameter aus Tabelle 6.2 verwendet, welche aus der üblichen Prozessierung der NR-Daten erhaltenen wurden. Die Daten, welche sich aus der anderen Prozessierung mit einer Reflektivität von eins im Bereich der Totalreflexionskante ergeben, sind lediglich zum Vergleich im Anhang in Abbildung D.1 dargestellt.

Da die Anpassung der Daten, welche wie üblich prozessiert wurden, keine adäquate Beschreibung der gemessenen Reflektivität gewährleistet, sind die abgeleiteten Parameter nicht besonders belastbar. Es verwundert dennoch, dass die angepasste Rauigkeit kleiner ist als alle zuvor bestimmten Rauigkeiten. Was bei dieser Messung besonders hervorsticht, ist die Lage des Bragg-Peaks, die bei der Modellierung zufriedenstellend angepasst wurde. Nahm durch die Einlagerung von Chol bei den Messungen an Luft die lamellare Schichtdicke noch signifikant ab, so liegt die an dieser Stelle ermittelte Dicke der Wiederholeinheit für das System mit 10 % Chol mit $(69,19 \pm 0,01) \text{ \AA}$ statistisch signifikant über der Schichtdicke, welche für Oligolipidbilagensysteme bestehend aus reinem DMPC in schwerem Wasser ermittelt wurde und bei $(64,5 \pm 0,2) \text{ \AA}$ lag. Die Lage des Bragg-Peaks des im September charakterisierten Systems liefert eine lamellare Schichtdicke von $(69,62 \pm 0,05) \text{ \AA}$.

Das andere 2019 am HZB charakterisierte System hatte derart breite Bragg-Peaks, dass eine Anpassung mithilfe des in Abbildung 4.15 dargestellten Modells nicht möglich ist, da viele unterschiedliche Wasserzwichenschichten notwendig wären, um solch einen breiten Bragg-Peak zu erhalten. Die zugehörigen Daten sind im Anhang in der Abbildung D.2 den Daten, die im November erhoben wurden, gegenübergestellt. Um besser zu erkennen, dass die Lage der Bragg-Peaks bei beiden Messungen in etwa gleich ist, sind dieselben Daten in Abbildung D.3 in RQ^4 -Darstellung zu sehen.

Nachdem bereits die Einlagerung von 10 % Chol zu einer systematischen Zunahme der Wiederholeinheitendicke geführt hat, stellt sich die Frage, wie sich die Einlagerung von höheren Chol-Anteilen auf die Struktur der Systeme auswirkt und vor allem, ob die Anpassungen dann auch im Bereich zwischen Abbruchkante und Bragg-Peak gelingen.

6.1.3 80 % DMPC 20 % Chol

Im Gegensatz zu der Charakterisierung des Oligolipidbilagensystems bestehend aus 90 % DMPC 10 % Chol stehen für das System mit einem Chol-Anteil von 20 % mehr Datensätze zur Verfügung. Als Modell wird wieder das in Abbildung 4.15 beschriebene verwendet, wobei auf die Parameter, welche in Tabelle 4.3 aufgeführt sind, zurückgegriffen wird.

Die Messdaten mit den jeweiligen zugehörigen Anpassungen sind in Abbildung 6.4 dargestellt, während die erhaltenen Parameter in Tabelle 6.3 gelistet sind. Es ist davon auszugehen, dass sich durch die Einlagerung von Chol auch die Eigenschaften der Lipidbilagen ändern. Da die Daten gemäß Abbildung 6.4 sinnvoll angepasst werden können, wurde bei der Anpassung zusätzlich d_{Kopf} und $\rho_{SL\ Kopf}$ bestimmt, um Rückschlüsse auf etwaige Änderungen des Systems ziehen zu können. Aufgrund der besseren Anpassungsgüte wird dieser Sachverhalt bei diesen Datensätzen untersucht. Bei einem Chol-Anteil von 10 % war dies nicht möglich.

Wie Tabelle 6.3 entnommen werden kann, hat die Erhöhung der Parameter um zwei im Vergleich zu der Messung mit reinem DMPC - dargestellt in Tabelle 6.1 - einen enormen Anstieg der Fehler der Parameter in Tabelle 6.3 zur Folge. Durch die Anpassung der Kopfgruppengröße werden zwei Parameter angepasst, welche Auswirkungen auf

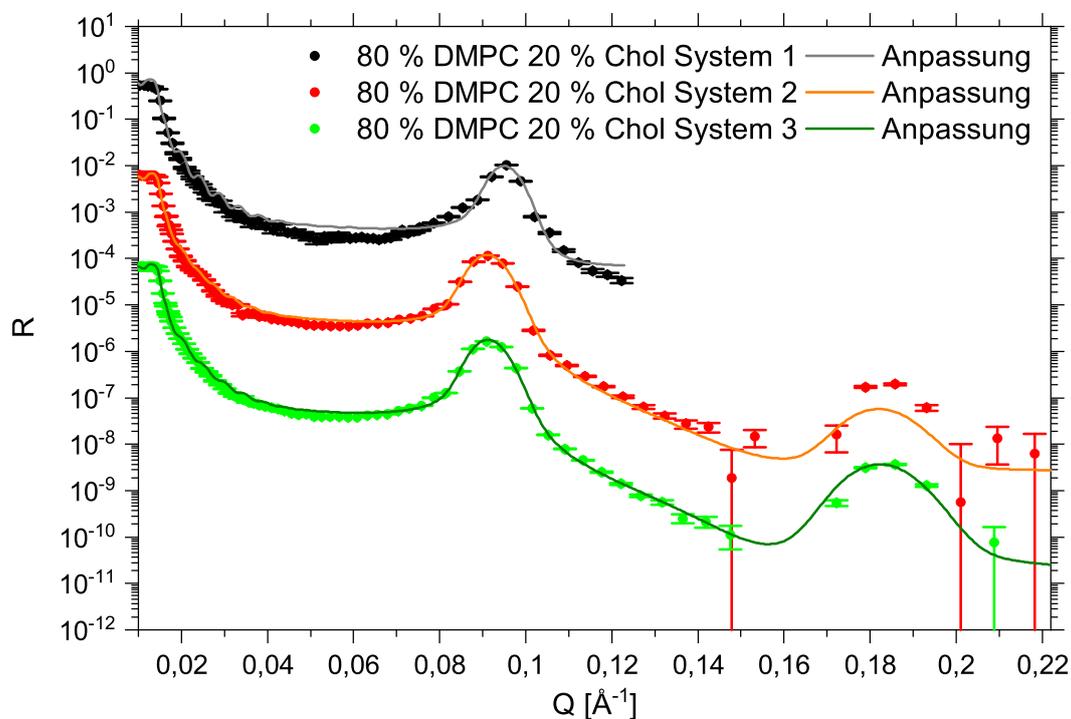


Abbildung 6.4. NR-Daten dreier Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 80 % DMPC 20 % Chol in schwerem Wasser mit zugehörigen Anpassungen bei 20,0 °C. Die Werte und Anpassungen sind ausnahmsweise nicht um zwei, sondern um zweieinhalb Größenordnungen gegeneinander versetzt. Am ILL wurde bis zu einem deutlich größeren Impulstransfer gemessen, wie dies an den Daten der Systeme 2 und 3 zu erkennen ist.

6. Wässriges Milieu

die Dicke der Wiederholeinheit und somit die Lage des Bragg-Peaks haben. Der erhaltene Fehler der Dicke der Wiederholeinheit summiert sich aus den Unbestimmtheiten von d_{W2} und d_{Kopf} auf, wobei der Fehler der Kopfgruppeneinheit doppelt bei der Bestimmung der Wiederholeinheitsdicke eingeht. Der dadurch erhaltene Fehler bildet jedoch den Fehler der Dicke der Wiederholeinheit nicht sinnvoll ab, da diese durch die Lage des Bragg-Peaks relativ genau bestimmt werden kann.

Das Problem liegt lediglich darin, dass eben zwei Parameter Auswirkungen auf die Lage des Bragg-Peaks haben. Die Anpassung der SLD der Kopfgruppen führt dazu, dass die anderen abgeleiteten SLD stärker fehlerbehaftet sind. Dies ist an den Fehlern der Lochanteile ersichtlich, welche anhand der SLD abgeleitet werden. Die angepassten Parameter der Kopfgruppe d_{Kopf} und $\rho_{SL\ Kopf}$ entsprechen den Werten, die für eine gleich starke Solvatisierung der Kopfgruppe, wie im Falle von reinem DMPC, angenommen wurden.

Tabelle 6.3. Parameter der NR-Anpassungen der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 20,0 °C für variable Werte von d_{Kopf} und $\rho_{SL\ Kopf}$.

Parameter	System 1	System 2	System 3
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	6,5	7,7	7,8
Σ [Å]	5,18 ± 3,32	5,22 ± 0,25	3,09 ± 0,33
$i\rho_{SL}$	0,117 ± 0,007	0,092 ± 0,001	0,000 ± 0,001
N	13 & 15	13 & 15	15 & 16
d_{Kette} [Å]	33,63	33,63	33,63
d_{Kopf} [Å]	11,9 ± 0,7	11,9 ± 0,2	11,9 ± 0,2
d_{W1} [Å]	8,5 ± 1,3	11,3 ± 0,4	11,2 ± 0,4
d_{W2} [Å]	8,7 ± 1,4	11,5 ± 0,5	11,3 ± 0,4
d_{W3} [Å]	16,3 ± 1,4	18,1 ± 0,5	15,1 ± 0,4
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	-0,31	-0,31	-0,31
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	3,88 ± 0,72	3,88 ± 0,02	3,88 ± 0,02
$\rho_{SL\ Wasser}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	6,14 ± 0,01	6,22 ± 0,00	6,38 ± 0,01
Lochanteil [%]	33,8 ± 4,3	32,7 ± 0,3	9,7 ± 0,3
d_{Wh} [Å]	66,1 ± 1,4	69,0 ± 0,5	68,7 ± 0,4
d_{ges} [Å]	878 ± 33	914 ± 12	1006 ± 11
χ^2	12.360	18.518	14.699

Aufgrund dieses Ergebnisses wird dieselbe Anpassung nochmals vorgenommen, nur dass für die beiden Parameter von einer vollständigen Hydratisierung - wie das bei Tristram-Nagle bei Modell IV für reines DMPC der Fall ist - ausgegangen wird, d.h. von 8,4 Wassermolekülen pro Kopfgruppe.^[86] Von dieser Anzahl wird auch im Fol-

genden ausgegangen, es sei denn die Kopfgruppen-SLD wird verwendet, um den Anlagerungsort von NP zu bestimmen. Somit wird in der Regel die Kopfgruppen- und Kettengruppen-SLD nicht angepasst, sondern es wird von den Literaturwerten ausgegangen und der Lochanteil angepasst, welcher Einfluss auf die SLD der Komponenten nimmt. Dieses Vorgehen ist somit analog zu den Anpassungen bei DMPC und dem System mit 10 % Chol.

Die in Tabelle 6.4 erhaltenen χ^2 -Werte beziehen sich auf eine Modellierung bei festgehaltenen Werten von d_{Kopf} sowie $\rho_{SL\ Kopf}$ und entsprechen denen aus Tabelle 6.3. Die Anpassungen bleiben dementsprechend in ihrer Qualität identisch und werden daher noch immer durch Abbildung 6.4 treffend beschrieben.

Tabelle 6.4. Parameter der NR-Anpassungen der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 20,0 °C für feste Werte von d_{Kopf} und $\rho_{SL\ Kopf}$.

Parameter	System 1	System 2	System 3
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	6,5	7,7	7,8
Σ [Å]	5,18 ± 0,07	5,22 ± 0,04	3,09 ± 0,07
$i\rho_{SL}$	0,12 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,00 ± 0,00
N	13 & 15	13 & 15	15 & 16
d_{Kette} [Å]	33,63	33,63	33,63
d_{Kopf} [Å]	11,63	11,63	11,63
d_{W1} [Å]	8,5 ± 0,4	11,3 ± 0,1	11,2 ± 0,1
d_{W2} [Å]	9,25 ± 0,02	12,11 ± 0,00	11,86 ± 0,00
d_{W3} [Å]	16,3 ± 0,2	18,05 ± 0,04	15,1 ± 0,05
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å^{-2}]	-0,31	-0,31	-0,31
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å^{-2}]	3,88	3,88	3,88
$\rho_{SL\ Wasser}$ [10^{-6} Å^{-2}]	6,14 ± 0,01	6,22 ± 0,00	6,38 ± 0,01
Lochanteil [%]	33,8 ± 0,4	32,7 ± 0,1	9,7 ± 0,2
d_{Wh} [Å]	66,14 ± 0,02	69,00 ± 0,00	68,75 ± 0,00
d_{ges} [Å]	877,9 ± 0,8	959,0 ± 0,1	1056,3 ± 0,1
χ^2	12.360	18.518	14.699

Die in Tabelle 6.4 erhaltenen Fehler sind bezüglich der Rauigkeiten, der Wasserzweischichtdicken, der Lochanteile und dementsprechend der Dicke der Wiederholeinheit sowie der Gesamtschichtdicke geringer als ihre Pendanten in Tabelle 6.3. Die Fehler der Wiederholeinheitendicken sind nun in einem Bereich, wie sie auch durch die Bragg-Peaks bestimmt werden können. Für die abgeleitete Gesamtschichtdicke ist vor allem N ausschlaggebend. N wurde stark variiert und es wurde dabei untersucht, bei welcher Kombination von zwei inkohärenten Summen mit unterschiedlichen Bilagen-

anzahlen das geringste χ^2 erhalten werden kann. Grundsätzlich ist festzuhalten, dass sich das Modell gut eignet, um die erhaltenen Messdaten zu modellieren.

Mit Tabelle 6.3 ergibt sich für die Dicke der Wiederholeinheit für das Oligolipidsystem 80 % DMPC 20 % Chol in schwerem Wasser $d_{Wh} = (68,0 \pm 1,8)$ Å. Dabei kommt der große Fehler hauptsächlich durch die großen Fehler der jeweiligen Gesamtschichtdicken zustande. Mit Tabelle 6.4 resultiert eine Dicke der Wiederholeinheit von $d_{Wh} = (68,0 \pm 0,9)$ Å für dieselben Systeme. Da in diesem Fall die Fehler der jeweiligen Gesamtschichtdicken vernachlässigbar sind, ist hierbei für den Fehler ausschlaggebend, dass sich die Werte der drei Filme vergleichsweise stark unterscheiden.

Bei diesen drei Systemen fällt auf, dass die Werte für d_{W1} denen für d_{W2} ähneln, so dass in diesen Fällen die Vereinheitlichung dieser beiden Dicken möglich wäre. Zudem zeigt sich, dass für System 3 die Reflektivität vergleichsweise hoch ist, was sich in der hohen Bilagenanzahl und in dem niedrigen Lochanteil niederschlägt.

Verglichen mit Filmen bestehend aus reinem DMPC hat die Dicke der Wiederholeinheit von $(64,7 \pm 0,3)$ Å auf $(68,0 \pm 0,9)$ Å zugenommen. Mit Gaußscher Fehlerfortpflanzung ergibt sich eine Differenz von $(3,3 \pm 0,9)$ Å. Diese liegt im Bereich der Kettendickenzunahme von 3,6 Å. Mit diesem Ergebnis und unter Berücksichtigung, dass sich die Hydratisierung der Kopfgruppen mit dem Ergebnis von reinem DMPC deckt, scheint sich das Wechselwirkungspotential zwischen den Bilagen durch die Einlagerung von 20 % Chol verglichen mit dem System aus reinem DMPC nicht entscheidend geändert zu haben.

Verglichen mit dem System mit 10 % Chol hat durch die weitere Erhöhung des Chol-Gehalts die Dicke der Wiederholeinheit von $(69,4 \pm 0,2)$ Å auf $(68,0 \pm 0,9)$ Å abgenommen. Die Differenz beträgt 1,5 Standardabweichungen und ist somit nicht statistisch signifikant, wobei für eine stichhaltigere Aussage die jeweiligen Systeme öfter charakterisiert werden müssten, um einen gesicherteren Mittelwert zu erhalten. In Anbetracht der begrenzten Neutronenmesszeit ist es jedoch nicht möglich, für alle Systeme eine gute Statistik zu erzielen. In den folgenden Unterkapiteln 6.1.4 und 6.1.5 werden die Eigenschaften von Oligolipidbilagensystemen der Konformation hohen Chol-Gehalts mit 30 % bzw. 50 % untersucht.

6.1.4 70 % DMPC 30 % Chol

Das DMPC-Oligolipidbilagensystem mit einem Chol-Gehalt von 30 % wurde einmal in schwerem Wasser charakterisiert. Für das System mit 30 % Chol kann auf die Parameter in Tabelle 4.4 zurückgegriffen werden. Die Parameter der in Abbildung 6.5 dargestellten Modellierung der Messdaten sind in Tabelle 6.5 angegeben.

Wie Tabelle 6.5 zu entnehmen ist, lag auch in diesem Falle die angepasste SLD für die Kopfgruppen im Bereich des Wertes, der bei einer Anlagerung von 8,4 Wasser-

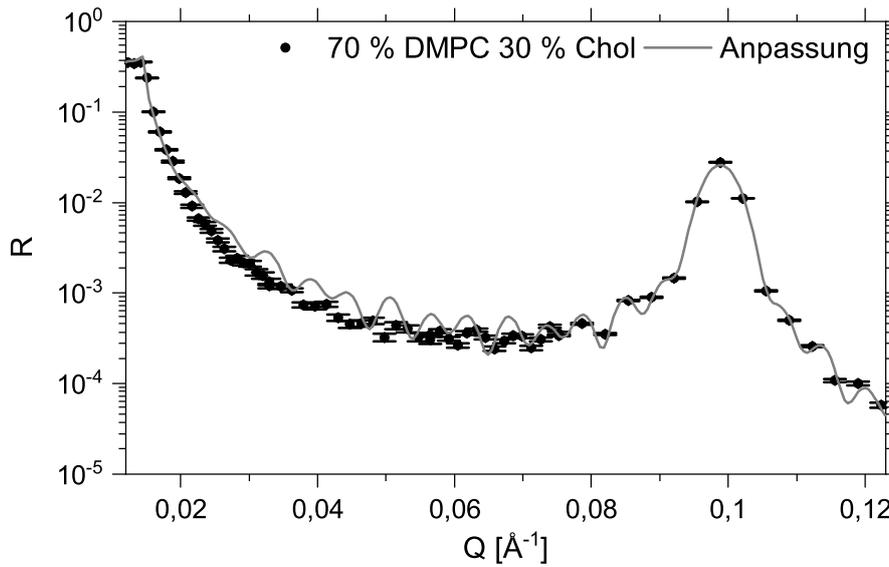


Abbildung 6.5. Dargestellt sind die NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in schwerem Wasser mit zugehöriger Anpassung bei 20,0 °C.

Tabelle 6.5. Parameter der NR-Anpassungen der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 20,0 °C mit festen Werten für d_{Kopf} und $\rho_{SL\ Kopf}$.

Parameter	70 DMPC 30 % Chol
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	2,50
Σ [Å]	$3,0 \pm 0,0$
$i\rho_{SL}$	$0,26 \pm 0,00$
N	18 (50 %), 15 (30 %), 4 (20 %)
d_{Kette} [Å]	35,3
d_{Kopf} [Å]	11,0
d_{W1} [Å]	$3,6 \pm 0,1$
d_{W2} [Å]	$7,67 \pm 0,00$
d_{W3} [Å]	$9,1 \pm 0,1$
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å^{-2}]	-0,02
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å^{-2}]	3,88
$\rho_{SL\ Wasser}$ [10^{-6} Å^{-2}]	$6,38 \pm 0,00$
Lochanteil [%]	-
d_{Wh} [Å]	$64,68 \pm 0,00$
d_{ges} [Å]	$1.081,0 \pm 0,2$
χ^2	7.035

molekülen pro Kopfgruppe erwartet wird. Folglich wurde der Parameter bei der finalen Anpassung festgehalten und wird auch für die anderen Systeme mit 30 % Chol in der Regel verwendet. In Tabelle 6.5 wird von keinem Lochanteil innerhalb der Filme aus-

gegangen, da ein Summand der inkohärenten Summe mit vier Bilagen eine deutlich geringere Bilagenanzahl aufweist als die anderen Summanden. Im Bereich von fünf bis 15 Bilagen liegen bei diesem Summanden keine Bilagen mehr vor, sodass er dort den Lochanteil repräsentiert. Somit ist dieser Anteil ein Stück weit vergleichbar mit den bisherigen Lochanteilen.

Wie aus Abbildung 6.5 hervorgeht, eignet sich das Modell, um die Daten adäquat anzupassen. Die angepasste Auflösung $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ liegt im Bereich der Instrumentenauflösung, sodass die Komponenten des Systems eine hohe Ordnung aufweisen müssen.

Die Rauigkeit liegt im Bereich, welcher für thermische Fluktuationen erwartet wird. Dieses Ergebnis ist bemerkenswert. An Luft lag die Rauigkeit von Filmen mit 30 % Chol noch über der von DMPC, was auf den SLD-Gradienten innerhalb der Ketten zurückgeführt wird. Im wässrigen Milieu hingegen liegt die Rauigkeit von Systemen mit 30 % Chol unter der von DMPC-Oligolipidbilagensystemen, obgleich es nach wie vor einen SLD-Gradient innerhalb des Kettenbereichs für Filme mit Chol gibt.

Dieses Ergebnis wird auf die durch Chol bedingte Stabilisierung der lamellaren Struktur zurückgeführt.^[127] Die durch Chol resultierende Erhöhung der Biegesteifigkeit^[128] überkompensiert im wässrigen Milieu die durch den SLD-Gradient innerhalb des Kettenbereichs bedingte Zunahme der Rauigkeit, sodass eine Abnahme der Rauigkeit im wässrigen Milieu durch das Einbauen von Chol in die Bilagen resultiert. Dies deckt sich mit der Tatsache, dass bei der Charakterisierung die angepasste Auflösung im Bereich der Instrumentenauflösung liegt.

Der Trend der lamellaren Schichtdicke in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt setzt sich zudem fort. Nachdem die maximale lamellare Schichtdicke bei einem Chol-Anteil von 10 % erhalten wurde und der Wert bei 20 % Chol etwas geringer ausfiel, nimmt auch bei 30 % Chol der Wert weiter ab. Diese Systematik wird auch im nachfolgenden Abschnitt 6.1.5 für einen Chol-Gehalt von 50 % untersucht.

6.1.5 50 % DMPC 50 % Chol

Gemäß der Literatur kann Chol nur bis zu einem gewissen Stoffmengenverhältnis von 44 % in ein DMPC-Bilagensystem eingelagert werden. Bei einem höheren Anteil an Chol resultiert die Ausbildung von phasengetrenten Chol-Domänen.^[94] Welche Auswirkungen dies auf das System hat, soll im vorliegenden Abschnitt untersucht werden. Bei einem Chol-Anteil von 50 % kann aufgrund der phasengetrenten Chol-Domänen nicht analog zu den in den Tabellen 4.1 bis 4.4 präsentierten Werten ein vergleichsweise einfaches Modell zur Anpassung der Daten aufgestellt werden. Alternativ wird aus der Lage des Bragg-Peaks die lamellare Schichtdicke abgeleitet, ohne dass die Messdaten modelliert werden. Die gemessenen NR-Daten sind in Abbildung 6.6 dargestellt.

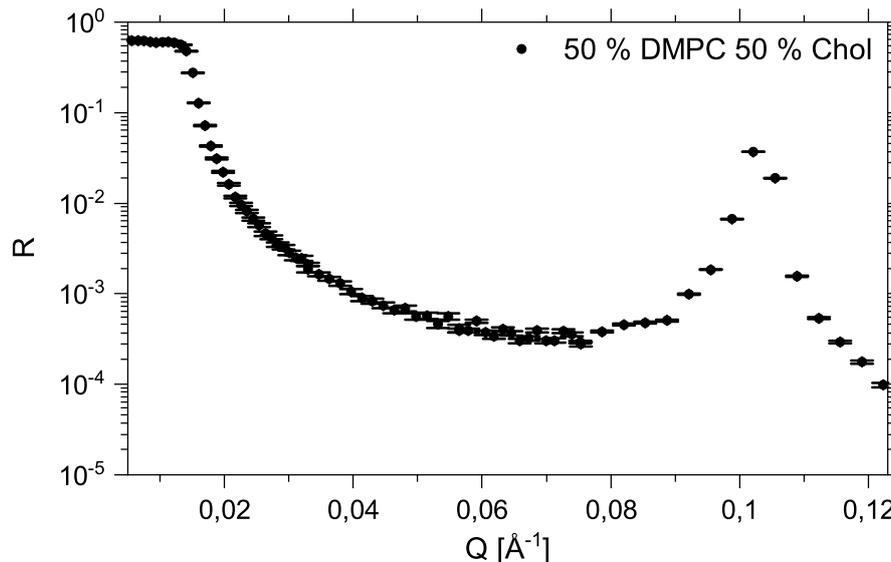


Abbildung 6.6. Erhaltene NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 50 % DMPC 50 % Chol in schwerem Wasser bei 20,0 °C.

Aufgrund der in Kapitel 2.1.4 beschriebenen Symmetrie des Reflexionsprofils ist im Anhang in Abbildung D.4 RQ^4 gegen $|\vec{q}|$ aufgetragen, um mittels einer symmetrischen Funktion die Lage des Bragg-Peaks zu bestimmen. Von den in Tabelle D.1 dargestellten Parametern ist somit nur die Lage des Maximums von Bedeutung. Anhand der Lage des Maximums kann mithilfe von Gleichung 2.13 die Dicke der Wiederholeinheit bestimmt werden.

Mit dem in Abbildung D.4 dargestellten Ergebnis resultiert eine lamellare Schichtdicke für das 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystem von $(60,98 \pm 0,17)$ Å. Eine weitere Erhöhung des Chol-Anteils führt somit zu einer weiteren Absenkung der lamellaren Schichtdicke, die im Vergleich mit DMPC-Oligolipidbilagen um knapp 15 Standardabweichungen und somit statistisch signifikant abnimmt. Um die Statistik für die lamellaren Schichtdicken zu verbessern, können XRR-Messungen herangezogen werden, die im anschließenden Unterkapitel 6.2 aufgeführt sind.

6.2 Röntgenreflexionsmessungen

Ziel des Unterkapitels ist es, die NR-Messungen des vorherigen Abschnitts zu ergänzen, um ein Gesamtbild für den Zusammenhang zwischen Chol-Anteil und lamellarer Schichtdicke in Wasser zu erhalten. Abschließend wird eingeordnet, inwieweit sich die erhaltenen Systeme für eine NP-Zugabe eignen, um die Wechselwirkung der Systeme mit NP untersuchen zu können.

Zur Bestimmung der Wiederholeinheitendicke wird analog zu Unterkapitel 6.1.5 vorgegangen, um die Lage der Bragg-Peaks zu bestimmen. Da die Reflektivität bei den XRR-Messungen bis zu einem höheren $|\vec{q}|$ bestimmt wurde, können auch Bragg-Peaks hö-

6. Wässriges Milieu

herer Ordnung angepasst werden.

Danach werden die erhaltenen Bragg-Peak-Positionen gegen ihre Ordnung aufgetragen und mithilfe einer Ursprungsgerade die Steigung $\Delta|\vec{q}_B|$ bestimmt. Anhand von Gleichung 2.13 in Kapitel 2.1.4 wird damit auf die Dicke der Wiederholeinheit d_{Wh} geschlossen. Große Fehler Δd_{Wh} resultieren, wenn die Lage der Bragg-Peaks j -ter Ordnung $|\vec{q}_{Bj}|$ nicht genau an der Stelle $j \cdot |\vec{q}_{B1}|$, sondern etwas versetzt liegt.

Die mittels XRR-Messungen erhaltenen Dicken der Wiederholeinheiten sind für DMPC der Tabelle 6.6 und für Filme mit 30 % Chol in Tabelle 6.7 dargestellt.

Tabelle 6.6. Erhaltene Dicken der Wiederholeinheiten der DMPC-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C anhand der XRR-Messungen.

Parameter	System 1	System 2	System 3
d_{Wh} [Å]	64,28 ± 0,05	64,86 ± 0,41	64,75 ± 0,20

Da mit der beschriebenen Vorgehensweise ausschließlich die Wiederholeinheitendicke bestimmt wird, sind die Messwerte für drei Systeme bestehend aus DMPC im Anhang in Abbildung D.5 exemplarisch dargestellt.

Tabelle 6.7. Erhaltene Dicken der Wiederholeinheiten der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen in Wasser bei 20,0 °C anhand der XRR-Messungen.

Parameter	System 1	System 2
d_{Wh} [Å]	63,43 ± 0,21	62,35 ± 0,04

Vergleicht man die Ergebnisse der Dicken der Wiederholeinheit substratgebundener DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt, die mit NR- und XRR-Messungen gemessen wurden, ergibt sich Abbildung 6.7. Dabei wurden aus den ermittelten Werten die Mittelwerte gebildet, wobei sich die Fehler gemäß Gleichung B.2 ergeben.

Werden von diesen Werten die in Abbildung 4.7 dargestellten Trockenwerte der Membranen subtrahiert, resultieren die Dicken der Wasserzwichenschichten, die in Tabelle 6.8 dargestellt sind. Bei dieser Berechnung wurde jeweils die Wiederholeinheit des Systems verwendet. In dieser Arbeit wird von einer solvatisierten Kopfgruppe ausgegangen, da dadurch die Anpassungsgüte stark erhöht wird. In Tabelle 6.8 wird auch noch der Wert der Wasserzwichenschichtdicke angegeben, falls von trockenen Kopfgruppen ausgegangen wird, um eine Vergleichbarkeit zu den Literaturwerten für Systeme bestehend aus DPPC und Chol zu gewährleisten. Diese entspricht der Summe $d_{W2} + 2 \cdot (d_{Kopf} - d_{Kopf\ trocken})$. Die Werte für d_{Kopf} und $d_{Kopf\ trocken}$ in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt des Systems werden zur Berechnung den Tabellen 4.1 - 4.4 entnommen. Da im Fall von 50 % DMPC 50 % Chol aufgrund der begrenzten Löslichkeit von Chol in DMPC kein Modell für die Bilagendicke erstellt wurde, kann in diesem Fall die Wie-

derholeinheitsdicke nicht in eine Wasserzwichenschichtdicke überführt werden
 Wie aus der Abbildung 6.7 sowie der Tabelle 6.8 hervorgeht, liegt die maximale Dicke der Wiederholeinheit sowie die maximale Wasserzwichenschichtdicke im Bereich von 10 % Chol. Für diese Quantifizierung von substratgebundenen DMPC-Oligolipidbilagensystemen unterhalb der Phasenübergangstemperatur in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt gibt es keine Literatur. Dennoch ist es möglich, das System in einen weiteren Kontext einzuordnen.

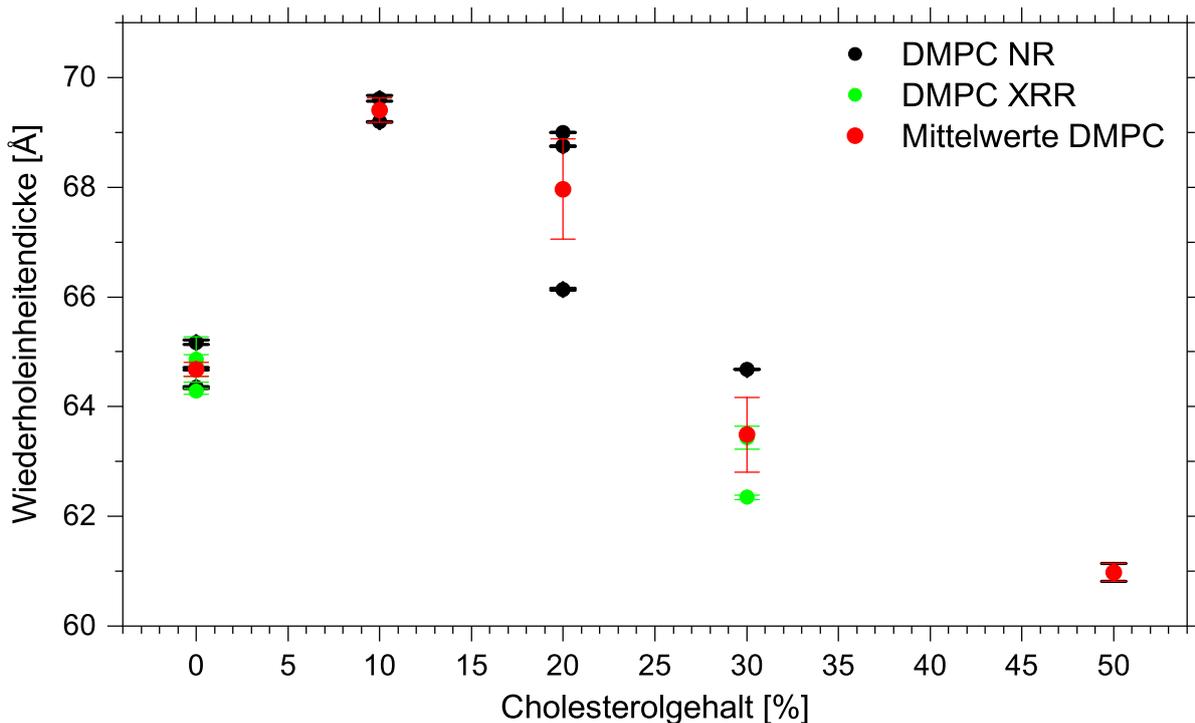


Abbildung 6.7. Dicke der Wiederholeinheiten des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Wasser in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt.

Tabelle 6.8. Erhaltene Dicken der Wiederholeinheiten und Wasserzwichenschichtdicken der DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit unterschiedlichen Chol-Anteilen in Wasser bei 20,0 °C anhand der NR-Messungen und XRR-Messungen.

Chol-Gehalt	d_{Wh} [Å]	d_{W2} [Å]	$d_{W2} + 2 \cdot (d_{Kopf} - d_{Kopf trocken})$ [Å]
0 %	$64,68 \pm 0,13$	$9,04 \pm 0,13$	$19,88 \pm 0,13$
10 %	$69,40 \pm 0,22$	$13,02 \pm 0,22$	$23,36 \pm 0,22$
20 %	$67,96 \pm 0,91$	$11,10 \pm 0,91$	$20,96 \pm 0,91$
30 %	$63,49 \pm 0,68$	$6,57 \pm 0,68$	$15,73 \pm 0,68$
50 %	$60,98 \pm 0,17$	-	-

Inoko *et al.* erhielten bei nicht substratgebundenen DPPC-Oligolipidbilagensystemen mit 0 %, 20 % Chol und 50 % Chol für 20 % Chol die größte Dicke der Wiederholeinheit.^[127] Lis *et al.* fanden für ein DPPC-Chol-System bei 25,0 °C bei einem Stoff-

6. Wässriges Milieu

mengenverhältnis von 8:1 ebenfalls neben einer leichten Zunahme der Wiederholeinheitendicke auch eine stärkere Zunahme der Bilagenabstände.^[129] Die hier präsentierten Messergebnisse zeigen somit, dass die Ergebnisse von nicht substratgebundenen DPPC-Chol-Systemen qualitativ sehr gut mit den substratgebundenen DMPC-Chol-Systemen übereinstimmen.

Ladbrooke *et al.* fanden für das System DPPC-Chol bei nicht substratgebundenen Messungen mit 0 %, 7,5 % und 50 % Chol bei 7,5 % Chol die deutlich dickste Wasserzweischichtdicke. Ihre Erklärung hierfür ist, dass bis 7,5 % Chol das Chol noch in die DPPC-Struktur eingebaut werden kann, ohne dass die hexagonale Struktur stark gestört wird. Ladbrooke *et al.* mutmaßen, dass die Strukturänderung der Lipidneigung hin zu einer vertikalen Konfiguration die Verteilungen der Ladungen in der polaren Kopfgruppenschicht verändert, sodass eine Zunahme der Wasserzweischicht resultiert. Da die PC-Kopfgruppe zwitterionisch ist, könnte die Interaktion mit der Hydroxygruppe des Chol-Moleküls zur Folge haben, dass sich die Ausrichtung der Kopfgruppe verändert. Die Folge ist ein höheres elektrisches Potential und folglich eine stärkere Repulsion der Bilagen untereinander.^[130]

Für die Erklärung der anschließenden Abnahme der Bilagenabstände muss die Querschnittsfläche pro Kopfgruppenmolekül betrachtet werden. Diese kann aus den in Kapitel 4.2 beschriebenen Modellen abgeleitet werden. Gemäß den Werten in den Tabellen 4.1 - 4.4 ergeben sich die in Abbildung 6.8 dargestellten Querschnittsflächen pro Kopfgruppe.

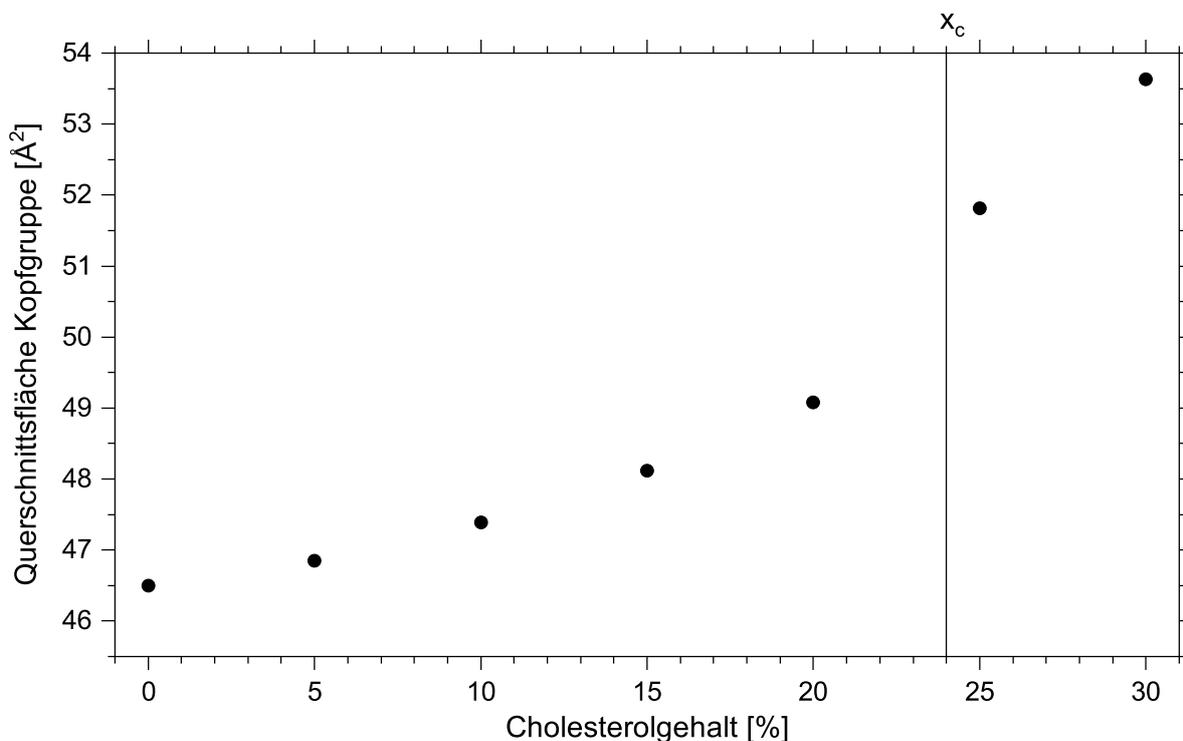


Abbildung 6.8. Eingenommene Querschnittsfläche der DMPC-Kopfgruppe in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt des Systems mit $x_c = 24\%$.

Dabei entspricht $x_c = 24$ % dem Molenbruch, bei dem die Konformation des DMPC-Chol-Systems bei 30,0 °C von einer für niedrigen Chol-Gehalt typischen Konformation in die für einen hohen Chol-Gehalt typische Konformation übergeht.^[89] Eine mögliche Erklärung ist, dass mit zunehmendem Chol-Gehalt die Querschnittsfläche der Lipide immer weiter zunimmt, sodass auch die Oberflächenladungsdichte sinkt. Mit abnehmender Oberflächenladungsdichte sinkt die elektrostatische Repulsion der Bilagen untereinander, sodass eine Abnahme des Gleichgewichtsabstandes resultiert.

Zudem spielt hinsichtlich der Wasserzwichenschichtdicke die Hydratationskraft eine entscheidende Rolle. Die Hydratationskraft rührt daher, dass bei der starken Annäherung zweier Bilagen zueinander, zwischen denen sich Wasser befindet, Arbeit verrichtet werden muss, um das Wasser von den beiden hydrophilen Oberflächen zu entfernen. Sie ist bei Bilagenabständen von 20 Å und darunter die dominante Kraft.^[131, S. 281 f.]

Durch die Erhöhung der Querschnittsfläche pro Kopfgruppe sinkt die Anzahl an Kopfgruppen pro Oberfläche und daher auch die Anzahl an attraktiv mit der Kopfgruppe interagierenden Wassermolekülen pro Oberfläche. Neben der elektrostatischen Repulsion sinkt somit auch die Hydratationskraft, was sich in einer Reduktion des Gleichgewichtsabstandes niederschlägt, wie er auch in Abbildung 6.7 zu erkennen ist.

Es bleibt festzuhalten, dass die Wasserzwichenschichtdicken vom Chol-Gehalt in den Bilagen abhängen. Für DPPC und 7,5 % Chol erhielten Ladbrooke *et al.* 27,5 Å für $d_{W2} + 2 \cdot (d_{Kopf} - d_{Kopf\ trocken})$.^[130] Der in dieser Arbeit erhaltene entsprechende Wert für DMPC und 10 % Chol liegt bei $(23,4 \pm 0,2)$ Å. Trotz der Verwendung eines Lipids mit etwas kürzerer Kettengruppe und des etwas höheren Chol-Gehalts liegen die Ergebnisse für die Wasserzwichenschichtdicke in einem ähnlichen Bereich wie die von Ladbrooke *et al.* präsentierten Resultate. Die Abweichung ist mit knapp 20 Standardabweichungen statistisch signifikant.

Durch das Arbeiten im wässrigen Milieu ist es möglich, dem System NP zuzugeben, um dadurch die Lipid-NP-Interaktion zu untersuchen. Um neben der äußersten Bilage auch bei den anderen Bilagen eine NP-Exposition zu gewährleisten, müssen die NP in die Zwischenschichten vordringen können. Wie anhand der AFM-Messungen in Kapitel 5.2 zu erkennen ist, können die NP durch die Löcher in die tieferen Lagen gelangen. Um dabei in die jeweiligen Zwischenschichten vordringen zu können, müssen die Bilagenabstände hinreichend groß sein. Die in diesem Kapitel ermittelten Bilagenabstände sind jedoch geringer als die NP-Größen. Bei der Erhöhung der Zellmembrankomplexität durch die Einlagerung geladener Lipide wird aufgrund der Größe der NP - verglichen mit den Wasserzwichenschichtdicken - im Folgenden auch ein Augenmerk darauf gelegt, inwieweit durch die Einlagerung von geladenen Lipiden in die Oligolipidbilagensysteme der Bilagenabstand variiert wird.

6.3 Ellipsometriemessungen an Oligolipidbilagensystemen

Zunächst wird in Abschnitt 6.3.1 auf dieselben ungeladenen Systeme eingegangen, die bereits mittels NR- und XRR-Messungen charakterisiert wurden, bevor in Unterkapitel 6.3.2 die Komplexität der Oligolipidbilagensysteme durch die Einlagerung von geladenen Lipiden erhöht wird. Hierbei wird das Augenmerk darauf gelegt, ob durch die Einlagerung von geladenen Lipiden größere Bilagenabstände erhalten werden, mit denen sich die Interaktion von NP besser studieren lässt. Zudem werden dabei die Zellmembranen von Prokaryoten modelliert.

6.3.1 Zwitterionische Oligolipidbilagensysteme in Wasser

Hinsichtlich der Charakterisierung der bereits beschriebenen Systeme im wässrigen Milieu mittels NR- und XRR-Messungen resultieren mit SE-Messungen übereinstimmende Ergebnisse. Im Vergleich zu den NR- und XRR-Messungen ergaben diese jedoch keine neuen Erkenntnisse. Bei den nachfolgenden Ergebnissen, die in dieser Arbeit diskutiert werden, sind auch SE-Messungen beinhaltet, bei welchen zunächst an Luft die Gesamtschichtdicke bestimmt und im nächsten Schritt Wasser zugegeben wird. Für ein DMPC-Oligolipidbilagensystem bei 20,0 °C ist das beispielsweise im Anhang in Abbildung E.3 dargestellt.

Mit den in dieser Abbildung dargestellten Gleichgewichtswerten resultiert in Wasser eine Gesamtschichtdicke, die um den Faktor $(1,24 \pm 0,01)$ größer ist als die an Luft. Gemäß der in den Abschnitten 5.3 und 6.1.1 mittels XRR- und NR-Messungen erhaltenen lamellaren Schichtdicken wird eine Zunahme um den Faktor $(1,20 \pm 0,01)$ für DMPC bei 20,0 °C erwartet. Die mittels unterschiedlicher Messmethoden abgeleiteten Parameter des Systems stimmen somit überein.

6.3.2 Geladene Oligolipidbilagensysteme in Wasser

Angesichts der limitierten Messzeit bei NR-Messungen bietet es sich an, SE-Messungen vornehmen zu können. Während durch die Einlagerung von Chol eukaryotische Zellen modelliert werden können, soll im Folgenden durch die Einlagerung von geladenen Lipiden - im Idealfall von DMPG - die Zellmembran von Prokaryoten modelliert und untersucht werden, wie dies die Bilagenabstände beeinflusst. Bei Messungen in Wasser wird dabei eine Umgebung mit sehr niedriger Ionenstärke simuliert, wie es beispielsweise in Regenwasser der Fall ist.^[132]

Durch die resultierende Coulomb-Repulsion bei nahezu gleich bleibender Van-der-Waals-Attraktion wird erwartet, dass der Gleichgewichtsabstand der Bilagen zueinander zunimmt. Mithilfe von SE-Messungen kann überprüft werden, welche Oligolipidbilagensysteme bei der Interaktion mit Wasser stabil sind, da eine zu starke Coulomb-

Repulsion dazu führen könnte, dass sich die Bilagen untereinander so stark abstoßen, dass das Oligolipidbilagensystem nicht stabil ist und die Lipide bei Kontakt mit Wasser als Vesikel in die Lösung übergehen und das Substrat verlassen. Hierfür bieten sich besonders SE-Messungen an, da pro Tag mehrere Filme direkt im heimischen Labor vermessen werden können.

Die Messungen zeigen, dass die substratgebundenen Oligolipidbilagen mit Anteilen von nur wenigen Prozent an geladenen Lipiden bereits starke Unterschiede zu rein zwitterionischen Systemen aufweisen. Dabei scheint die Repulsion der Bilagen untereinander so groß zu sein, dass die DMPC-Oligolipidbilagensysteme - selbst bei der Einlagerung von nur geringen Anteilen an geladenen Lipiden - beim Kontakt mit Wasser nicht intakt bleiben.

Das positiv geladene System DMPC/DMTAP war gegen Wasser äußerst instabil. Reproduzierbare stabile Oligolipidbilagensysteme wurden bei einer fortwährenden Halbierung des DMTAP-Anteils bei einer Zusammensetzung von 99,75 % DMPC und 0,25 % DMTAP erhalten. Die Stabilitätsmessungen des Zweikomponentensystems DMPC:DMTAP wurden von Felix Lulay im Rahmen seiner Bachelorarbeit im Arbeitskreis Dahint durchgeführt. Für die Systeme DMPC/DMPG wurden lediglich Messungen bei einem Anteil von 5 % DMPG durchgeführt. Dabei konnte in der Umgebung von Wasser kein intaktes Oligolipidbilagensystem erhalten werden.

Um Messungen in Wasser durchführen zu können, bei denen die Modellmembranen einen höheren Anteil an geladenen Lipiden besitzen, müssen diese um eine zusätzliche Komponente erweitert werden. Eine naheliegende Wahl wären die in Bakterienmembranen vorkommenden Hopanoide, die diese stabilisieren.^[108] Durch diesen Schritt würden jedoch mit DMPG und einem verwendeten Hopanoid zwei neue Komponenten in die Membran eingebaut werden, deren Einflüsse auf die Modellmembran unbekannt sind. Zwar besitzt Chol keine biologische Relevanz in Bakterienmembranen, aber es kann den stabilisierenden Effekt der Hopanoide in den Membranen simulieren. Der stabilisierende Einfluss von Chol wurde bereits bei NR-Messungen in Form reduzierten Filmrauigkeiten in Kapitel 6.1 beobachtet. Die Begünstigung der lamellaren Struktur in Oligolipidbilagensystemen ist auch in der Literatur beschrieben.^[127] Daher wird Chol verwendet, um die Stabilität der geladenen Lipidfilme zu erhöhen, obgleich damit von der Zusammensetzung des Oligolipidbilagensystems für Prokaryoten abgewichen wird. Auf der anderen Seite können mit dem Modellsystem für Prokaryoten bestehend aus DMPC, DMPG und Chol auch komplexe eukaryotische Systeme mit geladenen Lipiden beschrieben werden.^[112]

Wie SE-Messungen von Oligolipidbilagensystemen in Wasser belegen, steigert Chol deren Stabilität. Durch höhere Anteile an Chol bleiben substratgebundene Oligolipidbilagensysteme auch mit einem höheren DMTAP-Anteil im Kontakt mit Wasser stabil, als das für Systeme ohne Chol der Fall ist. Während ohne Chol die Oligolipidbilagen-

6. Wässriges Milieu

systeme bei DMTAP-Anteilen in der Membran von 0,5 % oder höher bei Kontakt mit Wasser nicht stabil bleiben, können bei einem Chol-Gehalt von 30 % bereits über 2 % DMTAP in das Oligolipidbilagensystem eingelagert werden und die Systeme bleiben auch nach Kontakt mit Wasser auf dem Substrat erhalten. Bei den Messungen mit DMPG resultierten ähnliche Ergebnisse wie für die Systeme mit DMTAP. Die Stabilität von Oligolipidbilagen mit geringen Anteilen positiv und negativ geladener Lipide in Abhängigkeit vom Chol-Gehalt sind zusammenfassend den Abbildungen 6.9 und 6.10 zu entnehmen.

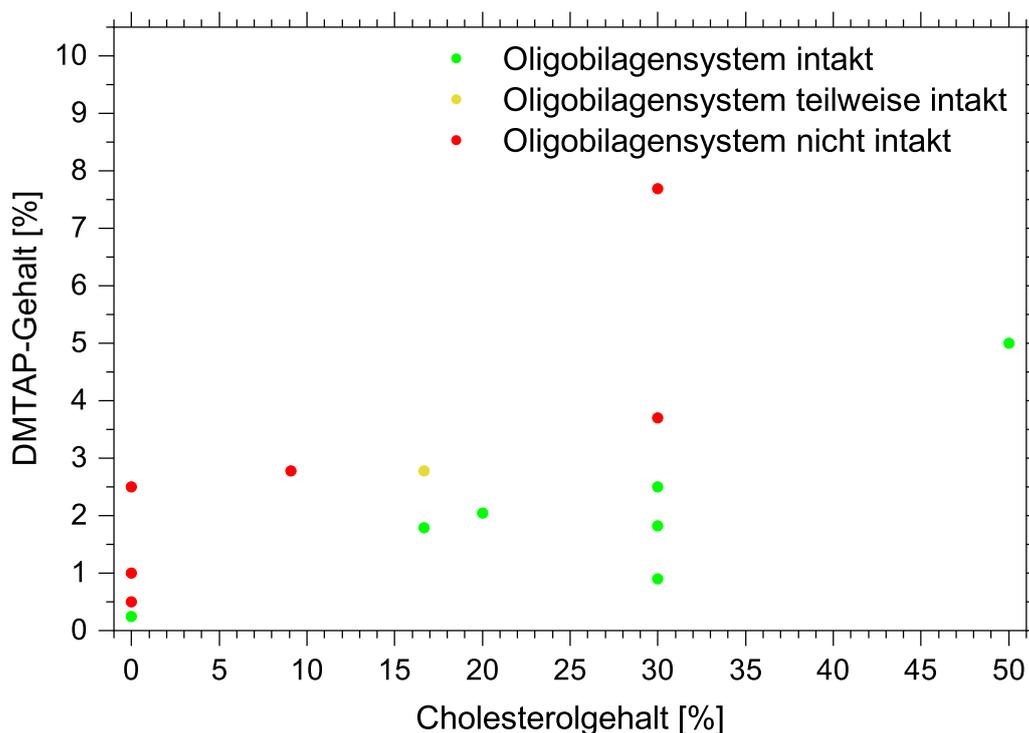


Abbildung 6.9. Stabilität geladener DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser in Abhängigkeit von ihrem DMTAP- und Chol-Gehalt. Zur Überprüfung der Stabilität wurden pro Punkt mindestens drei Messungen durchgeführt. Neben den reproduzierbar stabilen Oligolipidbilagensystemen in Wasser mit grünen Punkten und den reproduzierbar instabilen Systemen mit roten Punkten, gibt der Punkt der Farbe orange an, dass dieses System bei manchen Messungen stabil bleibt, bei anderen hingegen nicht. Für diesen Messpunkt wurden keine einheitlichen Ergebnisse erhalten.

Wie aus den Abbildungen 6.9 und 6.10 hervorgeht, sind die Systeme mit geladenen Lipiden äußerst labil, sodass bereits ein geringer Anteil an geladenem Lipid ausreicht, damit die Stabilität des Systems in Wasser nicht mehr gegeben ist.

Ein Vergleich der Abbildungen 6.9 und 6.10 ergibt, dass die Stabilitäten der Systeme mit DMPG und DMTAP sehr ähnlich sind. Einzig der Messpunkt bei 50 % Chol ergibt für das System mit einfach positiv geladenem DMTAP ein stabiles System, wohingegen bei derselben Stoffmengenkonzentration mit DMPG das System nicht stabil bleibt. Dabei kann anhand von Abbildung 6.9 abgelesen werden, dass innerhalb des darge-

stellten Bereichs der Anteil an geladenem Lipid, bei dem das Oligolipidbilagensystem in Wasser stabil ist, durch eine Erhöhung des Chol-Anteils von 10 % um etwa 1 % erhöht werden kann.

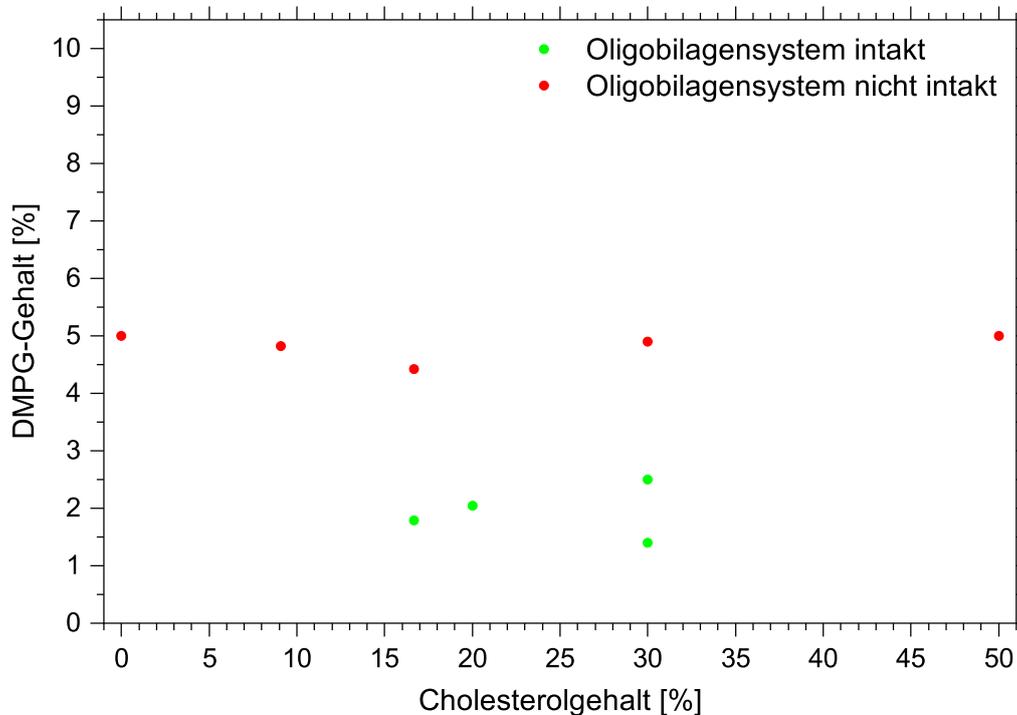


Abbildung 6.10. Stabilität geladener DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser in Abhängigkeit von ihrem DMPG- und Chol-Gehalt. Grüne Punkte geben an, dass das Oligolipidbilagensystem reproduzierbar nach der Zugabe von Wasser intakt bleibt. Auf der anderen Seite geben die roten Punkten an, dass das System nach der Wasserzugabe reproduzierbar nicht intakt bleibt.

Einen völlig anderen Zugang zu dem Themengebiet geladener Oligolipidbilagensysteme und deren Stabilisierung wählten Cowley *et al.*, die anstelle von Wasser auf Dextranlösung zurückgriffen. Durch die Zugabe von Dextran wird dabei von außen ein osmotischer Druck aufgebaut, der die Bilagen zum Substrat hin zusammendrückt, so dass der elektrostatischen Abstoßung durch die geladenen Lipide eine externe Kraft entgegenwirkt, um die Stabilität des Systems zu gewährleisten. Selbst bei lediglich 5 % DMPG-Einlagerung in ein Gemisch aus unterschiedlichen Lipiden mit einer PC-Kopfgruppe resultierten trotz 10 %-iger Dextranlösung Wiederholeinheitendicken von über 100 Å.^[133] Deren Resultate legen in Kombination mit den in dieser Arbeit gezeigten Ergebnisse den Schluss nahe, dass bereits geringe DMPG-Konzentrationen im Oligolipidbilagensystem zu einer sehr starken Repulsion der Bilagen führen. Diese führt dazu, dass in Wasser substratgebundene Oligolipidbilagensysteme bestehend aus DMPC und einem geladenen Lipid nicht stabil sind und sich stattdessen ablösen. An dieser Stelle wird nicht auf eine Dextranlösung zurückgegriffen, sondern es wird

eruiert, bei welchem Anteil an geladenen Lipiden das Oligolipidbilagensystem in Wasser noch stabil ist, ohne dabei einen externen osmotischen Druck zur Stabilisierung des Systems aufzubauen. SE-Messungen zeigten, dass durch die Einlagerung des Proteins Gramicidin in die Lipidmembranen die Stabilität von Oligolipidbilagensystemen noch weiter erhöht werden kann und diese auch mit hohen Anteilen geladener Lipide bei Kontakt mit Wasser stabil bleiben. Systeme bestehend aus 30 % Chol, 20 % Gramicidin, 30 % DMPC und 20 % geladenem Lipid lösen sich auch über mehrere Stunden nicht beim Kontakt mit Wasser ab. Das gilt gleichermaßen für Oligolipidbilagensysteme mit DMPG und für Systeme mit DMTAP. Die zugehörigen Messungen sind im Anhang in Abbildung E.1 dargestellt.

Anhand der in den den Abbildungen 6.10 und 6.9 dargestellten Ergebnisse lassen sich stabile Systeme auswählen, die mit NR-Messungen näher charakterisiert werden können. Dies erfolgt im nachfolgenden Unterkapitel 6.4.

6.4 Neutronenreflexionsmessungen an geladenen Oligolipidbilagensystemen

Gemäß den SE-Messungen resultiert bereits bei geringen Anteilen an geladenen Lipiden in den Membranen ein instabiles Gesamtsystem in Wasser. Es wird daher vermutet, dass bei den Anteilen an geladenen Lipiden, die noch stabile Systeme ermöglichen, die Gleichgewichtsabstände aufgrund der Coulomb-Repulsion größer sind, als das für rein zwitterionische Membranen der Fall ist. Da der Anteil an geladenen Lipiden jedoch verhältnismäßig gering ist, stellt sich die Frage, wie stark der Gleichgewichtsabstand durch die Einlagerung tatsächlich beeinflusst wird.

Im Unterkapitel 6.4.1 sind die erhaltenen Bilagenabstände dargestellt, während in Abschnitt 6.4.2 die Langlebigkeit der Systeme thematisiert wird.

6.4.1 Quellverhalten

Aufgrund der sehr geringen Anteile an eingebauten geladenen Lipiden und der Tatsache, dass die beiden geladenen Lipide dieselbe 1,2-Dimyristoyl (DM)-Kettengruppe besitzen wie DMPC, wird zur Anpassung der NR-Daten von dem analogen Modellen ohne geladenes Lipid ausgegangen, wie sie für die unterschiedlichen Chol-Anteile in den Tabellen 4.1-4.4 gelistet sind.

Die mittels NR-Messungen ermittelten Dicken der Wiederholeinheiten und der Wasserzwichenschichten der Systeme, welche in Unterkapitel 6.3 als stabil identifiziert wurden, sind in der Tabelle 6.9 und den Abbildungen 6.11 und 6.12 dargestellt. Die Daten und Anpassungen einiger ausgewählter Systeme werden im Folgenden nochmals aufgegriffen und dargestellt. In diesem Abschnitt wird der Fokus auf die Wiederholein-

heitendicke und die Wasserzwichenschichtdicke gelenkt.

Tabelle 6.9. Erhaltene Dicken der Wiederholeinheit und Wasserzwichenschicht geladener Oligolipidbilagensysteme in Wasser bei 20,0 °C anhand der NR-Messungen.

System	Dicke Wiederholeinheit [Å]	Dicke Wasserzwichenschicht [Å]
20 % Chol 49:1 DMPC:DMPG	66,65 ± 0,06	18,78 ± 0,06
20 % Chol 49:1 DMPC:DMTAP	66,66 ± 0,02	18,79 ± 0,02
30 % Chol 49:1 DMPC:DMPG	63,07 ± 0,13	15,31 ± 0,13
30 % Chol 39:1 DMPC:DMTAP	64,05 ± 0,12	16,29 ± 0,12
30 % Chol 49:1 DMPC:DMPG	63,07 ± 0,13	15,31 ± 0,13
30 % Chol 39:1 DMPC:DMTAP	64,05 ± 0,12	16,29 ± 0,12
30 % Chol 55:1 DMPC:DMTAP	71,70 ± 0,06	23,94 ± 0,06
50 % Chol 9:1 DMPC:DMTAP	62,23 ± 0,06	-

Wie in den Abbildungen 6.11 und 6.12 zu erkennen ist, liegt die Streuung der Messpunkte ohne geladene Lipide in einem ähnlichen Bereich wie auch für die Filme mit geladenen Lipiden. Da die Stabilität der Bilagensysteme durch die Einlagerung der geladenen Lipide stark abnimmt, ist die Präsenz geladener Lipide in den Oligolipidbilagensystemen anhand der Änderung der Eigenschaften klar ableitbar. Ob sich die Zusammensetzung der Oligolipidbilagenstrukturen vollumfänglich 1:1 mit der Zusammensetzung der Lösung vor der Rotationsbeschichtung deckt, kann anhand der in der Arbeit verwendeten Messmethoden nicht abschließend geklärt werden.

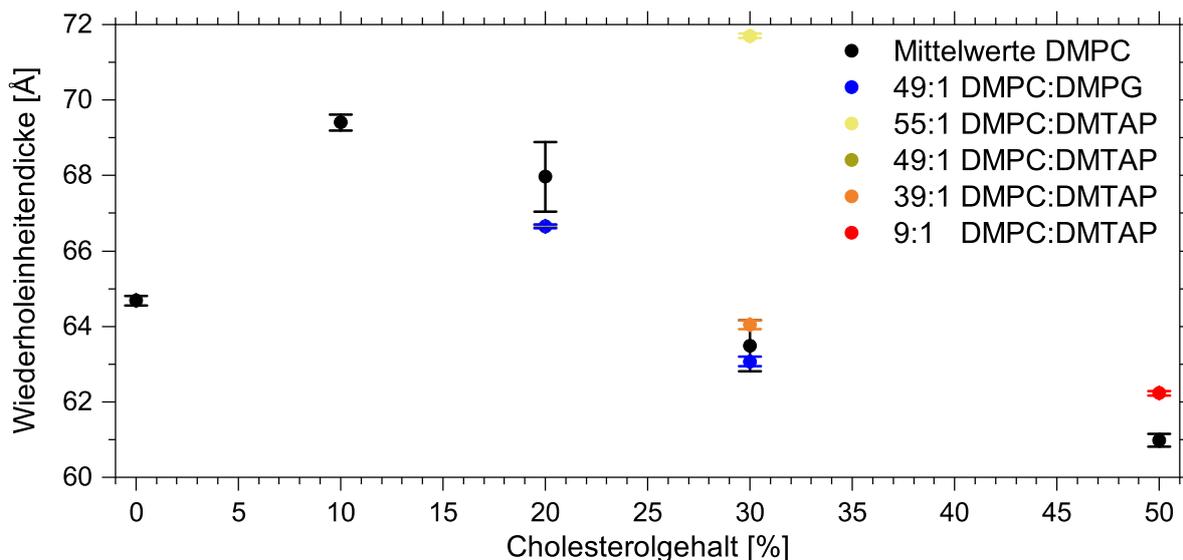


Abbildung 6.11. Dicke der Wiederholeinheit des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Wasser in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und dem Anteil an geladenen Lipiden.

Der einzige hervorstechende Messpunkt wurde mit 30 % Chol und einem Stoffmen-

6. Wässriges Milieu

genverhältnis DMTAP:DMPC von 1:55 gemessen. Das Ergebnis ist deshalb sehr verwunderlich, da bei einer höheren Konzentration an geladenem Lipid von 1:39 bei demselben Chol-Anteil eine geringere Quellung beobachtet wird.

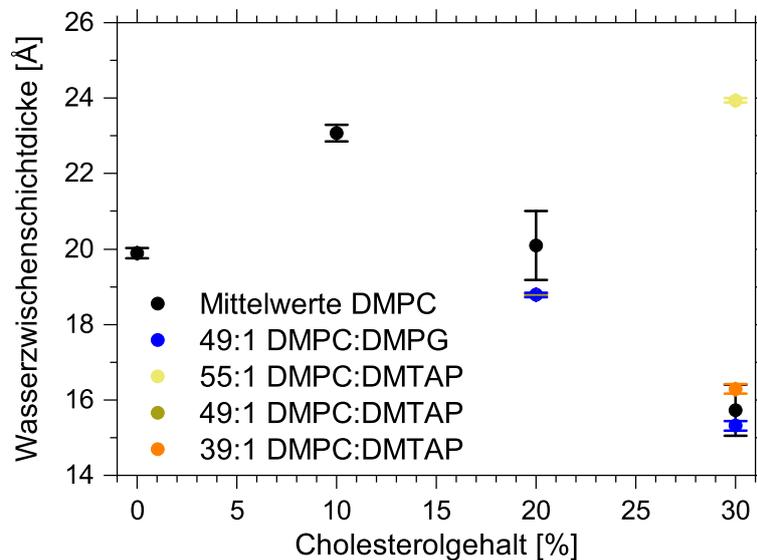


Abbildung 6.12. Wasserzwichenschichtdicke des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und dem Anteil an geladenen Lipiden.

Um die Wiederholeinheitendicken der geladenen Systeme gesichert quantifizieren zu können, müssten Wiederholungsmessungen durchgeführt werden, um eine bessere Statistik zu gewährleisten.

Wie in den Kapiteln 4.4 und 6.2 thematisiert wurde, ist es für die Lipid-NP-Interaktion an frei schwimmenden Bilagen essentiell, dass die Bilagenabstände größer sind als die NP. Um zu eruieren, ob dies der Fall ist, werden die in Abbildung 6.12 dargestellten Wasserzwichenschichtdicken mit den Größen der von Christian Busch (AK Dahint) synthetisierten NP verglichen, wie sie in Tabelle 6.10 dargestellt sind. Mit den in Kapitel 4.4 beschriebenen Synthesen werden die in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 1, 2 und 3 sowie die TiO₂-NP erhalten. Die Größenbestimmungen erfolgten in Form von DLS-Messungen.

Tabelle 6.10. Mittels DLS erhaltene Größen und ζ -Potentiale der verwendeten NP bei 20,0 °C.

NP	am häufigsten auftretender Durchmesser der Verteilung [Å]	PDI	ζ -Potential [mV]
Au 1	42	0,308	63,0 ± 6,8
Au 2	101	0,426	60,1 ± 13,5
Au 3	500	0,394	65,1 ± 17,2
TiO ₂	6,5	0,936	21,8 ± 12,2

Da jedoch ein Vergleich der Tabellen 6.9 und 6.10 offenbart, dass die resultierenden

Wasserzweischichtdicken kleiner sind als die zur Verfügung stehenden NP, kann bei einer Zugabe der NP nicht davon ausgegangen werden, dass die NP in die Zwischenschichten vordringen können, um anschließend mit den Bilagen zu interagieren. Es ist daher nicht zielführend, die NR-Messzeit in Wiederholungsmessungen von Systemen zu investieren, dessen Bilagenabstände für die Überprüfung der Interaktion mit NP ungeeignet sind, obgleich die Dicken der Wiederholeinheiten dadurch gesicherter hätten angegeben werden können.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass durch die Einlagerung von geladenen Lipiden die Stabilität der Oligolipidbilagensysteme deutlich gesenkt wird und gleichzeitig die Gleichgewichtsabstände der Bilagen zueinander bei stabilen Systemen nicht bedeutend zunehmen.

6.4.2 Langzeitstabilität

Im September 2019 bot sich am HZB an V6 die Möglichkeit, eine Überprüfung der Langzeitstabilität eines 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:111 Oligolipidbilagensystems bei 20,0 °C durchzuführen. Dabei wurde derselbe Film in wässrigem Milieu Ende September 2019 und Anfang November 2019 charakterisiert. In der Zwischenzeit ist das in Abbildung 3.2 dargestellte Reservoir ausgetrocknet, aber wie an den Messergebnissen in Abbildung 6.13 zu erkennen ist, beinhaltet die Probenkammer an sich noch schweres Wasser.

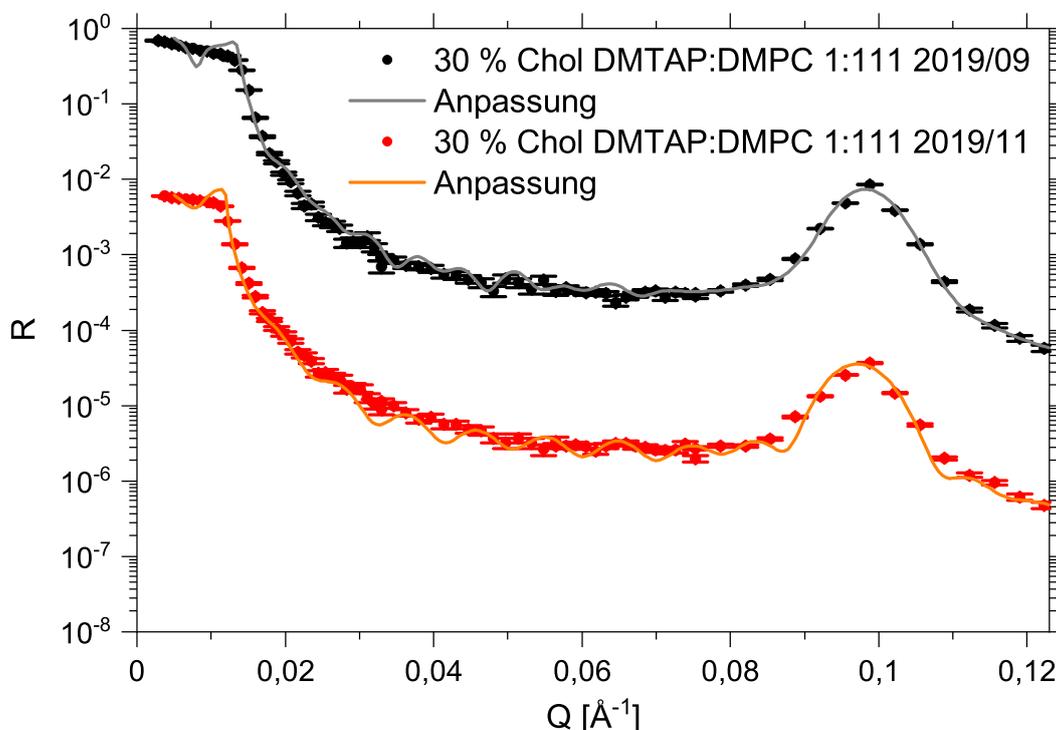


Abbildung 6.13. Zu sehen sind die NR-Daten des Oligolipidbilagensystems aufgebaut aus 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:111 gemessen kurz nach der Wasserzugabe und sechs Wochen danach bei 20,0 °C.

6. Wässriges Milieu

Die zugehörigen Anpassungen sind ebenfalls in Abbildung 6.13 dargestellt, während die abgeleiteten Parameter in Tabelle 6.11 gelistet sind.

Bei der ersten Charakterisierung des Systems Ende September konnte, aufgrund der endenden Messzeit, nicht mit Sicherheit verifiziert werden, ob sich das System bei der Messung bereits im Gleichgewichtszustand befand. Die angepasste Auflösung $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ in Tabelle 6.11 deutet daraufhin, dass sich das direkt vermessene System noch nicht im Gleichgewicht befand. Die Daten, welche sechs Wochen später erhoben wurden, konnten hingegen mit einer Auflösung angepasst werden, die im Bereich der Instrumentenauflösung liegt.

Die Wasserzwichenschichten d_{W2} und d_{W3} nahmen zu, was darauf zurückzuführen sein könnte, dass der vermessene Film vor der ersten Messung Ende September noch nicht vollständig den Gleichgewichtszustand erreicht hatte. Innerhalb der sechs Wochen nahm die SLD des Wassers auf einen sehr niedrigen Wert ab. Dies wird auf den SLD-Unterschied zwischen schwerem Wasser mit $6,38 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ und leichtem Wasser mit $-0,56 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ zurückgeführt.^[19] Trotz des Abdichtens des Reservoirs mit Parafilm kam es offensichtlich zu einem Kontakt des Reservoirs mit der Umgebung, was sich in einem Austausch des schweren Wassers in der Lösung mit dem leichten Wasser in der Umgebung und somit in einer Absenkung der angepassten SLD für Wasser niederschlägt.

Der Lochanteil bleibt über die sechs Wochen unverändert. Die Bilagenanzahl - und somit die Gesamtschichtdicke - nimmt hingegen im Verlauf der sechs Wochen ab. Selbst

Tabelle 6.11. Parameter der NR-Anpassung der 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:111-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 20,0 °C.

Parameter	2019/09	2019/11
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	6,6	3,3
Σ [Å]	$5,05 \pm 0,06$	$7,67 \pm 0,05$
$i\rho_{SL}$	$0,140 \pm 0,001$	$0,149 \pm 0,001$
N	9 (33 %) & 15 (67 %)	9 (33 %) & 10 (67 %)
d_{Kopf} [Å]	10,81	10,81
d_{W1} [Å]	$1,0 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,2$
d_{W2} [Å]	$6,98 \pm 0,02$	$7,38 \pm 0,02$
d_{W3} [Å]	$12,0 \pm 0,2$	$13,5 \pm 0,2$
$\rho_{SL \text{ Wasser}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	$5,77 \pm 0,01$	$4,92 \pm 0,01$
Lochanteil [%]	$26,2 \pm 0,1$	$26,2 \pm 0,1$
d_{Wh} [Å]	$63,90 \pm 0,02$	$64,30 \pm 0,01$
d_{ges} [Å]	$705,8 \pm 0,4$	$560,4 \pm 0,3$
χ^2	9.087	6.582

nach dieser Zeitspanne waren jedoch noch hinreichend viele Bilagen vorhanden, um eine Anpassung vornehmen zu können. Eine Langzeitstabilität auch bis hin zu mehreren Wochen ist somit für den Großteil des Systems gegeben.

Wie die SE- und NR-Messungen zeigen, sind die Systeme mit Chol deutlich stabiler, als das für reine DMPC-Filme ist. Die bestimmte Rauigkeit der Lipidbilagen im wässrigen Milieu ist ebenfalls bei der Anwesenheit von Chol geringer. Während gemäß Salditt^[15] DMPC-Systeme über vier Wochen stabil sind, konnte an dieser Stelle gezeigt werden, dass Oligolipidbilagensysteme mit 30 % Chol und einem DMTAP-Anteil von knapp oberhalb von 0,6 % zum Großteil für sechs Wochen stabil bleiben. Dabei ist zu beachten, dass bei einem Multilagensystem - mit sehr viel mehr Bilagen - der hier beschriebene Lagenverlust von fünf Bilagen über einen Bereich von 66 % des Filmes nicht detektierbar wäre.

Um die DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit und ohne Chol noch weiter zu charakterisieren, werden im folgenden Unterkapitel 6.5 Strömungspotentialmessungen eingeschoben, um den Einfluss durch Chol besser zu ergründen.

6.5 Einfluss auf das Strömungspotential durch die Einlagerung von Chol in DMPC-Oligolipidbilagensysteme

Mithilfe der Strömungspotentialmessungen werden die bisherigen Ergebnisse komplementär ergänzt. Dabei wird neben dem DMPC-System ebenfalls ein System mit Chol untersucht.

Das ζ -Potential von DMPC und 70 % DMPC 30 % Chol wurde in Abhängigkeit von dem pH-Wert untersucht. Dabei ist vor allem das Zeta-Potential bei einem pH-Wert von 6 und 7,4 von Interesse, um das sowohl den pH-Bereich reinen Wassers an Luft als auch den physiologischen pH-Wert abzudecken.^{[126, S. 87 ff.][5, S. 18 f.]} Die notwendige Leitfähigkeit wird dadurch gewährleistet, dass die Messungen in 1 mM Kaliumchloridlösung durchgeführt wurden. Die Messdaten und die zugehörige Anpassung sind in Abbildung 6.14 dargestellt.

Die Anpassungen der Daten in Abbildung 6.14 erfolgte mithilfe einer Boltzmannfunktion. Der Grund für die Wahl der Funktion ist, dass mit ihrer Hilfe eine geeignete Interpolation der Daten erfolgt. Die Boltzmannfunktion für diese Anpassungen sind in Gleichung 6.1 dargestellt.

$$\zeta(pH) = \frac{A_1 - A_2}{1 + \exp\left(\frac{pH - pH_0}{b}\right)} + A_2 \quad (6.1)$$

Dabei handelt es sich bei A_1 um den Grenzwert des ζ -Potentials bei niedrigen pH-Werten und bei A_2 um den Grenzwert des ζ -Potentials bei hohen pH-Werten. Der Parameter b nimmt starken Einfluss auf die Steigung der Funktion und pH_0 gibt an, bei

welchem pH-Wert der Mittelwert aus A_1 und A_2 erreicht wird.

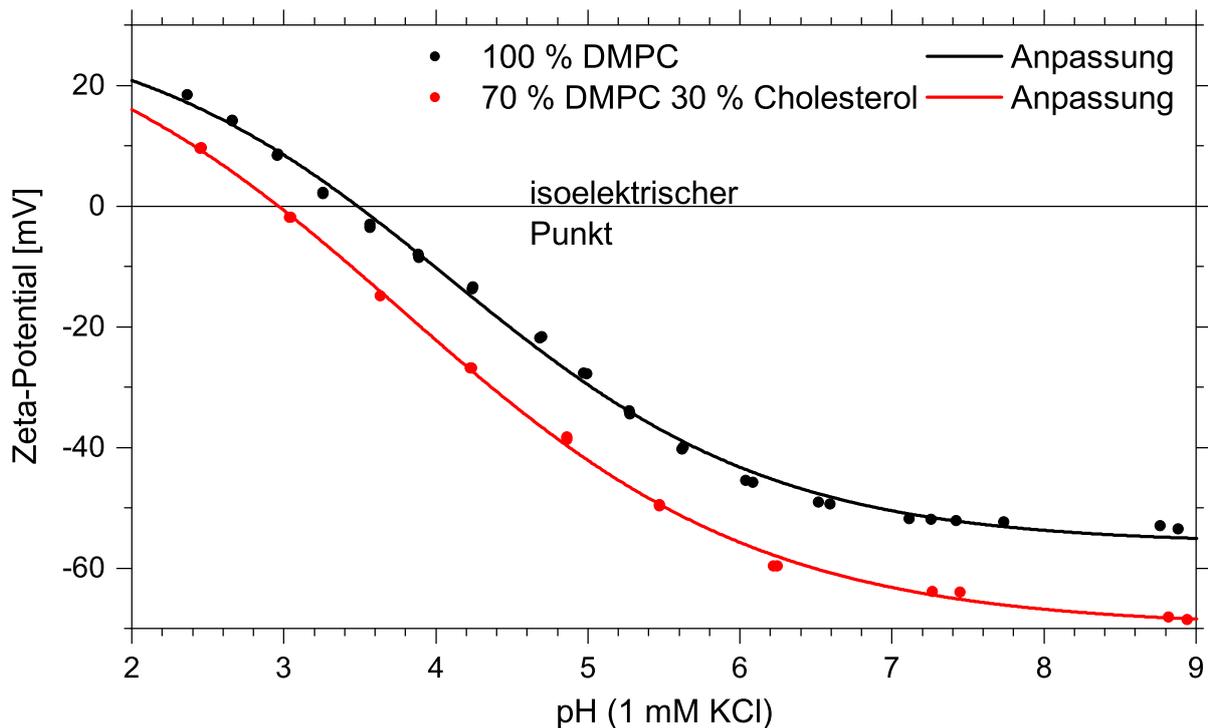


Abbildung 6.14. Strömungspotentialsmessungen von DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen auf Silizium in 1 mM Kaliumchloridlösung im pH-Bereich von 2 bis 9.

Um den isoelektrischen Punkt (IEP) zu bestimmen, muss $\zeta(pH) = 0$ gelten. Somit ergibt sich aus Gleichung 6.1 der in Gleichung 6.2 abgeleitete pH-Wert.

$$pH(\text{IEP}) = pH_0 + b \cdot \ln\left(\frac{A_2 - A_1}{A_2} - 1\right) \quad (6.2)$$

Der Fehler des durch Gleichung 6.2 ermittelten pH-Werts ergibt sich mithilfe Gaußscher Fehlerfortpflanzung in Gleichung B.4, welche im Anhang in Kapitel B dargestellt ist.^[124, S. 81 f.] Anhand der Parameter aus den Gleichungen 6.2 und B.4 kann der IEP bestimmt werden. Zur Ermittlung der Hydrophobie der beiden Systeme ist die Steigung des ζ -Potentialverlaufs von Interesse.^[134] Diese wird durch das Differenzieren der Gleichung 6.1 nach dem pH-Wert ermittelt. Durch Differenzieren ergibt sich für die Steigung an der Stelle pH_0 , bei dem der Mittelwert aus beiden Grenzwerten A_1 und A_2 erreicht wurde, der in Gleichung 6.3 dargestellte Zusammenhang, dessen Fehler sich mithilfe Gaußscher Fehlerfortpflanzung aus Gleichung B.5 ergibt.^[124, S. 81 f.]

$$\left. \frac{\partial \zeta}{\partial pH} \right|_{pH_0} = \frac{A_2 - A_1}{4 \cdot b} \quad (6.3)$$

Die Parameter sowie die daraus abgeleiteten Größen sind für die beiden Messungen

in Tabelle 6.12 dargestellt. Aufgrund des großen Fehlers ΔA_2 sind die abgeleiteten Parameter, wie der IEP und die Steigung, ebenfalls stark fehlerbehaftet. Da A_2 für die Betrachtung ohnehin nicht von großer Bedeutung ist und A_1 mithilfe der Anpassung vergleichsweise scharf bestimmt werden konnte, wird im Folgenden zusätzlich eine lineare Regression für beide Filme im Bereich um den IEP und den Wendepunkt pH_0 durchgeführt. Die Anpassungen sind in Abbildung 6.15 dargestellt.

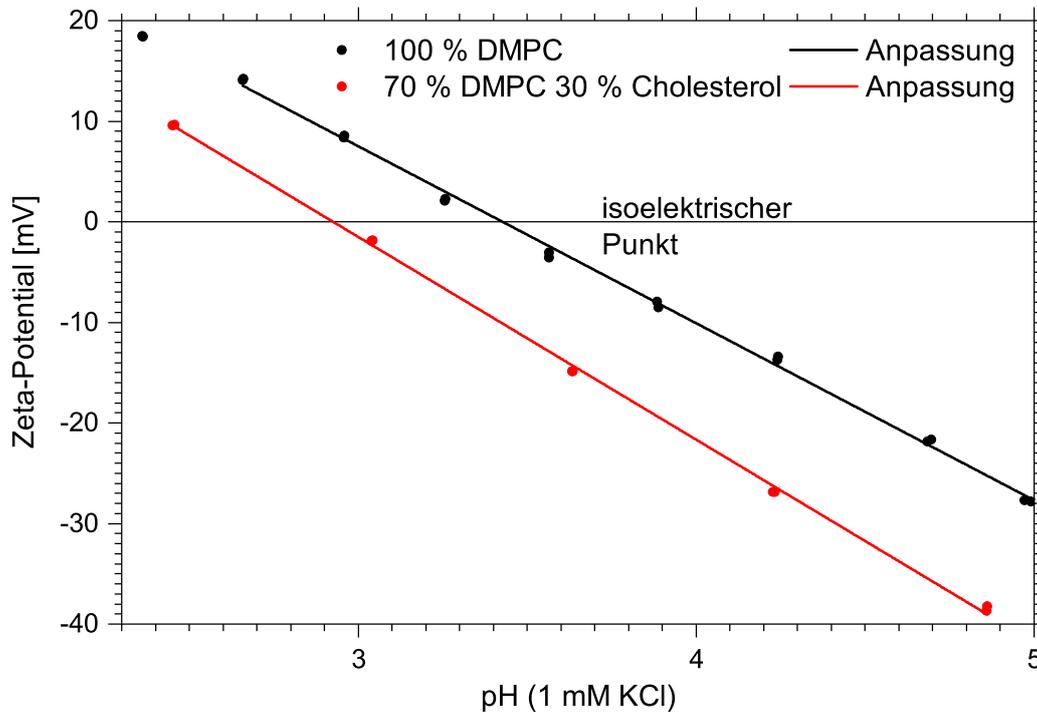


Abbildung 6.15. Strömungspotentialsmessungen von DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen auf Silizium in 1 mM Kaliumchloridlösung im pH-Bereich von 2,3 bis 5 mit linearer Anpassung.

Die verwendete Funktion zur Anpassung der Messdaten in Abbildung 6.15 ist Gleichung 6.4 zu entnehmen. Zur Berechnung des IEP wird Gleichung 6.5 verwendet. Der Fehler ΔpH (IEP) ergibt sich gemäß Gleichung B.6 im Anhang.

$$\zeta(pH) = m \cdot pH + \zeta_0 \quad (6.4)$$

$$pH(\text{IEP}) = -\frac{\zeta_0}{m} \quad (6.5)$$

Da die NR- und XRR-Messungen in Wasser ohne Puffer und somit etwa bei einem pH-Wert von 6 durchgeführt wurden, sollte besonders dieser Bereich bei Abbildung 6.14 betrachtet werden. Dabei ist zu sehen, dass der Betrag des ζ -Potentials für das System bestehend aus 30 % Chol 70 % DMPC deutlich höher ist. Gemäß Tabelle 6.8 ist die Wasserzwichenschichtdicke jedoch für DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit einem Chol-Anteil von 30 % geringer als für Filme ohne Chol. Wie aus den Werten in Tabelle 6.8 abgeleitet werden kann, ist die Wasserzwichenschichtdicke für Systeme

Tabelle 6.12. Parameter und daraus abgeleitete Größen der Strömungspotentialmessungen von DMPC- und 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen mittels Boltzmannfunktion und linearer Anpassung. Die Messungen wurden von Anton-Paar durchgeführt.

Parameter	100 % DMPC	70 % DMPC 30 % Chol
pH_0	$4,09 \pm 0,08$	$3,77 \pm 0,10$
b	$1,07 \pm 0,06$	$1,19 \pm 0,06$
A_1 [mV]	$31,7 \pm 3,2$	$35,2 \pm 4,2$
A_2 [mV]	$-56,0 \pm 0,9$	$-69,7 \pm 0,8$
χ^2	2,08	0,90
$\left. \frac{\partial \zeta}{\partial pH} \right _{pH_0} \left[\frac{mV}{1 pH} \right]$	$-20,4 \pm 1,4$	$-22,1 \pm 1,4$
IEP(Boltzmann)	$3,48 \pm 0,14$	$2,96 \pm 0,18$
ζ_0 [mV]	$60,3 \pm 0,8$	$59,0 \pm 0,8$
$m \left[\frac{mV}{1 pH} \right]$	$-17,6 \pm 0,2$	$-20,2 \pm 0,2$
χ^2	0,44	0,31
IEP(linear)	$3,43 \pm 0,06$	$2,93 \pm 0,05$

mit 30 % Chol um 6 Standardabweichungen geringer als für Filme ohne Chol. Das heißt, dass die elektrostatische Repulsion der Bilagen, die aufgrund des gemessenen ζ -Potentials existiert, nicht die dominante Kraft für die Gleichgewichtsabstände der Bilagen sein kann, da sie für höhere Wasserzwichenschichtdicken bei Filmen mit Chol sorgen würde. Für die erhaltenen Bilagenabstände muss eine andere Kraft verantwortlich sein. Das deckt sich mit der Publikation von Rand, in der für Bilagenabstände von unter 20 Å die in Kapitel 6.2 beschriebene Hydratationskraft als dominante Kraft im Vergleich zur elektrostatischen Wechselwirkung genannt wird.^[131, S. 281 f.] Gemäß Cowley *et al.* ist dies sogar bis zu Bilagenabständen von 30 Å der Fall.^[133] Somit spielt für die Hydratationskraft die Hydrophilie der Membranen eine entscheidende Rolle. Anhand der Strömungspotentialmessungen kann ermittelt werden, welches System die höhere Hydrophilie besitzt.

Der Grenzwert des ζ -Potentials für hohe pH-Werte A_2 kann der Boltzmannanpassung entnommen werden und liegt bei 30 % Chol 70 % DMPC-Oligolipidbilagensystemen bei $-(69,7 \pm 0,8)$ mV, während er für 100 % DMPC-Systeme bei $-(56,0 \pm 0,9)$ mV liegt. Gemäß der Literatur besteht eine Korrelation zwischen gemessenem Kontaktwinkel und dem gemessenen ζ -Potential.^{[135]–[137]} Petrinic *et al.* verweisen darauf, dass hydrophobe Polymere eine höhere Affinität besitzen, Hydroxidionen bei hohen pH-Werten zu absorbieren, als das für hydrophilere Polymere der Fall ist.^[138] Gemäß der durchgeführten Anpassungen liegt der Unterschied für A_2 bei $(13,7 \pm 1,2)$ mV. Die Abweichung beträgt mehr als 11 Standardabweichungen, sodass die Abweichung statistisch signifikant ist. Der Grenzwert für das System, bei dem 30 % Chol eingelagert wurde, ist

deutlich stärker negativ. Demnach ist der Film mit Chol gemäß Petrinic *et al.* hydrophober.^[138]

Gemäß Ferraris *et al.* ist die Steigung in einem ζ -Potential-pH-Diagramm für hydrophobe Stoffe größer, als das für hydrophile Materialien der Fall ist, da die nur schwach gebundenen Wassermoleküle leicht durch Ionen aus der Lösung ausgetauscht werden können, sodass eine stärkere Änderung des ζ -Potentials bei einer Änderung des pH-Wertes resultiert.^[134] Die Steigungen der Zeta-Potentialverläufe sind in Tabelle 6.12 gelistet. Dabei wird ersichtlich, dass die Steigung der Boltzmannfunktion am Wendepunkt erwartungsgemäß größer ist als die mithilfe von Ausgleichsgeraden über einen größeren Bereich gemittelte Steigung. Während sich die Boltzmannfunktion sehr gut eignet, um bei hohen pH-Werten den Grenzwert des ζ -Potentials zu bestimmen, eignet sich die lineare Regression sehr gut, um den IEP und die Steigung in diesem Bereich zu ermitteln. Der IEP liegt für reines DMPC über 6 Standardabweichungen über dem Wert für den Film, der 30 % Chol beinhaltet. Für eine Bilage bestehend aus unterschiedlichen Lipiden mit einer PC-Kopfgruppe fanden Petelska *et al.* einen IEP von 4,15.^[139] Aufgrund der unterschiedlichen Filmzusammensetzung ist ein genauer Vergleich nicht möglich, aber der IEP liegt sowohl bei der vorliegenden Messung als auch in der der Literatur im sauren Milieu. Die Steigung des Films mit 70 % DMPC 30 % Chol liegt um mehr als 8 Standardabweichungen über der erhaltenen Steigung des Films bestehend aus reinem DMPC. Somit kann sowohl durch den Grenzwert bei hohen pH-Werten als auch durch die Steigung darauf geschlossen werden, dass durch die Einlagerung von Chol in die Oligolipidbilagensysteme diese hydrophober werden. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit den Resultaten aus der Literatur für vergleichbare Systeme.^{[87][125]}

Durch die höhere Hydrophobie des 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems im Vergleich zu reinem DMPC ist bei Ersterem die Hydratationskraft geringer, da diese in einem Zusammenhang damit steht, wie schwer es ist, Wasser von der Membranoberfläche zu entfernen, wenn sich die Membranen annähern.^[131, S. 281 f.] Dieser Effekt übersteigt die stärkere Coulomb-Repulsion, sodass trotz des höheren ζ -Potentials ein geringerer Bilagenabstand mit 30 % Chol resultiert.

Wie aus der Abbildung 6.14 und der Tabelle 6.12 hervorgeht, sind die ζ -Potentiale der Systeme für pH-Werte von über 3,43 negativ. Da bei pH-Werten im Bereich von circa 6 bis 7,4 gearbeitet wird, liegen negative ζ -Potentiale vor. Es ist daher zu erwarten, dass gerade mit positiv geladenen Ionen bzw. NP eine besonders starke Interaktion auftritt. Nach diesem Einschub wird im folgenden Abschnitt 6.6 die Wechselwirkung zwischen AuNP und geladenen Oligolipidbilagensystemen mit Chol in Wasser untersucht.

6.6 Interaktion von geladenen Systemen mit NP

Die Interaktion mit AuNP und DMPC-Systemen mit geladenen Lipiden und Chol soll in Wasser untersucht werden. Dabei müssen zunächst die SLD der Komponenten thematisiert werden.

Die SLD von Gold liegt mit $4,67 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ sehr nahe an der SLD der solvatisierten Kopfgruppen mit $3,88 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ und zwischen den SLD des Kettenbereichs mit $-0,245 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ und schwerem Wasser mit $6,38 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$.^[19] Aufgrund der vorhandenen Lochanteile liegt die somit resultierende SLD des Kettenbereichs mit Löchern näher an der SLD von Gold, als es für Kettengruppen ohne Defekte der Fall ist. So liegt beispielsweise die SLD des Kettenbereichs mit 30 % Wasseranteil bereits bei $1,74 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$, während in diesem Fall die SLD des Kopfgruppenbereichs mit 30 % Wasseranteil bei $4,63 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ beträgt und somit sehr nahe an der SLD von Gold liegt. Damit sich die SLD einer Komponente des Systems signifikant ändert, muss die AuNP-Einlagerung sehr stark ausfallen, um in dem angelagerten Bereich einen Volumenanteil von mehreren Prozent auszumachen. Dies würde sich in den Eigenschaften des Systems sehr stark bemerkbar machen, da gemäß Gleichung D.3 beispielsweise pro AuNP der Größe 2,5 nm 124 positive Ladungen und ein AuNP der Größe 5 nm 494 positive Ladungen resultieren. Gleichzeitig wäre die damit verbundene SLD-Änderung im betreffenden Bereich nur schwerlich von einem höheren Anteil an mit Wasser gefüllten Löchern innerhalb des Oligolipidbilagensystems zu unterscheiden, da beide Phänomene zu einer Erhöhung der SLD führen.

Aufgrund des geringen SLD-Unterschied zwischen Gold und den solvatisierten Kopfgruppenbereichen mit 30 % Löchern von $0,04 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$, ist es nur sehr schwer möglich eine Einlagerung der NP im Kopfgruppenbereich nachzuweisen. Im Kettenbereich führen derweil sowohl die NP-Einlagerung als auch die Zunahme von Lochanteilen zu einer Erhöhung der SLD. Bei der Anpassungen der NR-Daten wird mit denselben Modellen gearbeitet wie ohne die Anwesenheit von NP. Dabei wird davon ausgegangen, dass etwaige SLD-Änderungen primär auf die Erhöhung von Lochanteilen zurückzuführen sind, welche ebenfalls eine Folge der Lipid-NP-Interaktion wären. Es stellt sich die Frage, ob die Interaktion von AuNP mit den Modellsystemen beobachtet werden kann und falls dies gelingt, ob auch der Ort der Interaktion festgestellt werden kann. Hierbei werden zuerst in Unterkapitel 6.6.1 positiv geladene Oligolipidsysteme mit 30 % Chol betrachtet, während im anschließenden Abschnitt 6.6.2 negativ geladene Oligolipidsysteme im Mittelpunkt stehen. Dabei werden besonders der Ort der AuNP-Einlagerung und weitere Veränderungen anderer Parameter durch AuNP thematisiert.

6.6.1 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:55

Bei den in Tabelle 6.9 gelisteten Werten für die geladenen Oligolipidbilagensysteme in Wasser fällt besonders das System 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:55 auf, da es als einziges System eine Wasserzwichenschichtdicke aufweist, die breiter ist als 20 Å. Nach der Charakterisierung dieses Systems in Wasser erfolgen nun Messungen mit den AuNP 1, die in Tabelle 6.10 mit einer Größe von circa 4,2 nm aufgelistet sind, bei einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Die Messdaten sind in Abbildung 6.16 dargestellt.

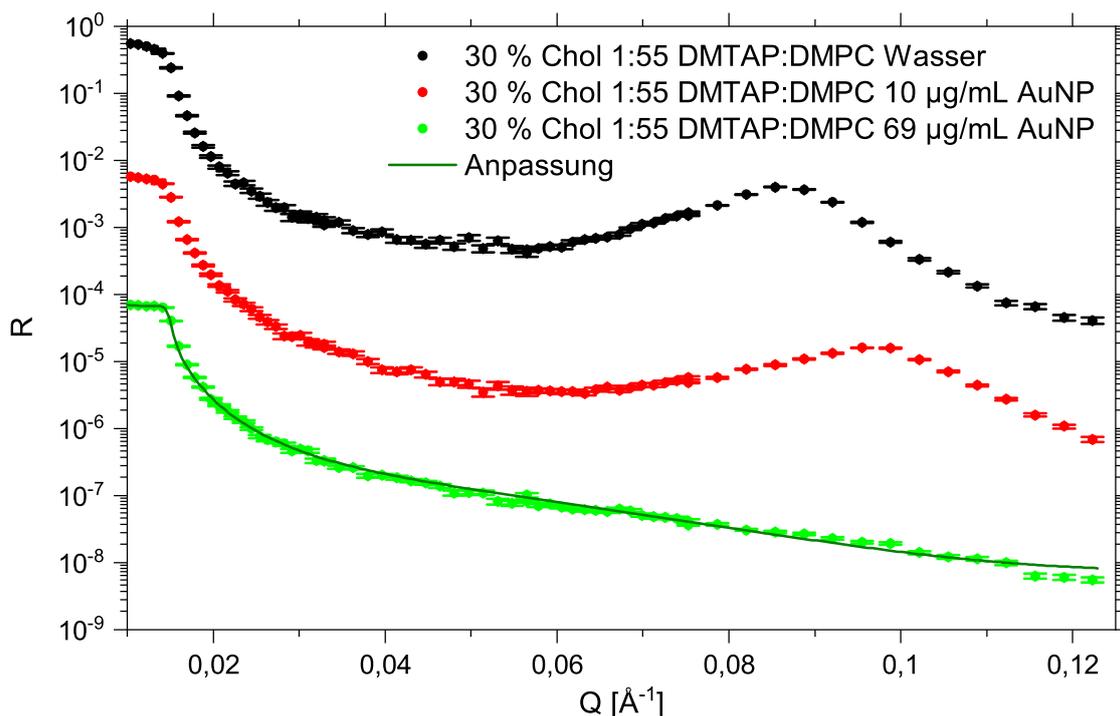


Abbildung 6.16. Dargestellt sind NR-Daten der Bilagensysteme bestehend aus 30 % Chol DMTAP:DMPC 1:55 in schwerem Wasser bei 20,0 °C mit einer zugehörigen Anpassung. Während sich bei der ersten Messung keine NP in der Lösung befanden, wurde anschließend die NP-Konzentration auf $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und anschließend auf $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ erhöht.

Die Messwerte in Wasser und bei einer NP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ können aufgrund des sehr breiten Bragg-Peaks nicht mit dem in Abbildung 4.15 dargestellten Modell angepasst werden. Stattdessen wurden die Messpunkte in RQ^4 -Darstellung gegen Q aufgetragen und mithilfe einer symmetrischen Funktion die Lage des Maximums bestimmt. Dies ist im Anhang in den Abbildungen D.6 und D.7 dargestellt. Anschließend wird aus der Lage der Maxima mittels Gleichung 2.13 die Dicke der Wiederholeinheit abgeleitet. Während diese vor der NP-Zugabe noch $(71,70 \pm 0,06)$ Å betrug, sank sie auf $(63,87 \pm 0,08)$ Å in einer Umgebung von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP ab.

Denkbare Erklärungen wäre entweder eine Einlagerung von positiv geladenen AuNP in das System, welche das negative ζ -Potential des Systems anheben und dadurch den Betrag des ζ -Potentials absenken. Folglich resultiert eine geringere Abstoßung

6. Wässriges Milieu

der Bilagen untereinander. Ebenfalls denkbar wäre, dass die AuNP nicht mit dem System interagieren und lediglich die Ionenstärke in der Lösung erhöhen und damit die Bilagen gegeneinander besser abschirmen, was zu einem geringeren Gleichgewichtsabstand führt.

Bei QCMD-Messungen von Oligolipidbilagensystemen mit 70 % DMPC 30 % Chol in Wasser resultiert reproduzierbar bei der Inkubation mit AuNP eine leichte Massendichte- und Dämpfungsabnahme. Demnach wird davon ausgegangen, dass ausschließlich eine moderate Abtragung der Lipide, aber keine Einlagerung der AuNP in die Oligolipidbilagensysteme erfolgt. Durch die geringfügige Substitution des zwitterionischen DMPC durch positiv geladenes DMTAP wird die Interaktion mit positiv funktionalisierten AuNP weiter reduziert. Somit wird die Änderung der Bilagenabstände durch die Zugabe von NP auf die erhöhte Ionenstärke in der Lösung und die damit verbundene stärkere Abschirmung der Bilagen untereinander zurückgeführt.

Um zu eruieren, ob die vorliegende Ionenstärke für eine Abschirmung sorgen könnte, wurde diese im Anhang in Kapitel D für dieses System abgeschätzt. Die Abschätzung stützt die These, dass bei diesen Konzentrationen eine Abschirmung auftreten kann, die zur Verringerung der Coulomb-Repulsion führt. Das hieße jedoch gleichzeitig, dass bei diesem System neben der Hydratationskraft auch die Coulomb-Repulsion eine entscheidende Rolle - zumindest vor der AuNP-Zugabe - spielt.

Die Wiederholeinheitendicken in Wasser und bei einer NP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ liegen demnach im Bereich der anderen Systeme mit 30 % Chol in schwerem Wasser, wie sie in Abbildung 6.11 dargestellt sind.

Eine weitere Erhöhung der NP-Konzentration auf $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ führt dazu, dass anstelle des Oligolipidbilagensystems nur noch eine substratgebundene Bilage vorliegt. Diese besitzt gemäß dargestellter Anpassung eine Dicke von $(54,9 \pm 1,6) \text{ \AA}$. Dies deckt sich mit den in Tabelle 4.4 aufgeführten Werten unter der Annahme, dass hier eine Bilage mit solvatisierten Kopfgruppen vorliegt. Die Bilagendicke für Systeme mit 30 % Chol an Luft liefert gemäß Kapitel 5.3 Bilagendicken von $(49,8 \pm 0,4) \text{ \AA}$. Die Bilagendicke bei einer AuNP-Konzentration von $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ liegt somit 3,1 Standardabweichungen über der Bilagendicke an Luft. Die Diskrepanz könnte auf einen leicht erhöhten Wasseranteil in den Bilagen in wässriger Lösung - und somit einem etwas größeren Kopfgruppenbereich verglichen mit der Messung an Luft - zurückzuführen sein.

Der Bilagenabstand nimmt bei der ersten AuNP-Zugabe ab. Diese Beobachtung ist vermutlich auf die damit verbundene Erhöhung der Ionenstärke zurückzuführen, was zu einer Verringerung der Coulomb-Repulsion der Bilagen untereinander und dadurch zu einer Verkürzung des Bilagenabstandes führt. Hingegen bleibt bei einer sehr hohen AuNP-Konzentration von $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ das Oligolipidbilagensystem nicht intakt. Lediglich die substratgebundene Bilage bleibt erhalten. Dies wird darauf zurückgeführt, dass bei der hohen AuNP-Konzentration die freischwimmenden Bilagen von dem Substrat abgelöst

werden, wobei der dabei auftretende Mechanismus nicht klar ist.

Um eine potentielle Interaktion bei geringen AuNP-Konzentrationen zwischen den Membranen und den positiv funktionalisierten AuNP feststellen zu können, wird im folgenden Unterkapitel 6.6.2 ein Oligolipidbilagensystem mit einem geringen Anteil an negativ geladenen Lipiden den AuNP ausgesetzt.

6.6.2 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49

Um eine höhere Interaktion mit positiv funktionalisierten AuNP zu erreichen, wird ein System gewählt, bei dem der Chol-Anteil 30 % beträgt und das Stoffmengenverhältnis DMPG:DMPC 1:49 entspricht. Der Anteil an DMPG wird dabei so gering gehalten, da es gemäß Abbildung 6.10 nicht möglich ist, ein Oligolipidbilagensystem mit hohem Ladungsanteil und nur den Komponenten DMPC und Chol zu generieren, das in Wasser stabil ist. In Abbildung 6.17 sind die NR-Messungen dargestellt.

Nach der Charakterisierung des Systems in Wasser wurden die gleichen AuNP wie im vorangegangenen Abschnitt 6.6.1 zugegeben und das System nach 8 h 8 min (1), 10 h 11 min (2), 12 h 19 min (3) und nach 20 h 37 min (4) untersucht. Wie Abbildung 6.17 entnommen werden kann, liegen zwei Bragg-Peaks vor, wobei diese offensichtlich keine Vielfachen voneinander sind. Es müssen daher zwei unterschiedliche Wiederholeinheiten vorliegen. Das bisherige Modell kann daher nicht verwendet werden. Die für die Anpassungen in Abbildung 6.17 verwendeten Modelle sind in den Abbildungen 6.18 und 6.19 skizziert. Bei dem in Abbildung 6.18 dargestellten Modell wird davon ausgegangen, dass innerhalb des Films unterschiedliche Gebiete mit sich unterscheidenden Quellstärken vorliegen. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Quellung nach und nach immer weitere Teile des Films erfasst. Die in gequollenen Regionen im Bilagenbereich angelagerten AuNP sind dabei nicht skizziert.

Im Gegensatz zum in Abbildung 6.18 skizzierten Modell wird beim in Abbildung 6.19 zugrundeliegenden Ansatz davon ausgegangen, dass die unterschiedlichen Bragg-Peaks im Reflexionsprofil in Abbildung 6.17 daher rühren, dass sich die Quellung zunächst auf die weiter außen liegenden Bilagen beschränkt.

Als Grundlage für beide Modelle werden die Ergebnisse der Anpassung des Systems in Wasser verwendet. Wie anhand der χ^2 -Werte in Tabelle 6.13 und an den Anpassungen in Abbildung 6.17 zu erkennen ist, können die Messdaten deutlich besser angepasst werden, wenn angenommen wird, dass in manchen Gebieten der Film vollständig gequollen und in anderen Gebieten noch ungequollen vorliegt. Das in Abbildung 6.18 dargestellte Modell eignet sich somit deutlich besser als das in Abbildung 6.19 skizzierte Modell. Aufgrund dieses Ergebnisses werden nicht nur die hier diskutierten Daten nach 20 Stunden 37 Minuten, sondern auch die aufgenommenen Reflektivitäten nach 8 Stunden 8 Minuten, 10 Stunden 11 Minuten und 12 Stunden

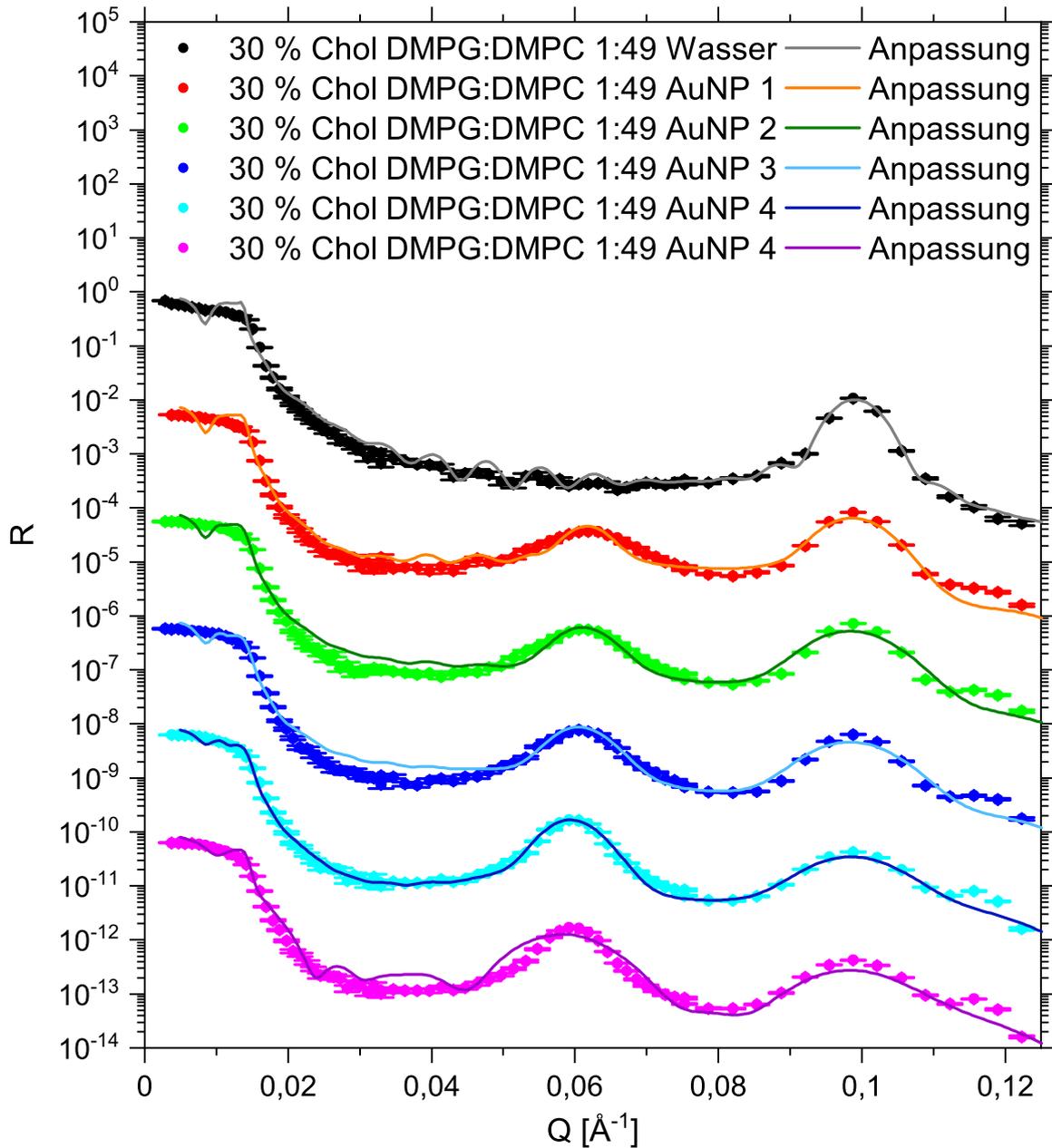


Abbildung 6.17. Dargestellt sind NR-Daten der Bilagensysteme bestehend aus 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49 in schwerem Wasser. Bei allen dargestellten Daten wurde für die Anpassung eine inkohärente Summe gebildet. Während sich bei der ersten Messung keine NP in der Lösung befanden, wurde anschließend die NP-Konzentration auf $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ erhöht und zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine NR-Messungen durchgeführt. Dabei wurde die erste Messung nach 8 h 8 min (rot), die zweite Messung nach 10 h 11 min (grün), die dritte Messung nach 12 h 19 min (blau) und die vierte Messung nach 20 h 37 min (a cyan und b pink) durchgeführt. Bei den Anpassungen der Datensätze 1-3 und 4 a wird davon ausgegangen, dass in Gebiet 1 des Films eine Quellung eintrat und in Gebiet 2 nicht. Aus diesen beiden Regionen wurde im Folgenden eine inkohärente Summe gebildet. Bei Modell (b) hingegen wird davon ausgegangen, dass in allen Regionen die Quellung gleich stark ausfällt, die äußersten Wiederholeinheiten jedoch stärker quellen, als das bei Bilagen der Fall ist, die sich näher am Substrat befinden.

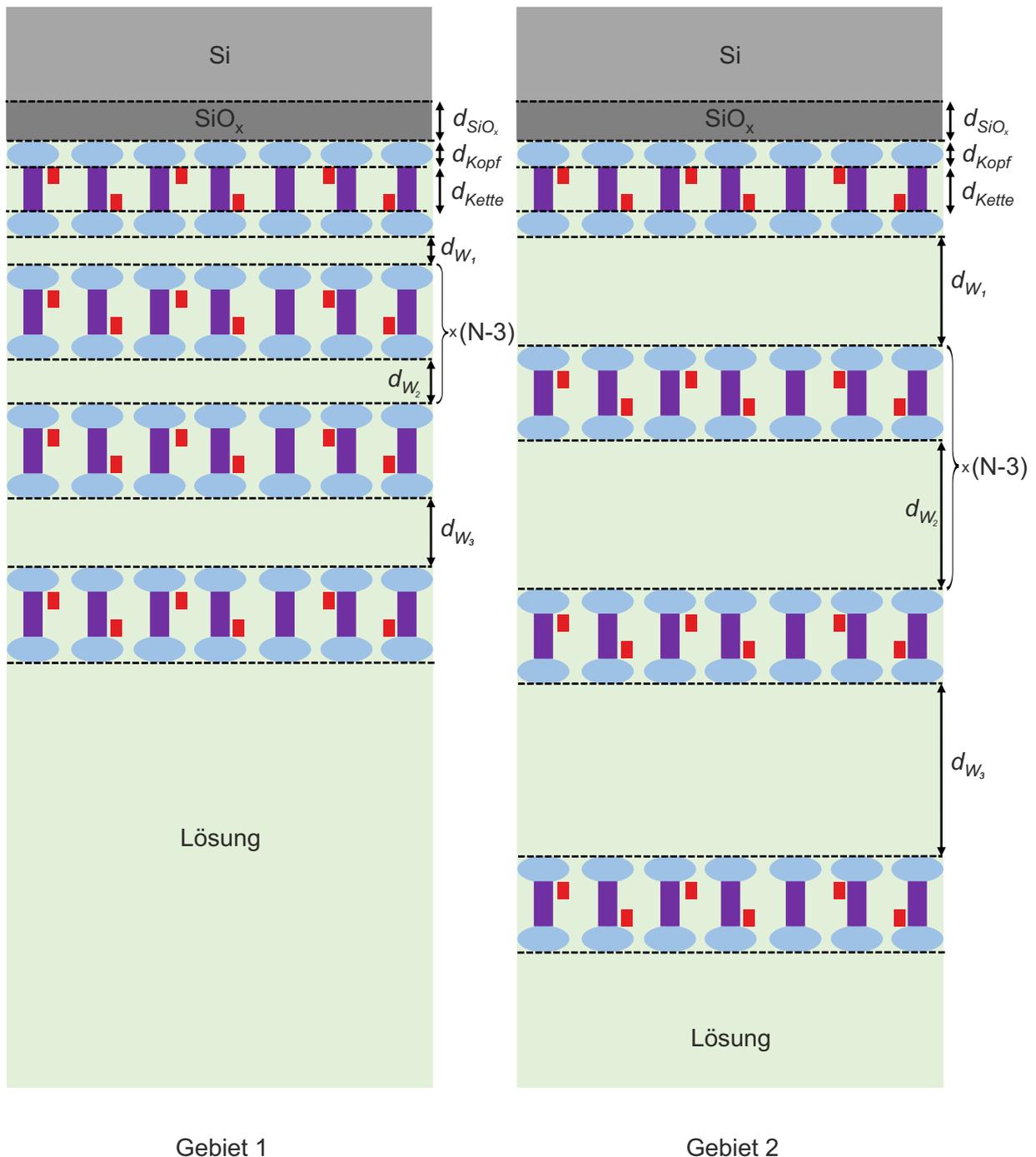


Abbildung 6.18. Dargestellt ist das Modellsystem für Oligolipidbilagensysteme mit unterschiedlich starken Quellungen in Gebiet 1 und Gebiet 2. Das Modell entspricht dabei dem in Abbildung 4.15 skizzierten System mit dem Unterschied, dass die Parameter $d_{W_{1-3}}$ und die Lochanteile sich für unterschiedliche Gebiete des Films unterscheiden.

19 Minuten mit dem in Abbildung 6.18 beschriebenen Modell (a) angepasst. Es wird dabei angenommen, dass das Verhältnis des Bereichs mit elf Bilagen im Wiederholbereich zu dem Bereich mit neun Bilagen konstant bleibt. Das gilt sowohl für den gequollenen als auch für den ungequollenen Bereich. Es wird somit weiterhin von dem bereits verwendeten Modell ausgegangen, wobei zwischen zwei unterschiedlichen Regionen unterschieden wird, bei denen sich die Parameter $d_{W_{1-3}}$ unterscheiden.

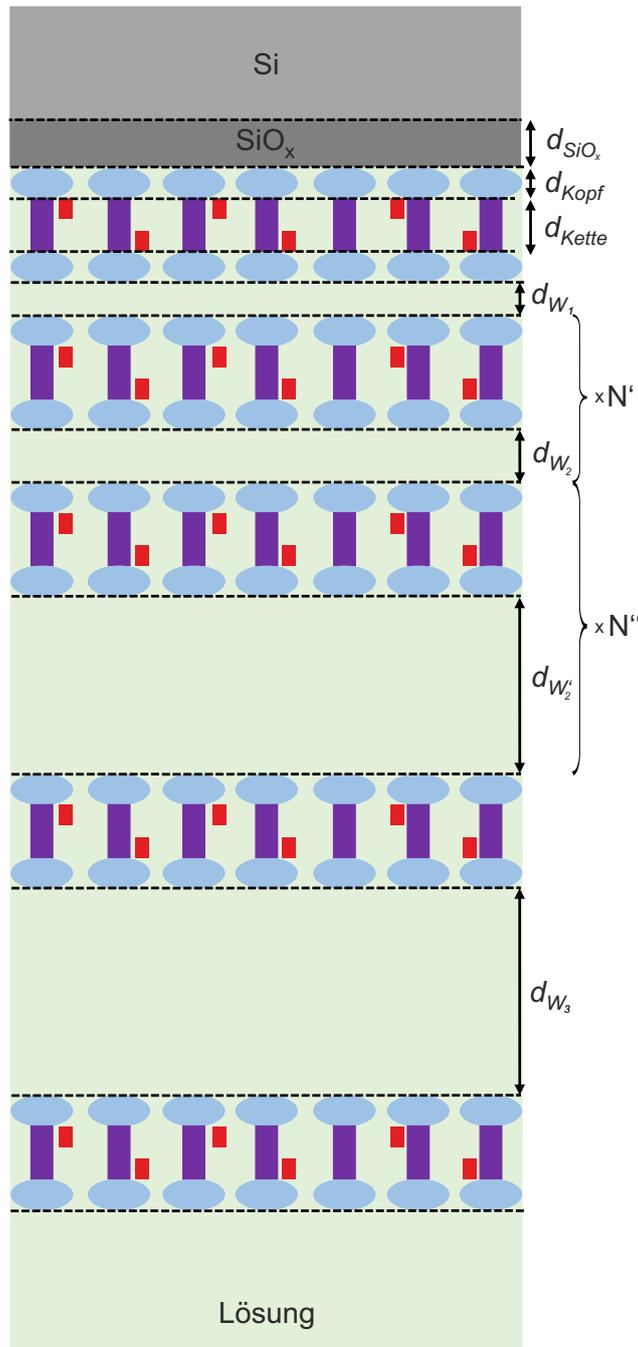


Abbildung 6.19. Dargestellt ist das Modellsystem für Oligolipidbilagensysteme mit unterschiedlich starken Quellungen bei verschiedenen Abständen zum Substrat. Der Unterschied zu dem in Abbildung 4.15 dargestellten Modell liegt darin, dass es zwei Wiederholeinheiten mit N' und N'' Bilagen gibt, wobei $N' + N'' = N - 3$ gilt. Die Wiederholeinheiten unterscheiden sich durch die unterschiedliche Dicke der Wasserzwichenschichten d_{W_2} und $d_{W_2'}$.

Die Anpassungen in Abbildung 6.17 mit den in den Abbildungen 6.18 und 6.19 skizzierten Modellen liefern die in Tabelle 6.13 aufgelisteten Daten.

Tabelle 6.13. Parameter der NR-Anpassung der 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49-Bilagen in schwerem Wasser vor und nach AuNP-Zugabe bei 20,0 °C. Bei mehreren Werte pro Parameter handelt es sich in der oberen Zeile um das ungequollene System und in der unteren Zeile um das gequollene System. In der Spalte 21 h (b) folgen zwei unterschiedliche Wiederholungen aufeinander. Die angepassten Rauigkeiten betragen alle 3,0 Å mit einem Fehler von (0,1 - 0,2) Å. Die $\Delta i\rho_{SL}$ betragen alle (1 - 2) 10^{-9} \AA^{-2} sowie die $\Delta\rho_{SL \text{ Wasser}}$ $1 \cdot 10^{-8} \text{ \AA}^{-2}$.

AuNP Exposition	keine	8 h	10 h	12 h	21 h (a)	21 h (b)
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	4,0	7,9	11,2	11,7	12,6	9,9
$i\rho_{SL}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	0,147	0,210	0,223	0,254	0,264	0,211
N	12(40%) 14(60%)	12(37%) 14(55%) 12(3%) 14(5%)	12(36%) 14(54%) 12(6%) 14(9%)	12(30%) 14(45%) 12(10%) 14(15%)	12(24%) 14(36%) 12(16%) 14(24%)	9(50%) 6(50%) 7(50%) 5(50%)
d_{W1} [Å]	1,5	1,3	1,0	4,0	1,8	6,2
Δd_{W1} [Å]	0,3	0,5	0,7	1,0	1,1	0,4
d_{W1} [Å]		16,3	12,8	10,1	11,3	
Δd_{W1} [Å]		3,8	3,1	2,4	1,6	
d_{W2} [Å]	6,44	6,43	6,71	6,71	6,56	6,58
Δd_{W2} [Å]	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,09
d_{W2} [Å]		46,43	47,25	48,04	50,00	48,28
Δd_{W2} [Å]		0,19	0,17	0,13	0,06	0,13
d_{W3} [Å]	10,2	23,1	15,8	13,2	17,4	54,6
Δd_{W3} [Å]	0,1	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4
d_{W3} [Å]		99,8	99,4	98,4	64,9	
Δd_{W3} [Å]		3,5	2,8	1,9	0,9	
$\rho_{SL \text{ Wasser}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	5,91	5,94	5,99	5,99	5,99	5,99
Lochanteil [%]	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0
Δ Lochanteil [%]	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
Lochanteil [%]		31,7	33,3	36,9	36,9	27,0
Δ Lochanteil [%]		0,7	0,3	0,2	0,2	0,1
d_{Wh} [Å]	63,36	63,35	63,63	63,63	63,48	63,50
$\Delta (d_{Wh})$ [Å]	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,09
d_{Wh} [Å]		103,35	104,17	104,96	106,92	105,20
$\Delta (d_{Wh})$ [Å]		0,19	0,17	0,13	0,06	0,13
d_{ges} [Å]	828,7	835	836,6	837	837	812
Δd_{ges} [Å]	0,3	4	0,8	1	1	1
d_{ges} [Å]		1.341	1.345	1.350	1.338	
Δd_{ges} [Å]		6	5	3	2	
χ^2	13.067	14.008	12.511	10.233	5.314	16.071

Durch die AuNP-Zugabe nimmt die Dicke der Wiederholeinheit sukzessive zu, sodass sie sogar mit zweistündigen NR-Messungen zeitaufgelöst verfolgt werden kann. Wie auf Abbildung 6.17 zu erkennen ist, nimmt der Anteil an Bilagen, bei welchen der Bilagenabstand in etwa so groß ist wie in Wasser, langsam ab. Dementsprechend nimmt gleichzeitig der Anteil an gequollenen Bilagen mit der Zeit zu. Der Vorgang der Quellung kann mithilfe der Anpassungen nachvollzogen werden.

Ort der AuNP-Einlagerung

Zur Bestimmung des Ortes der AuNP-Einlagerung stellt sich zunächst die Frage, ob der Quellprozess mit einer Zunahme der SLD im Kettenbereich verknüpft ist. Die Anpassungen verbessern sich jedoch nicht durch die Annahme einer höheren SLD im Kettenbereich. Da sich die SLD von Gold fast mit der SLD der solvatisierten Kopfgruppen deckt, wird keine Änderung der SLD in diesem Bereich durch eine Einlagerung von AuNP erwartet. Im Kettenbereich hingegen führt sowohl eine Erhöhung des Lochanteils als auch eine Einlagerung der NP zu einer Zunahme der SLD im Kettenbereich. Da die SLD von AuNP in derselben Größenordnung liegt wie die Ketten-SLD, müsste zudem ein vergleichsweise hoher Volumenanteil an AuNP in die Bilagen eingelagert werden, um eine starke Veränderung hervorzurufen. Es verwundert daher nicht, dass keine Einlagerung der NP aufgrund etwaiger SLD-Änderungen festzustellen ist.

An dieser Stelle erfolgt eine Abschätzung des Volumenanteils an AuNP, der notwendig wäre, um eine statistisch signifikante SLD-Änderung im Kopf- bzw. im Kettengruppenbereich zu erzielen. Dafür wird die SLD des Kopf- und Kettengruppenbereichs des Filmes mit 21-stündiger AuNP-Exposition bei einer AuNP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ angepasst, wie in Tabelle 6.13 zu entnehmen ist. Hierbei sind neben der SLD-Änderung vor allem auch der erhaltene Fehler bei der Anpassung von Interesse. Als untere Grenze wird dabei der Wert für das vollständig trockene System verwendet. Aufgrund der stark positiven Ladung der AuNP und der dadurch resultierenden Repulsion der AuNP untereinander wird für die obere SLD-Grenze der Kopf- und Kettengruppenbereiche davon ausgegangen, dass der AuNP-Volumenanteil im Kopf- oder Kettenbereich eines stabilen Systems nicht die des Lipids übersteigt und somit maximal 50 % betragen kann. Alle anderen Parameter, wie beispielsweise der Wasseranteil, werden analog zu den bisherigen Anpassungen variiert. Die resultierende Anpassung ist in Abbildung 6.20 dargestellt.

Durch die zwei weiteren Parameter reduziert sich der erhaltene χ^2 -Wert von 5.314 auf 4.713. Die Ketten-SLD bleibt dabei konstant mit $-(0,245 \pm 0,353) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$, während die Kopfgruppen-SLD von ehemals $3,88 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ auf $(4,241 \pm 0,404) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ zunimmt. Damit ergibt sich ein Volumenanteil von AuNP im Kettenbereich von $(0 \pm 7) \%$ und im Kopfgruppenbereich von $(46 \pm 51) \%$. Da der erhaltene Fehler der Kopfgruppen-

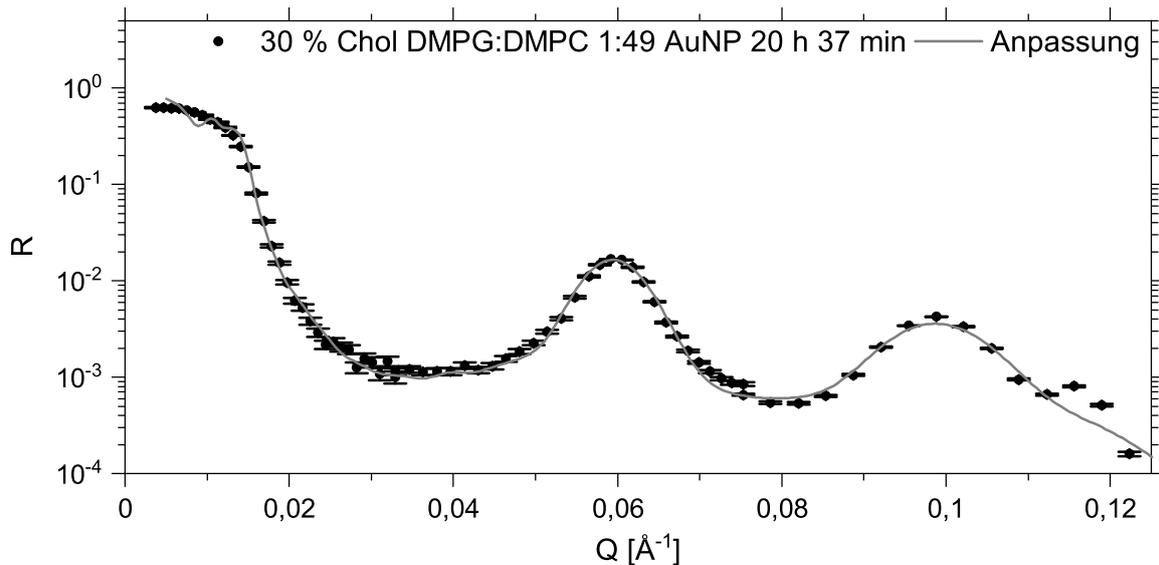


Abbildung 6.20. Anpassung der NR-Daten eines 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49-Bilagensystems in Wasser 20 Stunden und 37 Minuten nach der NP-Zugabe mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ mit angepassten SLD für die Kopf- und Kettengruppen.

SLD im Vergleich zum Kontrast zu den AuNP vergleichsweise groß ist, resultiert ein entsprechend hoher Fehler. Bei einer Verallgemeinerung der erhaltenen Fehler wäre im Kettengruppenbereich eine Einlagerung von mehr als 21 % statistisch signifikant, während im Kopfgruppenbereich der erhaltene Fehler so groß ist, dass selbst ein Volumenanteil von 100 % keine statistisch signifikante Änderung zum Wert ohne AuNP bedeuten würde.

Unter der Annahme, dass die positiv funktionalisierten hydrophilen AuNP sich nicht in die Kettengruppen einlagern und somit die Kettenbereich-SLD als Parameter entfällt, resultiert derselbe χ^2 -Wert und dieselbe Kopfgruppen-SLD und ein etwas geringerer Fehler mit $(4,241 \pm 0,370) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$. Der bestimmte AuNP-Volumenanteil im Kopfgruppenbereich läge dann bei $(46 \pm 47) \%$.

Da der Lochanteil innerhalb der Bilagen angepasst wird, nehmen diese beiden Parameter Einfluss auf die effektive SLD im Kopfgruppenbereich. Würde simultan mithilfe einer anderen Messmethode der Lochanteil des Systems bestimmt werden und nur noch die Bestimmung der Kopfgruppen-SLD als Parameter übrig bleiben, der Einfluss auf die SLD nimmt, würde die Kopfgruppen-SLD deutlich genauer bestimmt werden können zu $(4,241 \pm 0,041) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$. Der Fehler des Volumenanteils läge bei diesem Vorgehen dann nur noch bei 5 %.

Zur Anpassung der SLD bleibt festzuhalten, dass aufgrund der geringen Unterschiede der SLD für die Komponenten die dazu vergleichsweise großen Fehler keine quantitativen Aussagen zulassen. Die Ergebnisse scheinen jedoch darauf hinzuweisen, dass die AuNP eher im Kopfgruppenbereich eingelagert werden als im Kettengruppenbereich. Eine bessere Unterscheidung zwischen den Kopfgruppen, Kettengruppen und

AuNP resultiert, wenn der Kontrast des Wassers variiert wird. Bei einem Austausch des schweren Wassers durch leichtes Wasser nimmt die SLD der solvatisierten Kopfgruppen und gleichzeitig die SLD der mit Wasser gefüllten Löcher ab. Folglich wird der Kontrast zwischen Lipiden und NP erhöht.

Beeinflussung weiterer Parameter durch die AuNP-Lipid-Interaktion

Durch die Beeinflussung anderer Eigenschaften des Oligolipidbilagensystems können hingegen indirekt Rückschlüsse auf die Interaktion des Systems mit AuNP gezogen werden. Hierbei seien exemplarisch die Auflösung, die iSLD und die Wasserzweischichtdicken genannt.

Es stellt sich die Frage, weshalb an zwei unterschiedlichen Stellen Bragg-Peaks auftreten, welche keine ganzzahligen Vielfachen voneinander sind. Es könnte entweder der Fall sein, dass in manchen Gebieten der Film gequollen vorliegt und in anderen nicht, wie dies in Abbildung 6.18 dargestellt ist. Andererseits könnte auch der Fall sein, dass die Quellung zunächst nur die sehr weit außen liegenden Bilagen betrifft und mit der Zeit auch immer mehr der tieferliegenden Bilagen quellen, wie in Abbildung 6.19 visualisiert. Um zu eruieren, welche Annahme richtig ist, werden diese beiden Modelle verwendet, um die Messdaten knapp 21 Stunden nach der AuNP-Zugabe anzupassen. Es werden die Daten nach 20 h 37 min gewählt, da sich bei der letzten Messung das System vergleichsweise am nächsten am Gleichgewichtszustand befindet.

Während bei Modell (a) und somit in Abbildung 6.18 davon ausgegangen wird, dass in manchen Regionen der Film in gequollener Form und an anderen Stellen in ungequollener Form vorliegt, ist die Annahme in Modell (b) und daher in Abbildung 6.19, dass nicht an unterschiedlichen Orten die Quellung unterschiedlich ist, sondern dass die inneren Bilagen des Films noch einen ähnlichen Bilagenabstand wie in Wasser haben und dass die weiter außen liegenden Bilagen gequollen vorliegen.

Die erhaltene Dicke der Wiederholeinheit des gequollenen Films nimmt mit der Zeit zu, was auf einen fortwährenden Quellprozess zurückgeführt wird. Während d_{W2} für den gequollenen Bereich nach 8 h 8 min noch $(46,43 \pm 0,19)$ Å beträgt, liegt er nach 20 h 37 min bei $(50,00 \pm 0,06)$ Å. Neben der Zunahme der Dicke für die Wiederholeinheit ist auch die Verschlechterung der angepassten Auflösung mit fortwährender AuNP-Interaktion klar erkennbar. Beträgt diese in Wasser noch 4,0 %, liegt sie 8 h 8 min nach der AuNP-Zugabe bereits bei 7,9 % und nach 20 h 37 min bei 12,6 %. Eine naheliegende Erklärung hierfür ist, dass die Bilagen durch die Einlagerung der AuNP weniger glatt sind und somit gemäß Abbildung 4.14 die angepasste Auflösung abnimmt.

Ein Vergleich zwischen den Messdaten und den Anpassungen in Abbildung 6.17 offenbart besonders im Datensatz nach 10 h 11 min (2, rot), dass im Bereich des Bragg-

Peaks bei etwa $0,06 \text{ \AA}^{-1}$ ein etwas größeres $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ die Daten besser beschreiben würde, wohingegen die Daten im Bereich des Bragg-Peaks bei etwa $0,1 \text{ \AA}^{-1}$ durch ein minimal geringeres $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ besser beschrieben wären.

Während die Anpassung der Ketten-SLD an sich zu keiner besseren Anpassung der Systeme führt, kann durch eine Erhöhung des Wassergehalts im Ketten- und Kopfgruppenbereich ein geringerer χ^2 -Wert erhalten werden, was jedoch auf eine Erhöhung des Lochanteils innerhalb der Bilagen zurückgeführt wird. Vor allem die SLD-Erhöhung im Kopfgruppenbereich sorgt hierbei für eine bessere Anpassung. Da diese jedoch bereits einen größeren Wert als die AuNP besitzt, wird davon ausgegangen, dass in Anwesenheit der AuNP auch der Wasseranteil innerhalb der Bilagen zunimmt, was auf neu entstandene Defekte in den Bilagen zurückgeführt wird.

Zudem ist durch die fortwährende Einlagerung der AuNP eine systematische Zunahme der iSLD zu beobachten. Lag diese noch bei $(0,147 \pm 0,001) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ bei der Anpassung in Wasser, steigt sie mit der Anpassung jeder folgenden Messung stetig an und liegt bei der letzten Charakterisierung des Systems bei $(0,264 \pm 0,002) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$. Die sprunghafte Abnahme von d_{W3} und der damit verbundene Unterschied zu d_{W2} , welcher bei den Anpassungen nach über 20 Stunden erkennbar ist, könnte ein Hinweis darauf sein, dass sich das System in den gequollenen Bereichen mit der Zeit einem Gleichgewichtszustand annähert. Das Einstellen eines Gleichgewichtszustandes für das gesamte System war auch nach über 20 Stunden nicht in Sicht, wie sich sehr leicht an dem sich zeitlich ändernden Reflektivitätsprofil erkennen lässt. Zudem ist nach der Auswertung anhand von Tabelle 6.13 erkennbar, dass die Gewichtung der ungequollenen Bereiche stetig abnimmt, nach 21 Stunden jedoch noch immer 60 % beträgt.

Es bleibt festzuhalten, dass mithilfe der NR-Messungen aufgrund des geringen Kontrasts zwischen AuNP und den weiteren Komponenten des Systems zwar nicht der Ort der AuNP-Einlagerung mit Sicherheit bestimmt werden konnte, aber durch die Interaktion mit den AuNP viele Veränderungen des Systems festzustellen sind. Neben der starken Zunahme der Wasserzwichenschichtdicke sind vor allem der Anstieg der Welligkeit des Systems, der sich in Form der angepassten Auflösung bemerkbar macht, die Zunahme der angepassten iSLD und der Anstieg an Defektstellen durch die Lipid-AuNP-Interaktion bemerkenswert.

Bei diesem System wurden AuNP in das System eingelagert und es wurden viele Veränderungen des Modellsystems durch die Lipid-AuNP-Interaktion beobachtet. Hinsichtlich der limitierten Messzeit besteht allerdings das grundlegende Problem, dass selbst nach 20 Stunden 37 Minuten kein Gleichgewichtszustand für das System absehbar war. Aufgrund der Messmethode ist es von Interesse, dass die Charakterisierung der NP-Lipid-Interaktion auf einer kürzeren Zeitskala stattfindet.

6.7 Zusammenfassung

Die NR-Messungen zeigen, dass die Gesamtschichtdicke und der Bilagenabstand der Oligolipidbilagensysteme durch den Chol-Anteil beeinflusst werden. Während eine leichte Erhöhung des Chol-Anteils auf 10 % die Wiederholeinheitendicke erhöht, nimmt diese durch die weitere Erhöhung des Chol-Anteils wieder ab. Die angepasste Rauigkeit bei NR-Messungen nimmt mit einer Erhöhung des Chol-Anteils ab, was auf die Stabilisierung der lamellaren Struktur zurückgeführt wird. Die anhand der Strömungspotentialmessungen erhaltenen ζ -Potentiale zeigen, dass die elektrostatische Repulsion der Systeme mit Chol größer ist als bei den Systemen ohne Chol. Die erhaltenen Wiederholeinheiten- und Wasserzwichenschichtdicken können mithilfe der Hydratationskraft und Coulombkraft erklärt werden.

Bei den Stabilitätsmessungen an geladenen Oligolipidbilagensystemen zeigt sich, dass bei der Überschreitung eines gewissen Anteils an geladenen Lipiden kein stabiles Oligolipidbilagensystem mehr in Wasser erhalten wird. Die Repulsion der Bilagen untereinander scheint nicht durch die Van-der-Waals-Attraktion kompensiert werden zu können. Es ist daher nicht möglich, mit den gängigen Modellen für Bakterienmembranen, die lediglich aus einem zwitterionischen Lipid und einem hohen Anteil an einem negativ geladenen Lipid bestehen, ein in Wasser stabiles Oligolipidbilagensystem zu generieren.

Bei einem System bestehend aus 30 % Chol 1:55 DMTAP:DMPC bewirkte die Zugabe von AuNP eine Abnahme der Wiederholeinheitendicke, was auf die Erhöhung der Abschirmung zurückgeführt wird. Hingegen führte bei einem System mit 30 % Chol 1:49 DMPC:DMPC die Zugabe von AuNP zu einer sehr langsam ablaufenden, starken Quellung. Diese erstreckte sich im Laufe der Lipid-NP-Interaktion über einen immer größer werdenden Anteil des Filmes.

7 Auswirkungen der Temperaturvariation

Eine naheliegende Methode, um Einfluss auf die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung zu nehmen, ist die eine Temperaturvariation, welche durch einen Phasenübergang eine Änderung des Modellsystems bewirkt. Im vorliegenden Kapitel 7 werden die Folgen auf Oligolipidbilagensysteme und deren Interaktion mit AuNP durch einen temperaturbedingten Phasenübergang untersucht. Bei den bisher präsentierten Messungen wurde 20,0 °C verwendet. Ziel dieses Kapitels ist es, in Form von Temperaturvariation Einfluss auf Oligolipidbilagensysteme zu nehmen. Beispiele aus der Biologie, bei denen unterschiedliche Temperaturen eine Rolle spielen, wären - neben einer Unterkühlung, Fieber oder Überwärmung - Membranen von wechselwarmen oder thermophilen Organismen.^[5, S. 170, 412, 590] Dabei sind in diesem Kapitel besonders die Auswirkungen auf die Lipid-NP-Interaktionen in Abhängigkeit von der Temperatur von Interesse.

Die Charakterisierungen finden vorab in Form von DSC-Messungen in Unterkapitel 7.1, AFM-Messungen in Abschnitt 7.2, SE-Untersuchungen in Unterkapitel 7.3 und XRR-Messungen in Abschnitt 7.4 statt. Darauf folgen die NR-Messungen in Unterkapitel 7.5 und die Zusammenfassung in Abschnitt 7.6.

7.1 DSC-Messungen

Bei der Temperaturvariation ist vor allem die Phasenübergangstemperatur des Systems eine wichtige Kenngröße. Diese kann mithilfe von DSC bestimmt werden. Das Messprinzip für DSC-Messungen ist in Kapitel 2.9 skizziert. Hinsichtlich der in Kapitel 6 verwendeten Systeme ist vor allem die Phasenübergangstemperatur von DMPC und der Einfluss von Chol auf die Phasenübergangstemperatur von Interesse. Daher wird in dem Abschnitt 7.1.1 ein reines DMPC-Oligolipidbilagensystem und im Abschnitt 7.1.2 ein System aus 70 % DMPC 30 % Chol jeweils in Wasser mittels DSC untersucht.

7.1.1 100 % DMPC

Als Grundsystem wird im ersten Schritt DMPC in Wasser untersucht. Hierfür wird mithilfe einer DMPC-Vesikellösung mit einer Massenkonzentration von $1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ eine DSC-Messung durchgeführt. Die erhaltenen Messwerte für die Bestimmung der Phasenübergangstemperatur sind in Abbildung 7.1 dargestellt.

Die bestimmte Hauptphasenübergangstemperatur von Phasenzustand $P\beta'$ zu $L\alpha$ ^{[83][84]} beträgt dabei $(24,23 \pm 0,16)$ °C. Bei $(12,8 \pm 1,0)$ °C ist in Abbildung 7.1 zudem der Vorübergang von Phasenzustand $L\beta'$ zu $P\beta'$ ^{[83][84]} erkennbar, wobei diese Phasenübergangstemperatur mit dem in der Literatur angegebenen Bereich übereinstimmt.^[83] Die dabei angegebenen Fehler entsprechen der Halbwertsbreite. Beim Vergleich der

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

Hauptphasenübergangstemperatur mit dem in Kapitel 4.1 dargelegten Literaturwert ergibt sich, dass der Wert im Bereich einer Standardabweichung des Literaturwerts liegt. Die bestimmte Schmelzenthalpie beträgt $(22,0 \pm 0,5) \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$, während Sturtevant eine Schmelzenthalpie von $(20,8 \pm 0,3) \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$ und Halstenberg *et al.* eine Schmelzenthalpie von $28,5 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$ bestimmten.^{[69][140]} Der erhaltene Wert liegt zwischen den beiden Literaturwerten, wobei die Abweichung zum Ergebnis von Sturtevant nicht statistisch signifikant ist.

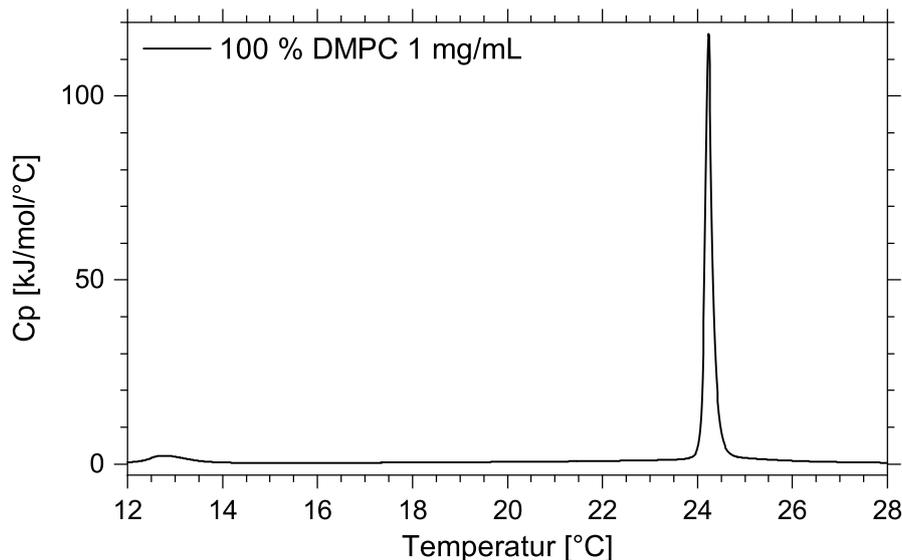


Abbildung 7.1. Mittels DSC-Messung bestimmte Spezifische Wärmekapazität c_p einer DMPC-Vesikellösung in Wasser im Bereich von 11 bis 30,0 $^\circ\text{C}$.

7.1.2 70 % DMPC 30 % Chol

Neben den Ergebnissen aus Unterkapitel 7.1.1 stellt sich die Frage, inwieweit Chol die Temperaturabhängigkeit der Systeme beeinflusst. Diese Frage soll in diesem Abschnitt mithilfe einer DSC-Messung geklärt werden. Hierbei wird analog zu Unterkapitel 7.1.1 vorgegangen.

Die erhaltenen Messwerte für die Bestimmung der Phasenübergangstemperatur von Vesikeln mit einem Stoffmengenverhältnis von 70 % DMPC 30 % Chol sind in Abbildung 7.2 dargestellt. Hierbei wurde nicht mehr eine Massenkonzentration von $1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ verwendet, sondern es wurde dieselbe Stoffmengenkonzentration wie bei der Messung von 100 % DMPC verwendet. Diese Stoffmengenkonzentration entspricht im Fall von 100 % DMPC einer Massenkonzentration von $1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ und im Falle von 70 % DMPC 30 % Chol liegt die Massenkonzentration etwas darunter.

Die bestimmte Hauptphasenübergangstemperatur beträgt gemäß der in Abbildung 7.2 dargestellten Werte $(24,42 \pm 8,70) ^\circ\text{C}$. Die Änderung der Phasenübergangstemperatur durch die Einlagerung von DMPC ist nicht signifikant. Wenn bei Messungen im Bereich der Phasenübergangstemperatur die Systeme mit und ohne Chol verglichen

werden, bietet sich somit - aufgrund der sehr viel größeren Halbwertsbreite für das System mit Chol - die Temperatur von 24,2 °C an, bei der das Maximum der spezifischen Wärmekapazität bei DMPC beobachtet wird.

Die bestimmte Schmelzenthalpie liegt für das DMPC-Chol-System bei $(2,6 \pm 0,2) \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$. Durch die Zugabe von Chol nimmt, im Vergleich zu reinen DMPC-Vesikeln, die Halbwertsbreite um einen Faktor von mehr als 50 zu. Hingegen entspricht die bestimmte Schmelzenthalpie der 70 % DMPC 30 % Chol-Vesikel nicht einmal mehr einem Sechstel der Enthalpie, welche für Vesikel bestehend aus reinem DMPC bestimmt wurden. Halstenberg *et al.*, die Chol-Anteile von 5,3 %, 8,1 %, 11,1 %, 25 % und 42,9 % in DMPC-Vesikeln untersuchten, beobachteten ebenfalls eine starke Verbreiterung des Peaks durch die Einlagerung von Chol verbunden mit einer Abnahme der Schmelzenthalpie.^[69]

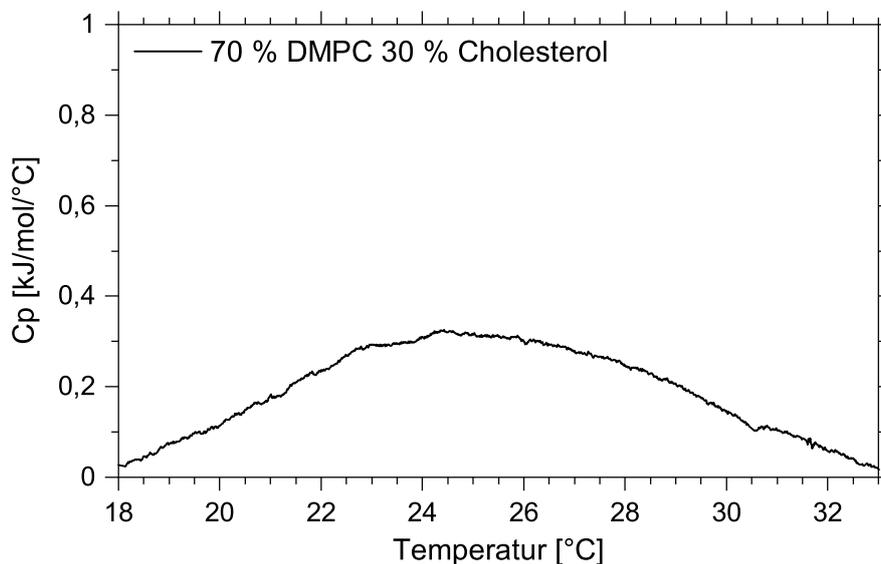


Abbildung 7.2. Spezifische Wärmekapazität c_p einer 70 % DMPC 30 % Chol-Vesikellösung in Wasser mit derselben Stoffmengenkonzentration wie sie bei 100 % DMPC verwendet wurde im Bereich von 18 bis 30,0 °C. Der angegebene Bereich der Ordinate entspricht nur noch einem Bruchteil des Bereichs, wie er in Abbildung 7.1 verwendet wurde.

Gemäß der in den Unterkapiteln 7.1.1 und 7.1.2 dargestellten Ergebnisse der Phasenübergangstemperatur sowie insbesondere der Schmelzenthalpie wird davon ausgegangen, dass durch die Einlagerung von Chol ins Oligolipidbilagensystem die Temperaturabhängigkeit des Systems abnimmt. Nach der Ermittlung der Phasenübergangstemperatur und der deutlich stärkeren Temperaturabhängigkeit des DMPC-Systems ohne Chol bieten sich im nächsten Schritt AFM-Messungen an. Damit kann überprüft werden, welchen Einfluss das Heizen auf Temperaturen oberhalb der Phasenübergangstemperatur auf die Struktur des DMPC-Oligolipidbilagensystems hat.

7.2 Rasterkraftmessungen

Um den Einfluss des Phasenübergangs auf die Topographie zu untersuchen, wurde der in Abbildung 5.2 dargestellte DMPC-Film nach der ursprünglichen Messung einen Tag oberhalb der in Abschnitt 7.1.1 bestimmten Phasenübergangstemperatur bei 30,0 °C und Normaldruck gelagert. Anschließend wurde der Film wieder unter die Phasenübergangstemperatur abgekühlt auf 20 °C und nach zwei Stunden erneut eine AFM-Messung bei Raumtemperatur durchgeführt. Die dabei erhaltene Topographie ist in Abbildung 7.3 dargestellt.

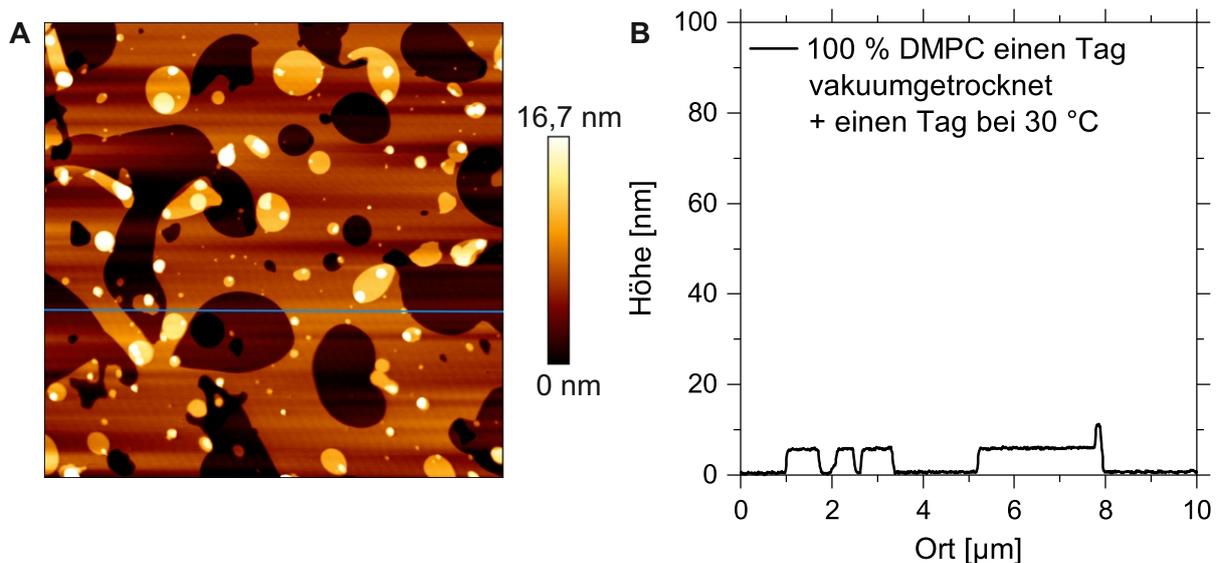


Abbildung 7.3. **A** AFM-Aufnahme des auch in Abbildung 5.2 dargestellten DMPC-Films der Größe 10 µm x 10 µm, welcher zwischen den beiden Messungen einen Tag bei 30,0 °C gelagert wurde. Das Höhenprofil entlang der eingezeichneten blauen Linie ist Abbildung **B** zu entnehmen. **B** Höhenprofil entlang der blauen Linie des 10 µm Bildausschnittes in **A**. Die niedrigste gemessene Höhe wurde dabei auf 0 nm gesetzt. Die Skalierung wurde dabei exakt gleich gewählt wie in Abbildung 5.2**B**, um eine gute Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die Vermessung der Probe erfolgte durch Julian Czajor.

Ein Vergleich der beiden Abbildungen 5.2 und 7.3 zeigt klar, dass sich die Oberflächenstruktur substantiell ändert. Die Oberfläche wird bedeutend glatter und gleichmäßiger über den gesamten Messbereich. Während in Abbildung 5.2 tiefe Furchen zu erkennen sind, kann in Abbildung 7.3**B** die Bilagenstruktur erahnt werden, da die Stufenhöhe im Bereich der Bilagendicke liegt.

Anhand der Abbildung 7.3 können mit der gemessenen Topographie keinerlei Rückschlüsse auf die Gesamtschichtdicke gezogen werden, da lediglich im Bereich der obersten Lagen gemessen wurde. Im Gegenzug kann anhand des Bildes darauf geschlossen werden, dass nach dem Aufheizen auf 30,0 °C keine tiefen Löcher mehr vorliegen. Bei NR-Messungen wäre daher davon auszugehen, dass der Lochanteil einer geheizten Probe näherungsweise bei 0 % liegt. Aufgrund der gemessenen Höhen

entsteht in Ergänzung zu den Kapiteln 5.1, 5.2 und 5.3 ein detailliertes Gesamtbild hinsichtlich der Oligolipidbilagenstruktur an Luft.

Im Anschluss wird nun die Auswirkung der Temperaturvariation auf die Gesamtschichtdicke analysiert.

7.3 Ellipsometriemessungen

Mithilfe von SE-Messungen soll in diesem Unterkapitel geklärt werden, welche Änderungen der Systeme durch eine Temperaturvariation auftreten und bis zu welchen Temperaturen die DMPC-Oligolipidbilagen stabil sind. Des Weiteren soll überprüft werden, inwieweit die Ergebnisse durch die Einlagerung von Chol beeinflusst werden. Dazu wird im wässrigen Milieu zunächst ein reines DMPC-Oligolipidbilagensystem in Abschnitt 7.3.1 und anschließend ein 70 % DMPC 30 % Chol-System in Abschnitt 7.3.2 untersucht.

7.3.1 100 % DMPC

Um die Temperaturstabilität von DMPC-Oligolipidbilagensystemen in Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit zu untersuchen, wurden an drei Systemen SE-Messungen durchgeführt. Die zugehörigen Messdaten und Beschreibungen sind im Anhang Kapitel E bzw. den Abbildungen E.2, E.3 und E.4 zu entnehmen.

Im Bereich von 20,0 °C ist das DMPC-Oligolipidbilagensystem stabil. Die erhaltenen Ergebnisse lassen sich ein Stück weit mit der Literatur für Multilagensysteme vergleichen, obgleich bei Multilagensystemen bedeutend mehr Bilagen vorliegen, als das bei einem Oligolipidbilagensystem der Fall ist. Gemäß dieser bleiben unterhalb der Phasenübergangstemperatur die Systeme auch über vier Wochen stabil.^[15]

Die Abbildungen E.2, E.3 und E.4 zeigen, dass eine Erhöhung der Temperatur hin zur Phasenübergangstemperatur zu einer Absenkung der Stabilität führt, was sich mit der Zeit in einem Ablösen der Bilagen niederschlägt. Bei Film 2 trat das Ablösen bereits bei 21,0 °C ein, wobei sich innerhalb von 20 Stunden bei Temperaturen von 21,0 °C bzw. 21,5 °C die Gesamtschichtdicke halbierte. Hingegen war bei den Filmen 1 und 3 erst ab 23,0 °C eine Abnahme der Gesamtschichtdicke zu beobachten. Bei Film 1 halbierte sich im Bereich von 23,0 °C und 23,5 °C die Gesamtschichtdicke innerhalb von 60 h. Bei Film 3 sank die Gesamtschichtdicke bei 23,0 °C in moderater Form. Nach einer anschließenden Temperaturerhöhung auf 25,0 °C blieb die Gesamtschichtdicke des Systems über 20 Stunden konstant. Eine Messung von Mennicke *et al.* bei einer Temperatur von 40 °C zeigt, dass die Bilagensysteme bei dieser Temperatur nicht stabil sind.^[20] Beim Prozess des Ablösens gehen mehrere Lagen planarer Bilagen zu multilamellaren Vesikeln über.^[15]

7.3.2 70 % DMPC 30 % Chol

Da die Einlagerung von Chol laut Unterkapitel 6.3 bereits dazu führt, dass die Stabilität des Bilagensystem stark erhöht wird und auch gemäß Unterkapitel 7.1.2 die Einlagerung von Chol den Phasenübergang stark beeinflusst, wird an dieser Stelle überprüft, inwieweit Chol die Langzeit- und Temperaturstabilität der Bilagensysteme beeinflusst. Die Langzeitstabilität bei 20,0 °C wurde bereits durch zwei im Abstand von sechs Wochen durchgeführten NR-Messungen in Abschnitt 6.4.2 aufgezeigt. Das Hauptaugenmerk liegt daher bei Temperaturen oberhalb der Phasenübergangstemperatur von DMPC.

Die Messergebnisse für das System sind Abbildung E.5 im Anhang zu entnehmen. Dabei wurde das System nach der Wasserzugabe dreimal bei 20,0 °C charakterisiert, auf 25,0 °C erhitzt und einige Stunden später wurde die Temperatur abermals auf 35,0 °C erhöht. Der Film wurde dabei knapp fünf Stunden bei 25,0 °C und anschließend gut 16 Stunden bei 35,0 °C gehalten. Es traten dabei keinerlei signifikante Änderungen der Gesamtschichtdicke auf. Durch die Einlagerung von Chol nimmt die Temperaturstabilität somit zu und die Oligolipidbilagensysteme sind auch bei Temperaturen von 35,0 °C stabil.

Das deckt sich auch mit der in Kapitel 7.1.2 bestimmten Schmelzenthalpie, gemäß welcher die strukturellen Änderungen im Film durch die Anwesenheit von Chol deutlich geringer sind als mit reinem DMPC. Auch die von Inoko *et al.* beschriebene Stabilisierung der lamellaren Struktur durch die Anwesenheit von Chol erklärt die geringere Affinität der substratgebundenen Lipide das Substrat in Form von Vesikeln zu verlassen.^[127]

Vergleichend lässt sich festhalten, dass die Stabilität von substratgebundenen DMPC-Oligolipidbilagen bei Temperaturen im Bereich der Phasenübergangstemperatur nicht über eine sehr große Zeitskala gegeben ist, wohingegen durch die Einlagerung von 30 % Chol die Systeme auch bei bedeutend höheren Temperaturen von 35,0 °C über mehrere Stunden keinerlei signifikante Veränderungen bzgl. ihrer Gesamtschichtdicke aufzeigen.

7.4 Röntgenreflexionsmessungen

Auf den Ergebnissen der Stabilitätsmessungen in Unterkapitel 7.3 aufbauend, kann im vorliegenden Kapitel der Einfluss der Temperatur auf die lamellaren Schichtabstände untersucht werden. Hierbei stellt sich die Frage, ob neben den DMPC-Systemen auch Systeme mit Chol Änderungen durch die Temperaturvariation aufweisen. Hierfür wurden mehrere DMPC-Filme sowie ein 70 % DMPC 30 % Chol mittels XRR analysiert. Die Dicken der Wiederholeinheiten bei 20,0 °C für Systeme bestehend aus DMPC und 70 % DMPC 30 % Chol sind in den Tabellen 6.6 und 6.7 dargestellt. Die Temperierung erfolgte bei den XRR-Messungen mittels eines Peltierelements. Eine Kühlung auf

Temperaturen unter 18,0 °C ist nicht möglich, sodass die tiefste eingestellte Temperatur 18,0 °C beträgt. Mithilfe der in Kapitel 7.1.1 bestimmten Phasenübergangstemperatur und unter Berücksichtigung der in Kapitel 7.3.1 gemessenen Instabilität der DMPC-Bilagensysteme oberhalb der Phasenübergangstemperatur, wurden die Messungen nur leicht oberhalb der Phasenübergangstemperatur bei 25,0 °C durchgeführt. Die erhaltenen Messdaten aller Oligolipidbilagensysteme wurden in der Form RQ^4 gegen Q aufgetragen und mit einer symmetrischen Funktion angepasst, um das Maximum zu erhalten und damit die Dicke der Wiederholeinheit abzuleiten. Die Resultate der reinen DMPC-Systeme sind in Tabelle 7.1 dargestellt. Eine Visualisierung der entsprechenden Messdaten erfolgt zusammen mit der Darstellung der NR-Daten in Kapitel 7.5 in Abbildung 7.6. Die bestimmten Wiederholeinheitendicken liegen bei 25,0 °C deutlich unterhalb der Werte, die bei 18,0 °C erhoben wurden.

Tabelle 7.1. Anhand der Positionen der Bragg-Peaks der XRR-Daten abgeleitete Dicken der Wiederholeinheiten für die DMPC-Oligolipidbilagen in Wasser bei 18,0 und 25,0 °C. Die vier Werte wurden an unterschiedlichen Systemen im Gleichgewicht erhalten.

Parameter	18,0 °C (1)	18,0 °C (2)	25,0 °C (1)	25,0 °C (2)
$d_{\text{Bilage}} + d_{W2}$ [Å]	$66,90 \pm 0,30$	$67,58 \pm 0,13$	$63,36 \pm 0,12$	$63,36 \pm 0,12$

Da in Kapitel 7.3 die Temperaturstabilität für Filme mit einem Chol-Gehalt von 30 % deutlich größer war, wurde der in Tabelle 6.7 dargestellte Film anschließend von 20,0 °C auf 43 °C erhitzt. Dabei reduzierte sich die Schichtdicke von $(62,35 \pm 0,04)$ Å auf $(61,19 \pm 0,05)$ Å. Obwohl die Temperaturänderung dabei 23,0 °C betrug, fiel die Abnahme der Wiederholeinheitendicke deutlich geringer aus als die Dickenänderung, welche bei DMPC aus einer Temperaturänderung von nur 8,0 °C resultierte.

Die beschriebene Verringerung der Dicke von DMPC mit zunehmender Temperatur deckt sich dabei mit dem von Kucerka *et al.* festgestellten Trend oberhalb der Phasenübergangstemperatur. Sie stellten unter anderem fest, dass die Bilagendicken von unterschiedlichen Lipiden mit PC-Kopfgruppen mit steigender Temperatur abnehmen.^[141] Aufbauend auf den beschriebenen Messergebnissen werden NR-Messungen an den Systemen durchgeführt werden, um weitere Erkenntnisse zu erhalten.

7.5 Neutronenreflexionsmessungen

In Unterkapitel 7.5.1 soll die Frage geklärt werden, inwieweit sich die Struktur der Doppelschichten durch eine Erhöhung der Temperatur oberhalb der Phasenübergangstemperatur im wässrigen Milieu verändert. In Abschnitt 7.5.2 wird anschließend geklärt, wie die Bilagensysteme mit AuNP in Abhängigkeit von der Temperatur und vom Chol-Gehalt interagieren.

7.5.1 100 % DMPC

Da die SE-Messungen in Kapitel 7.3 für System 3 bei Temperaturen von 25,0 °C eine Langzeitstabilität von über 20 Stunden aufzeigten und sich die Abnahme der Gesamtschichtdicke bei den Systemen 1 und 2 bei etwas geringeren Temperaturen über einen deutlich längeren Zeitraum erstreckte als eine NR-Messung, sollten die Systeme auch mithilfe von NR-Messungen charakterisiert werden können. Die in Kapitel 7.4 durchgeführten XRR-Messungen an DMPC-Modellsystemen bei 25,0 °C zeigten zudem keine Hinweise auf unzureichende Stabilität. In Anbetracht der Phasenübergangstemperatur von DMPC, die gemäß Kapitel 7.1.1 bei $(24,23 \pm 0,16)$ °C liegt, wurden die NR-Messungen bei 26,0 °C durchgeführt, um sicherzustellen, dass das System vollständig den Phasenübergang vollzogen hat. An der tieferen Temperatur von 18,0 °C wurde hingegen festgehalten.

Die bei den beschriebenen Temperaturen erhaltenen Messdaten sowie die zugehörigen Anpassungen sind Abbildung 7.4 zu entnehmen, wobei die abgeleiteten Parameter in Tabelle 7.2 dargestellt sind. Für die Anpassung bei 18,0 °C wurde dasselbe Modell wie bei 20,0 °C verwendet, wie es auch in Tabelle 4.1 dargestellt ist. Für die Anpassung bei 26,0 °C hingegen werden Änderungen an den Parametern des Modellsystems vorgenommen. Ausgehend von dem ursprünglichen Modell werden die Parameter anhand der Werte, die Kucerka *et al.* für 30,0 °C bei Vesikeln publiziert hat, angepasst.^[141] Der Unterschied liegt primär in der geringeren Kettengruppenlänge, wobei auch die Kopfgruppenlänge geringer ist als dies bei 18,0 oder 20,0 °C der Fall ist.

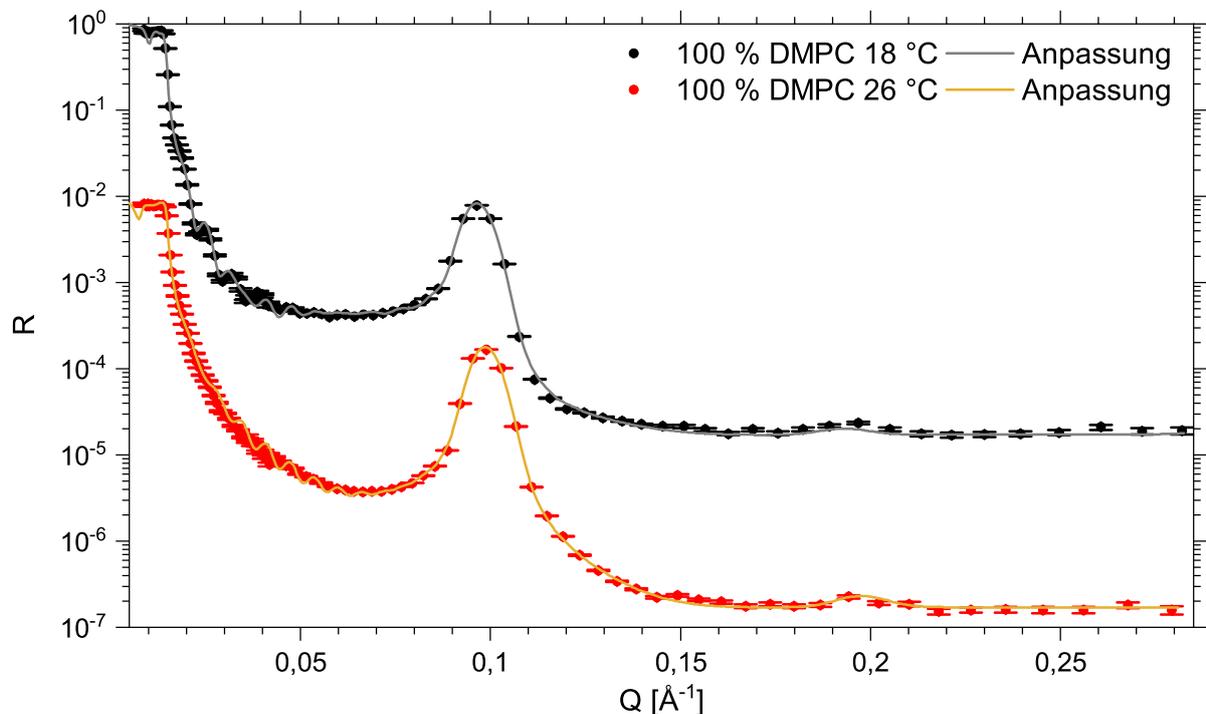


Abbildung 7.4. Dargestellt sind die NR-Daten der Bilagensysteme bestehend aus DMPC in schwerem Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C sowie die zugehörigen Anpassungen.

In Abbildung 7.4 sticht die deutlich erhöhte Intensität des ersten Bragg-Peaks bei der 26,0 °C-Messung hervor. Diese Daten können mit den von Kucerka *et al.* publizierten Ergebnissen gut angepasst werden, da hier aufgrund der dünneren Lipiddoppelschichten bei ähnlicher Lage des Bragg-Peaks die Wasserzwichenschichten deutlich dicker werden. Der entscheidende Faktor für den hohen Kontrast ist der verschwindend geringe Loch- und somit Wasseranteil in den Bilagen. Dies ist nicht nur notwendig für die Anpassung, sondern deckt sich auch bestens mit den AFM-Messungen in Kapitel 7.2. Dies zeigt auch, weshalb unterhalb der Phasenübergangstemperatur mit einer inkohärenten Summe gearbeitet wird, während oberhalb der Phasenübergangstemperatur die Daten problemlos mit einer kohärenten Anpassung beschrieben werden können. Der Phasenübergang - welcher anhand der simultanen IR-Messungen bestätigt wird^[71] - ist somit auch anhand der NR-Daten klar erkennbar.

Tabelle 7.2. Parameter der NR-Anpassung des DMPC-Oligolipidbilagensystems in schwerem Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.

Parameter	18,0 °C	26,0 °C
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7,1	7,2
Σ [Å]	5,08 ± 0,07	6,97 ± 0,03
$i\rho_{SL}$	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,00
N	12 ($\frac{2}{5}$), 14 ($\frac{1}{5}$) & 16 ($\frac{2}{5}$)	16
d_{Kopf} [Å]	12,7	11,1
d_{Kette} [Å]	30,3	26,5
d_{W1} [Å]	9,3 ± 0,1	9,6 ± 0,1
d_{W2} [Å]	9,28 ± 0,00	14,92 ± 0,00
d_{W3} [Å]	20,2 ± 0,1	15,6 ± 0,0
ρ_{Wasser} [10^{-6} Å^{-2}]	6,21 ± 0,01	6,38 ± 0,00
Lochanteil [%]	36,2 ± 0,2	2,4 ± 0,2
d_{Wh} [Å]	64,92 ± 0,00	63,62 ± 0,00
d_{ges} [Å]	910,5 ± 0,1	1.059,2 ± 0,1
χ^2	4.791	7.969

Bei der 18,0 °C-Messung ließ sich der Bereich zwischen Abbruchkante und erstem Bragg-Peak mit einer kohärenten Summe nicht ansatzweise so treffend anpassen, wie es mit der in Tabelle 7.2 aufgeführten inkohärenten Summe gelang. Zur Verdeutlichung der Zunahme des Kontrasts sind die aus Tabelle 7.2 resultierenden SLD-Profile in Abbildung 7.5 einander gegenübergestellt. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wird bei den 18,0 °C-Werten das SLD-Profil des Summanden der inkohärenten Summe dargestellt, der dieselbe Bilagenanzahl besitzt wie in der kohärenten Anpassung des Films bei 26,0 °C.

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

Bei den beiden Anpassungen sind die Bilagenanzahlen gleich. Die Rauigkeiten der Filmkomponenten werden hingegen innerhalb eines Filmes als gleich angenommen und angepasst. Diese unterscheiden sich für die beiden Temperaturen, wie Abbildung 7.5 zu entnehmen ist. Die angepasste Rauigkeit liegt für den Film oberhalb der Phasenübergangstemperatur höher als für den Film unterhalb der Phasenübergangstemperatur. In Folge dessen kann für den Film bei 18,0 °C die Siliziumoxidschicht noch in Form einer linken Schulter bei der substratgebundenen Kopfgruppe erkannt werden. Bei der 26,0 °C-Anpassung hingegen verschimmt im SLD-Profil der Hinweis auf die Siliziumoxidschicht durch das Verschmelzen der linken Schulter mit der substratgebundenen Kopfgruppe. Der zweite und noch gravierendere Unterschied liegt in den sich stark unterscheidenden Lochanteilen.

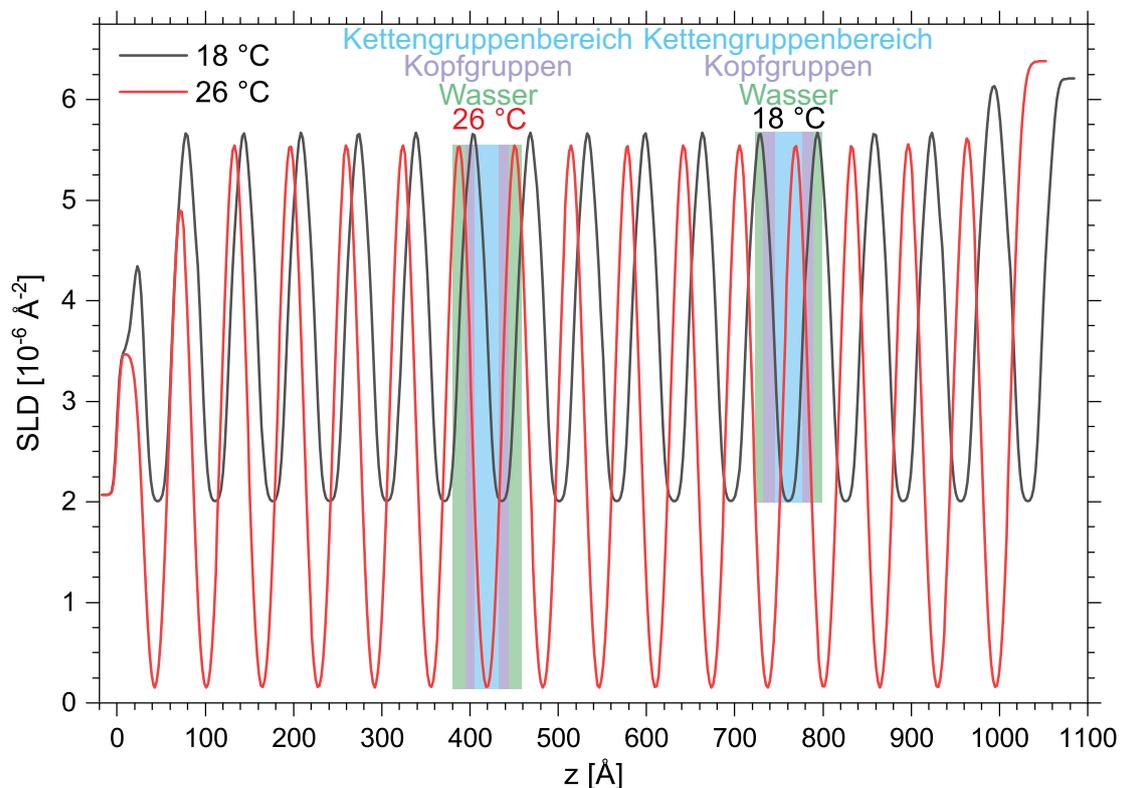


Abbildung 7.5. Abgebildet sind die erhaltenen SLD-Profile der Anpassungen der NR-Daten für DMPC-Oligolipidbilagensysteme in schwerem Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C - dargestellt in Abbildung 7.4 - mit den Werten aus Tabelle 7.2. Im Bereich $z < 0$ Å liegt der Siliziumkristall und bei $z = 0$ Å beginnt die Siliziumoxidschicht, wobei der Übergang aufgrund einer angenommenen Rauigkeit von 3 Å nicht scharf ist. Die angepasste Rauigkeit ist bei 18 °C geringer als bei 26 °C, was sich gut an der linken Schulter in der Nähe der ersten Kopfgruppe erkennen lässt. Das erste Maximum hebt sich dahingehend von den weiteren Maxima ab, dass es das einzige Maximum ist, welches auf den Kopfgruppenbereich zurückzuführen ist, da angenommen wird, dass auf das Substrat direkt eine Kopfgruppe und danach ein Kettengruppenbereich folgt. Alle weiteren Maxima sind - wie eingezeichnet - auf die Wasserschichten zurückzuführen. Der hohe Kontrast bei 26 °C ist Folge des geringen Lochanteils.

Die Minima im SLD-Profil liegen für den 26,0 °C-Film deutlich tiefer, als das bei dem

18,0 °C-Film der Fall ist. Diese Diskrepanz ist auf den unterschiedlichen Wassergehalt zurückzuführen, da Wasser die in der Abbildung 5.2 auftretenden Löcher füllt und daher die durchschnittliche SLD im Kettengruppenbereich bei 18 °C vergleichsweise hoch ist. Durch die Erhöhung der Temperatur auf Werte oberhalb der Phasenübergangstemperatur verschwinden die tiefen Löcher, wie der AFM-Aufnahme in Abbildung 7.3 entnommen werden kann. Das deckt sich mit den angepassten Wasseranteilen des Films bei 26,0 °C und der damit einhergehenden niedrigeren SLD des Kettengruppenbereichs gemäß Abbildung 7.5.

Das zweite lokale Maximum im Bereich der Wasserzwichenschicht 1 ist für den Film oberhalb der Phasenübergangstemperatur etwas niedriger als die darauffolgenden Maxima, was bei dem Film unterhalb der Phasenübergangstemperatur nicht der Fall ist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass bei der 18,0 °C-Anpassung die Wasserzwichenschicht 1 nur minimal kleiner ist als die Wasserzwichenschicht 2, wohingegen bei der 26,0 °C-Anpassung die Wasserzwichenschicht 1 deutlich kleiner ist als die Wasserzwichenschicht 2. Die lokalen Maxima der Wasserzwichenschichten der Wiederholeinheit sind in beiden Fällen ähnlich groß, da bei dem 18,0 °C-Film nicht nur die Rauigkeit, sondern auch die Wasserzwichenschichten kleiner sind, sodass im SLD-Profil im Bereich der Wasserzwichenschichten ein vergleichbarer Maximalwert erreicht wird.

Im SLD-Profil der 18,0 °C-Messung fällt zudem in Abbildung 7.5 auf, dass das Maximum der äußersten Wasserzwichenschicht eine deutlich höhere SLD aufweist als die vorhergehenden Maxima. Dies ist darauf zurückzuführen, dass bei dieser Anpassung die Wasserzwichenschicht 3 deutlich größer ist als die Wasserzwichenschicht 2, wohingegen die Rauigkeit an allen Grenzflächen als gleich groß angenommen wird. Das Zusammenspiel zwischen der Rauigkeit, der Komponentenlänge und der resultierenden SLD wird in Kapitel 2.1.6 thematisiert und in Abbildung 2.5 visualisiert.

Alles in allem ist hinsichtlich Abbildung 7.5 festzuhalten, dass die größere SLD-Differenz zwischen der Wasserzwichenschicht und dem Kettengruppenbereich bei 26,0 °C zu einer höheren Intensität des Bragg-Peaks in Abbildung 7.4 führt. Anhand der XRR- und NR-Ergebnisse kann die Dicke der Wiederholeinheit in Abhängigkeit von der Temperatur dargestellt werden, wie in Abbildung 7.6 zu sehen. Dabei ist - trotz überschaubarer Statistik - zu erkennen, dass mit zunehmender Temperatur die Dicke der Wiederholeinheit abnimmt.

Abschließend ist festzuhalten, dass durch die Temperaturerhöhung oberhalb der Phasenübergangstemperatur aufgrund der Strukturänderung der Lipide ein deutlich höherer Kontrast und somit eine höhere Reflektivität im Bereich des Bragg-Peaks erhalten wurde, obgleich die Rauigkeit ebenfalls zunahm. Die Dicke der Wiederholeinheit lag bei 26,0 °C unter den für 18,0 °C bestimmten Werten, sodass der Trend, welcher bei den XRR-Messungen in Abschnitt 7.4 zu erkennen war, bestätigt wird. Die Bilagenab-

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

stände zueinander sind dabei nicht groß genug, als dass erwartet wird, NP auf einer kurzen Zeitskala einlagern zu können. Da die bei der Messzeit verfügbaren AuNP zudem einen relativ großen Durchmesser von 500 Å besaßen, war die Dicke der Wasserzweischichten eine Größenordnung kleiner, sodass mit keiner Einlagerung von NP in die Bilagen gerechnet und stattdessen andere Interaktionen erwartet wurden.

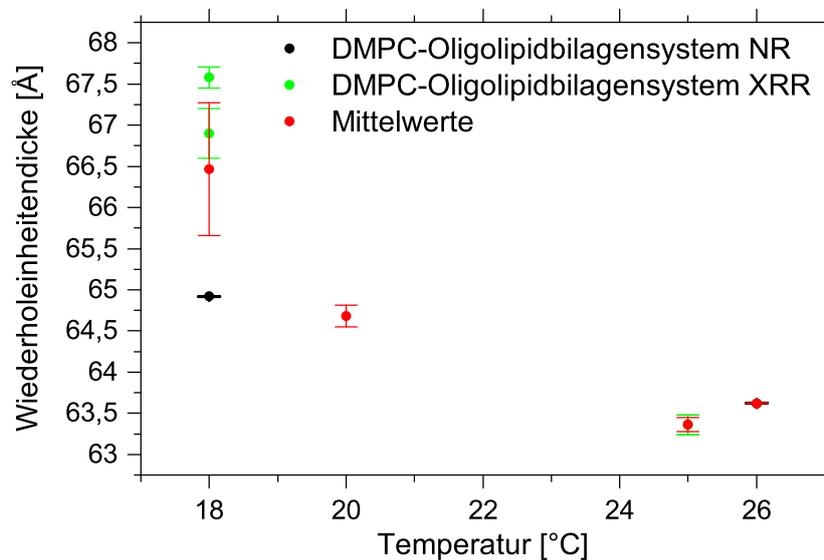


Abbildung 7.6. Dargestellt sind die Dicken der Wiederholeinheiten der DMPC-Oligolipidbilagensysteme bei Temperaturen zwischen 18,0 °C und 26,0 °C.

7.5.2 Temperaturabhängige Interaktion mit großen AuNP

Den beiden in Kapitel 7.5.1 charakterisierten DMPC-Systemen wurden bei 18,0 °C und 26,0 °C AuNP zugegeben und die Systeme wurden weiterhin mithilfe von NR-Messungen charakterisiert. Das Maximum der Größenverteilung der AuNP lag bei einem Durchmesser von 500 Å mit einem PDI von 0,394 und die AuNP besaßen ein ζ -Potential von $(65,1 \pm 17,2)$ mV. Aufgrund des hohen positiven ζ -Potentials der AuNP wird angesichts der von Anton-Paar durchgeführten Strömungspotentialmessungen, bei denen für die Oligolipidbilagensysteme im relevanten pH-Bereich stark negative ζ -Potentiale erhalten wurden, eine Interaktion der AuNP mit den Lipiden im aktuellen Unterkapitel 7.5.2 erwartet.

Bisher wurden Gleichgewichtsmessungen betrachtet, bei denen eine Messung, die länger als eine Stunde ging, durch eine weitere Messung bestätigt wurde. Hingegen werden im Folgenden, anschließend an die Langzeitmessungen in Wasser, direkt nach der AuNP-Zugabe ins Reservoir Kinetikmessungen durchgeführt. Hierbei wurde ein $|\vec{q}|$ -Bereich von $0,02 \text{ \AA}^{-1}$ bis $0,13 \text{ \AA}^{-1}$ gewählt, sodass neben dem ersten Bragg-Peak im ungequollenen Zustand auch das etwaige Wandern des Bragg-Peaks zu kleineren $|\vec{q}|$ -Werten erkennbar sein würde.

Die gezeigten Kinetikmessungen entstanden alle im Juni 2021 unter der Betreuung

von Philipp Gutfreund am Aufbau FIGARO des ILLs. Dabei wurden simultan NR-, SE- und IR-Messungen durchgeführt.^[71] Um die Kinetik mithilfe von NR-Messungen bei der Interaktion aufzulösen, wurden im Bereich von $0,02 \text{ \AA}^{-1}$ bis $0,13 \text{ \AA}^{-1}$ fortwährend aneinander anschließende einminütige Messungen durchgeführt. Die Anzahl an Counts in Abhängigkeit von $|\vec{q}|$ und der Zeit t ist für das $18,0 \text{ °C}$ -System in Abbildung 7.7 dargestellt, wohingegen sie für das $26,0 \text{ °C}$ -System Abbildung 7.9 zu entnehmen ist.

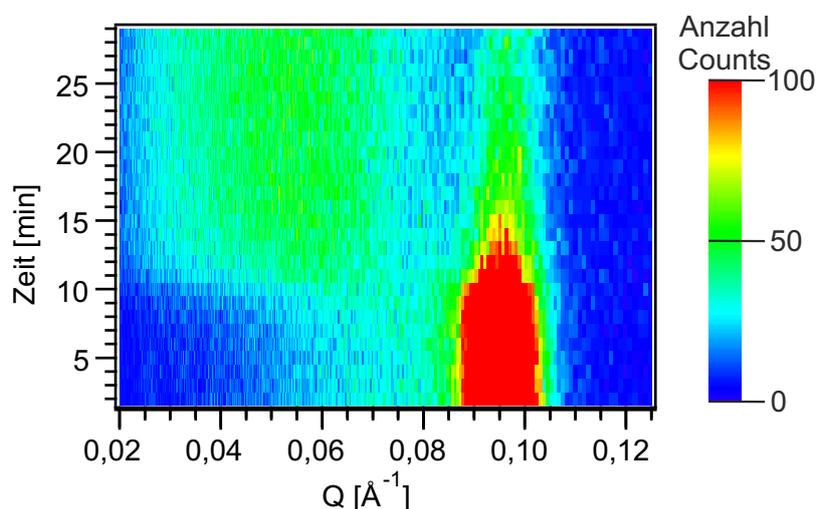


Abbildung 7.7. Dargestellt ist die Intensität im Bereich des ersten Bragg-Peaks von DMPC in schwerem Wasser bei $18,0 \text{ °C}$ nach der Zugabe von 500 \AA großen AuNP gemessen durch NR-Messungen. Anstelle einer Darstellung des gesamten Zeitbereichs wurde die Zeitskala auf denselben Bereich wie die $26,0 \text{ °C}$ -Messung zugeschnitten, um eine bessere Vergleichbarkeit zu ermöglichen.

In Abbildung 7.8 ist zusätzlich die zeitliche Entwicklung des Bragg-Peaks der $18,0 \text{ °C}$ -Messung nach NP-Zugabe in RQ^4 -Darstellung visualisiert.

Wie aus einem Vergleich der beiden Abbildungen 7.7 und 7.9 hervorgeht, verschiebt sich die Lage des Bragg-Peaks nicht in einer erkennbaren Weise, wobei die Intensität innerhalb weniger Minuten abnimmt. Die Intensitätsabnahme erfolgt bei $26,0 \text{ °C}$ schneller, als das bei $18,0 \text{ °C}$ der Fall ist. Die beiden aus DMPC bestehenden Oligolipidbilagensysteme sind somit sowohl oberhalb als auch unterhalb der Phasenübergangstemperatur nicht stabil, wenn sie den großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ ausgesetzt werden. Die Quantifizierung der Abtragung der Bilagen sollte sich erwartungsgemäß mithilfe der Kiessig-Oszillationen durchführen lassen. Diese sind für den Fall der $18,0 \text{ °C}$ -Messung nur für die ersten acht Messungen auswertbar, weil sie ab der neunten Messung zu schwach ausgeprägt sind, als dass sie zur Gesamtschichtdickenbestimmung herangezogen werden könnten. Exemplarisch sind im Anhang in Abbildung E.6 die erhaltenen Reflexionsprofile der dritten und zwölften Messung einander gegenübergestellt. Für den Fall der $26,0 \text{ °C}$ -Messung ist nur bei der ersten einminütigen Kinetikmessung die Auswertung der Kiessig-Oszillationen möglich. Eine Quantifizierung der Bilagenabtragung mit der üblichen Methodik ist daher

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

nicht durchführbar.

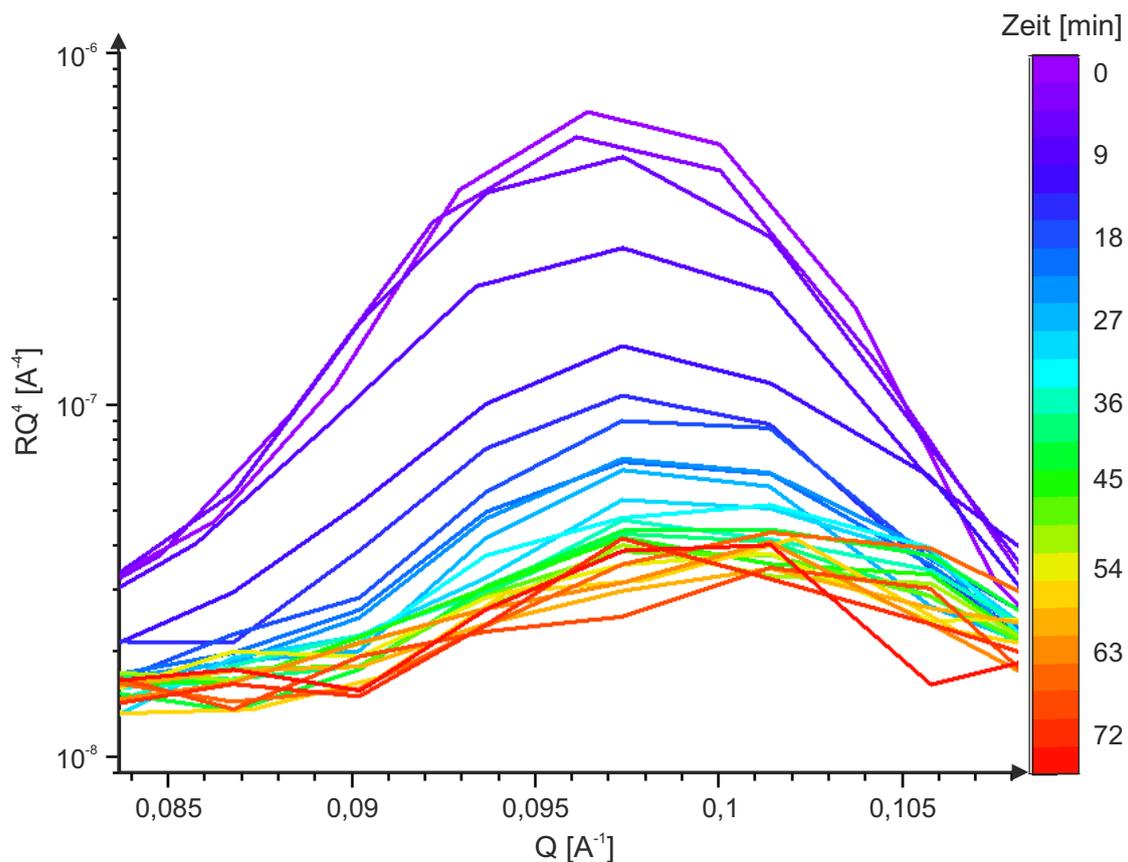


Abbildung 7.8. Exemplarisch ist RQ^4 gegen Q im unmittelbaren Bereich des ersten Bragg-Peaks von DMPC in schwerem Wasser bei 18,0 °C nach der Zugabe von 500 Å großen AuNP gezeigt. Hierbei sind auch die schwachen Änderungen in den NR-Messungen nach über 30 Minuten nach der Zugabe zu erkennen. Es werden nur Messungen im drei-Minuten-Rhythmus gezeigt, um auch nach 45-minütiger AuNP-Exposition die Daten erkennbar darstellen zu können. Im Vergleich zu Abbildung 7.7 ist zudem ein deutlich kleinerer Ausschnitt in Q gewählt.

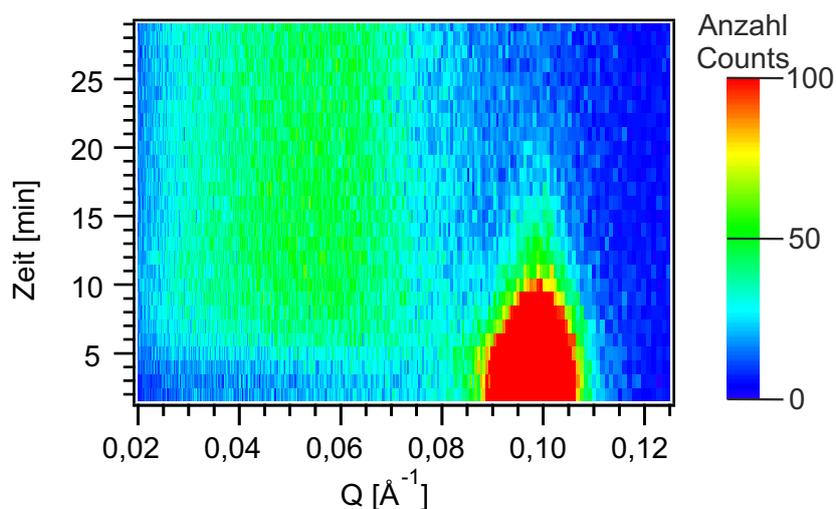


Abbildung 7.9. Dargestellt ist die Intensität im Bereich des ersten Bragg-Peaks von DMPC in schwerem Wasser bei 26,0 °C nach der Zugabe von 500 Å großen AuNP gemessen durch NR-Messungen. Anhand dieser Darstellung können alle aufgenommenen Messungen und der gesamte Q -Bereich visualisiert werden. Die Abnahme der Counts erfolgt im Bereich des Bragg-Peaks deutlich schneller als in Abbildung 7.7.

Mangels Alternativen wird im Folgenden eine Methode vorgeschlagen, wie die Gesamtschichtdicke mithilfe der Intensität im Bereich des Bragg-Peaks ermittelt werden kann. Grundvoraussetzung hierfür ist eine treffende Anpassung der NR-Daten wie sie im Falle der beiden Filme in Abschnitt 7.5.1 in Abbildung 7.4 vorgenommen wurde. Bei der vorgeschlagenen Alternative ist die Grundannahme, dass zwar stets die äußerste Bilage das System verlässt, aber instantan die Lage darunter auf den ehemaligen Abstand der äußersten Bilage nachrückt. So kann für jede Bilagenanzahl die erwartete Reflektivität modelliert werden. Anschließend kann ausgehend von diesem Modellsystem die Anzahl an Bilagen variiert und die dadurch resultierende Reflektivität simuliert werden. Dabei wird davon ausgegangen, dass bei dem Bilagenverlust zunächst die Bilagenanzahl der Wiederholeinheit abnimmt. Anschließend verschwindet die äußerste Bilage und zuletzt die substratgebundene Bilage.

Ziel dieses Vorgehens ist es, dass anschließend von der gemessenen Reflektivität über die modellierte Reflektivität auf die Bilagenanzahl geschlossen werden kann. Es wird daher die Bilagenanzahl gegen die gemessene Reflektivität aufgetragen. Die erhaltenen Daten konnten in guter Übereinstimmung durch die in Gleichung 7.1 beschriebene Funktion mit den dimensionslosen Parametern N_0 , A_{1-4} und b_{1-3} interpoliert werden.

$$N(R) = N_0 + A_1 \cdot \exp\left(-\frac{R}{b_1}\right) + A_2 \cdot \exp\left(-\frac{R}{b_2}\right) + A_3 \cdot \exp\left(-\frac{R}{b_3}\right) \quad (7.1)$$

Die entsprechende Modellierung ist in Abbildung 7.10 dargestellt.

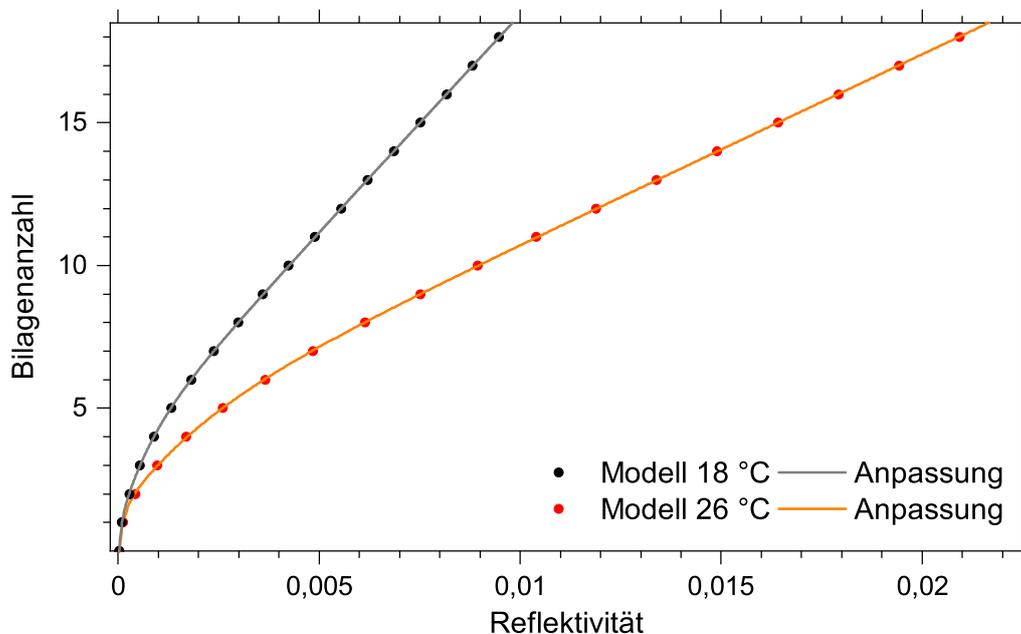


Abbildung 7.10. Dargestellt ist die Bilagenanzahl N in Abhängigkeit von der gemessenen Reflektivität R im Bereich des Bragg-Peaks ausgehend von den in Tabelle 7.2 dargestellten Modellsystemen. Wie in Abschnitt 7.5.1 diskutiert, ist die Reflektivität bei 26,0 °C bei gleicher Bilagenanzahl N höher.

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

Für die Verwendung der Funktion spricht die gute Übereinstimmung zwischen den experimentellen Daten und der Interpolation, nicht jedoch ein zugrunde liegendes physikalisches Modell. Die für Abbildung 7.10 verwendeten Parameter sind in Tabelle 7.3 aufgelistet.

Tabelle 7.3. Parameter der Anpassungen der Bilagenanzahl in Abhängigkeit von der Neutronenreflektivität des DMPC-Oligolipidbilagensystems bei 18,0 °C und 26,0 °C.

Temperatur	18,0 °C	26,0 °C
N_0	$466,2 \pm 345,7$	$4.289,4 \pm 22.304,2$
A_1	$-1,424 \pm 0,073$	$-2,760 \pm 0,065$
b_1	$(5,52 \pm 0,71) \cdot 10^{-5}$	$(2,05 \pm 0,10) \cdot 10^{-3}$
A_2	$-2,613 \pm 0,067$	$-4285,3 \pm 22.304,2$
b_2	$(7,33 \pm 0,46) \cdot 10^{-4}$	$6,41 \pm 33,45$
A_3	$-462,8 \pm 345,7$	$-1,615 \pm 0,053$
b_3	$0,296 \pm 0,226$	$(1,19 \pm 0,09) \cdot 10^{-4}$
χ^2	$5,1 \cdot 10^{-4}$	$5,5 \cdot 10^{-4}$

Wie Tabelle 7.3 zu entnehmen ist, sind die Fehler der abgeleiteten Parameter für die in Gleichung 7.1 beschriebene Funktion teilweise sehr groß. Das ist auf den begrenzten Bereich der Messpunkte und die überschaubare Anzahl an Messpunkten zurückzuführen. Für die Überführung der gemessenen Reflektivitäten in eine Bilagenanzahl und somit in eine Gesamtschichtdicke sind die ermittelten Fehler völlig irrelevant, da die erhaltenen χ^2 -Werte für die Anpassung der Messdaten in Tabelle 7.3 entsprechend klein und die Anpassungen in Abbildung 7.10 gut sind.

Mithilfe der in Abbildung 7.10 dargestellten Anpassungen können die gemessenen Reflektivitäten der einminütigen Kinetikmessungen in eine Bilagenanzahl N und somit in die zugehörige Gesamtschichtdicke überführt werden, wie dies in den Abbildungen 7.11 und 7.12 zu sehen ist. Wie den Abbildungen 7.11 und 7.12 zu entnehmen ist, sind die Gesamtschichtdicken, welche mittels Kiessig-Oszillationen zu Beginn der Messung noch bestimmt werden konnten, sehr ähnlich zu den Gesamtschichtdicken, die auf dem beschriebenen Wege aus der Reflektivität abgeleitet wurden. Für den überprüfbareren Bereich ist die Methode daher legitimiert.

Mittels gleichzeitig stattfindender SE-Messungen kann die Gesamtschichtdicke simultan bestimmt werden. Die SE-Daten wurden mithilfe eines Cauchy-Modells für das Oligolipidbilagensystem in schwerem Wasser angepasst. Dabei wurden die Brechungsindexwerte für schweres Wasser der Literatur entnommen.^[142]

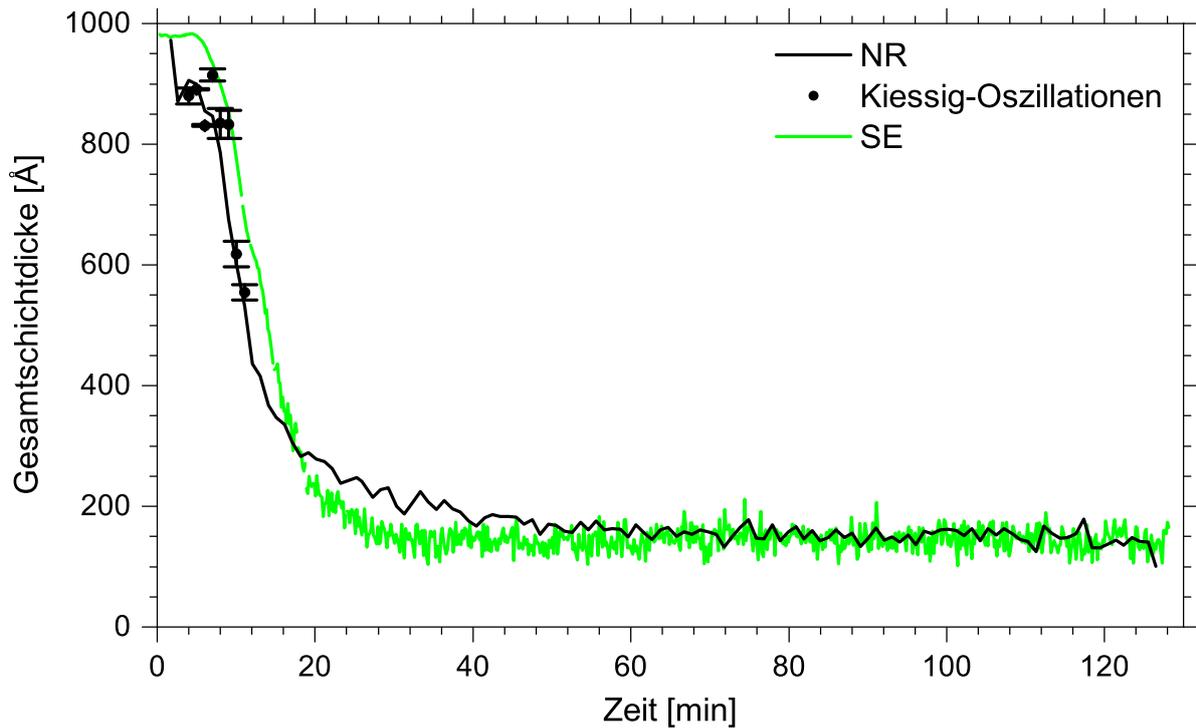


Abbildung 7.11. Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der Gesamtschichtdicke des DMPC-Oligolipidbilagensystems nach Zugabe der 500 Å großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei 18,0 °C. Während die Dauer einer NR-Messungen 60 s betrug, lag die Länge einer SE-Messung bei 10 s.

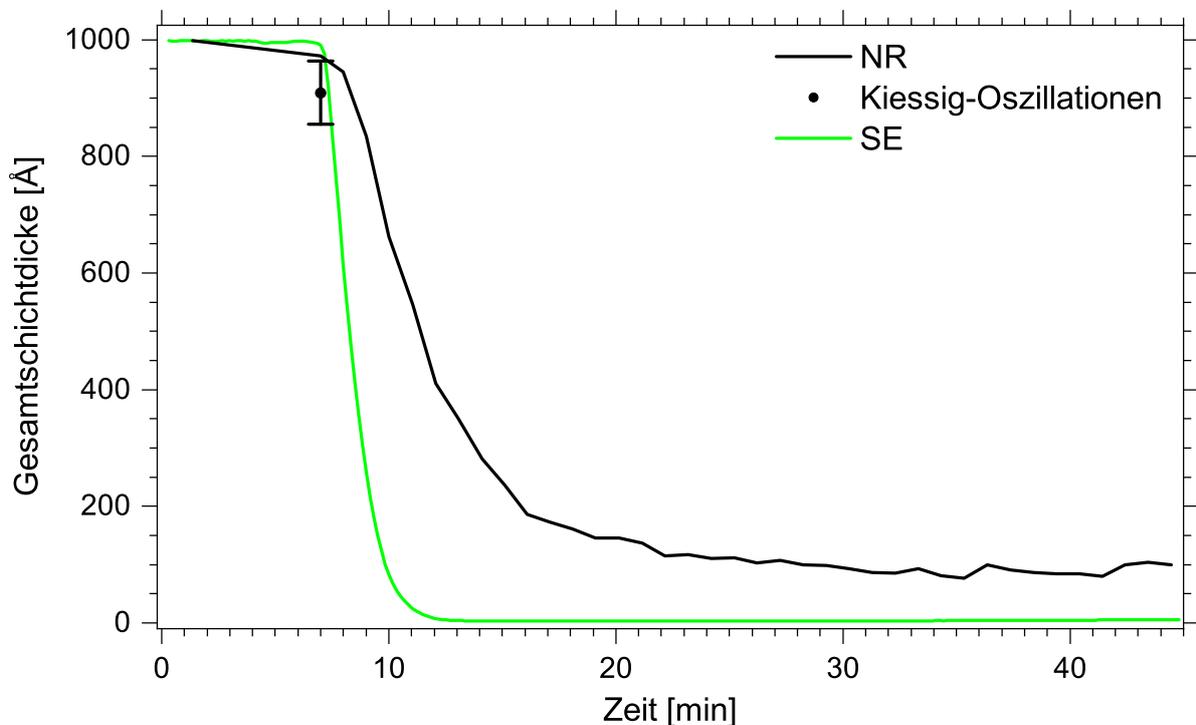


Abbildung 7.12. Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der Gesamtschichtdicke des DMPC-Oligolipidbilagensystems nach Zugabe der 500 Å großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei 26,0 °C.

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

Mithilfe der in Tabelle 7.2 gelisteten Werte für die Gesamtschichtdicke wurden aus den SE-Messungen vor der NP-Zugabe die Cauchy-Parameter A und B gemäß Gleichung 2.23 abgeleitet. Die Anpassung der SE-Daten bei 18,0 °C vor der AuNP-Zugabe sind exemplarisch in Abbildung E.7 im Anhang in Kapitel E dargestellt. Die abgeleiteten Parameter der 18,0 °C und 26,0 °C-Messung sind in Tabelle 7.4 aufgeführt.

Tabelle 7.4. Cauchy-Parameter der SE-Anpassungen der DMPC-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.

Temperatur	A	B [$10^{-3} \mu\text{m}^2$]
18,0 °C	$1,451 \pm 0,000$	$2,11 \pm 0,09$
26,0 °C	$1,432 \pm 0,001$	$1,77 \pm 0,21$

Zur Schichtdickenbestimmung nach der NP-Zugabe wird davon ausgegangen, dass die in Tabelle 7.4 gelisteten Cauchy-Parameter noch immer Gültigkeit besitzen und sich lediglich die Gesamtschichtdicke ändert. Die Parameter Ψ und Δ sowie die zugehörigen Anpassungen sind für den Fall von 18,0 °C exemplarisch in den Abbildungen E.8 und E.9 im Anhang dargestellt, während die Fehler $\Delta\Psi$ und $\Delta\Delta$ in Abhängigkeit von der Wellenlänge Abbildung E.10 zu entnehmen sind. Die aus den SE- und NR-Messungen abgeleiteten Gesamtschichtdicken in Abhängigkeit von der Zeit sind für das System bei 18,0 °C in Abbildung 7.11 und für das Pendant bei 26,0 °C in Abbildung 7.12 dargestellt.

Aus den Abbildungen 7.11 und 7.12 lassen sich die Zeiten bestimmen, nach welchen die Gesamtschichtdicken auf die Hälfte abgefallen sind. Die Resultate sind in Tabelle 7.5 dargestellt. Zudem sind auch die mithilfe von IR-Messungen ermittelten Zeiten aufgeführt. Diese wurden simultan von Christian Busch durchgeführt.^[71]

Tabelle 7.5. Halbwertszeiten $t_{1/2}$ von DMPC-Oligolipidbilagen bei AuNP-Interaktion, die durch NR-, SE und IR-Messungen ermittelt wurden. Die Messungen erfolgten in schwerem Wasser bei 18,0 °C und 26,0 °C.

Temperatur	$t_{1/2}$ (NR)[min]	$t_{1/2}$ (SE)[min]	$t_{1/2}$ (IR)[min]
18,0 °C	8,3	9,2	8,9
26,0 °C	4,2	1,7	4,8

Wie ein Vergleich der Abbildungen 7.11 und 7.12 miteinander und ein Blick auf Tabelle 7.5 verrät, ist die Übereinstimmung insgesamt sehr gut. Jedoch weicht das Resultat der SE-Messung bei 26,0 °C deutlich von denen der NR- und IR-Messungen ab. Bei den Anpassungen der SE-Messungen wird angenommen, dass die Cauchy-Parameter, die vor der AuNP-Zugabe bestimmt wurden, zeitlich konstant sind. Diese Annahme steht im Einklang mit den Annahmen, die zur Bestimmung der Gesamtschichtdicke mittels NR-Messungen verwendet werden. Bei allen wird davon ausge-

gangen, dass sich der Zusammenhang zwischen Reflektivität und Bilagendicke vor und nach der AuNP-Zugabe nicht ändert. Es ist daher nicht sinnvoll, im Falle der SE-Anpassungen zeitlich variable Cauchy-Parameter anzunehmen. Es bleibt somit aktuell ein Forschungsgegenstand, weshalb bei 26,0 °C solch eine Abweichung auftritt.

Unabhängig von der Messmethode bleiben die Oligolipidbilagensysteme bestehend aus DMPC nicht stabil, wenn sie großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ ausgesetzt sind. Die erhaltenen Ergebnisse der Messmethoden stimmen zudem darin überein, dass die DMPC-Systeme oberhalb der Phasenübergangstemperatur schneller das Substrat verlassen, als das unterhalb der Phasenübergangstemperatur der Fall ist. Da die Systeme oberhalb der Phasenübergangstemperatur einen bedeutend geringeren Wasser- bzw. Lochanteil aufweisen, können die AuNP besser in das System unterhalb der Phasenübergangstemperatur eindringen. Dennoch bleiben die Systeme unterhalb der Phasenübergangstemperatur länger stabil.

Verglichen mit dem negativ geladenen System mit 30 % Chol, das in Abschnitt 6.6.2 auch nach über 20-stündiger AuNP-Exposition nicht in einem Gleichgewichtszustand vorlag, ist die kurze Zeit von wenigen Minuten, in welcher die Oligolipidbilagen abgetragen werden, bemerkenswert. Wie bereits in Kapitel 6.6.1 angesprochen, interagieren schwach geladene Filme mit 30 % Chol nur schwach in Wasser mit AuNP. Es stellt sich daher die Frage, ob die Stabilität eines zwitterionischen DMPC-Films mit 30 % Chol bei diesen großen AuNP, welche die DMPC-Oligolipidbilagensysteme nach einigen Minuten abgetragen haben, auch die Filme mit einem Chol-Anteil von 30 % abtragen und wie sich die Erhöhung der Temperatur auf dieses System auswirkt. In Abbildung 7.13 ist die Reflektivität im Bereich des ersten Bragg-Peaks nach Zugabe der 500 Å großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei 20,0 °C dargestellt.

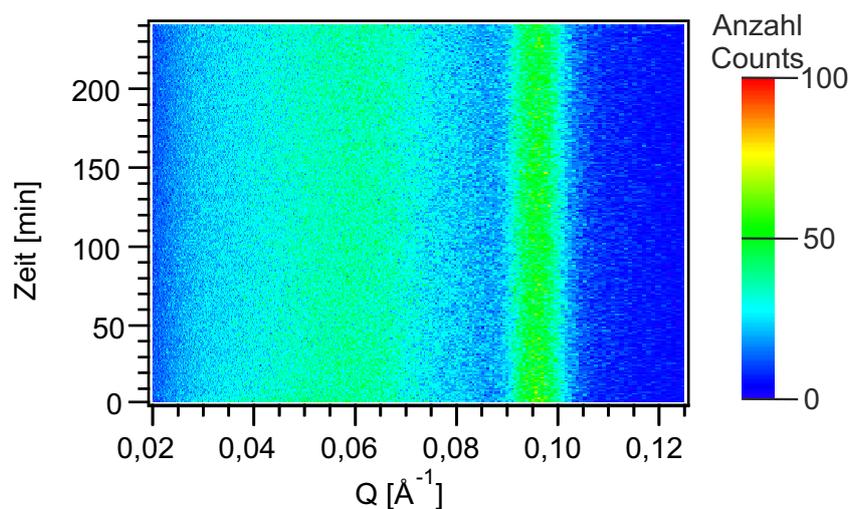


Abbildung 7.13. Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der Gesamtschichtdicke nach Zugabe der 500 Å großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei 20,0 °C zu einem 70 % DMPC 30 % Chol-System. In dieser Darstellung können alle Messungen visualisiert werden, während das Übereinanderlegen von über 200 Bragg-Peaks keine Übersichtlichkeit ermöglicht.

7. Auswirkungen der Temperaturvariation

Wie Abbildung 7.13 entnommen werden kann, bleibt das System durch die Zugabe von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ innerhalb von vier Stunden völlig unverändert. Das System ist stabil und eine Darstellung der Kinetik obsolet. In Kapitel 7.3.2 wurde nachgewiesen, dass die Systeme mit 30 % Chol auch bei Temperaturerhöhungen stabil sind und in Kapitel 7.1.2 festgestellt, dass durch die Erhöhung der Temperatur über die Phasenübergangstemperatur von DMPC strukturell nur eine geringe Änderung einsetzt. Die Stabilität des Systems wurde daher auch bei der in Kapitel 7.1 bestimmten Phasenübergangstemperatur von DMPC bei $24,2 \text{ }^\circ\text{C}$ untersucht. Das Ergebnis der Messung ist in Abbildung 7.14 dargestellt.

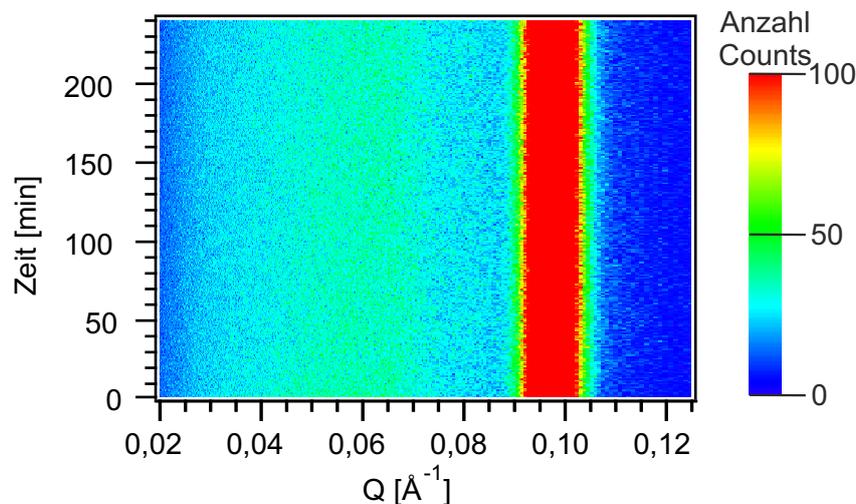


Abbildung 7.14. Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der Gesamtschichtdicke nach Zugabe der 500 \AA großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei $24,2 \text{ }^\circ\text{C}$ zu einem Oligolipidbilagensystem bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol.

Wie ein Vergleich der Abbildungen 7.13 und 7.14 zeigt, lag die Intensität des Bragg-Peaks des bei $24,2 \text{ }^\circ\text{C}$ charakterisierten Systems durchgehend höher, als das für das andere System, das bei $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ mit AuNP in Kontakt kam, der Fall war. Das ist darauf zurückzuführen, dass das System bei $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ nach der Rotationsbeschichtung aus weniger Bilagen aufgebaut war als das System, welches bei $24,2 \text{ }^\circ\text{C}$ charakterisiert wurde. Insbesondere geht aus Abbildung 7.14 hervor, dass das System auch bei $24,2 \text{ }^\circ\text{C}$ in einer Umgebung aus 500 \AA großen AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ stabil ist. Das unterstreicht die stabilisierende Wirkung der lamellaren Schichten durch die Anwesenheit von Chol in den Bilagen.

7.6 Zusammenfassung

Bei Erhöhung der Temperatur nimmt gemäß der Ausführungen in Kapitel 7.3 die Stabilität der DMPC-Oligolipidbilagensysteme stark ab, während durch die Einlagerung von Chol die Temperaturstabilität in sehr hohem Maße verstärkt wird. Durch das Heizen

auf Temperaturen, die oberhalb der Phasenübergangstemperatur liegen, können die Lochanteile innerhalb der Filme drastisch reduziert werden. Dabei stellt sich die Frage, ob trotz der geringeren Lochanteile die Exposition aller Bilagen mit den NP gewährleistet ist.

Bei der Wechselwirkung mit großen AuNP interagieren die DMPC-Oligolipidbilagensysteme oberhalb der Phasenübergangstemperatur dahingehend stärker mit den NP, dass die Abtragung vom Substrat schneller erfolgt. Aufgrund des stark negativen ζ -Potentials der Membranen und des stark positiven ζ -Potentials der AuNP wird davon ausgegangen, dass die Membranen sich - zumindest teilweise - an die positiv funktionalisierten AuNP heften, was die Abtragung erklärt. Die Messmethoden IR, SE und NR liefern dabei - abgesehen von der Messung bei 26,0 °C für SE - in einem zufriedenstellenden Maße übereinstimmende Ergebnisse. Für die NR-Kinetikmessungen wurde dabei in Abschnitt 7.5.2 ein Verfahren präsentiert, wie auch ohne Kiessig-Oszillationen auf die Gesamtschichtdicke des Systems geschlossen werden kann.

Die Quantifizierung der Wiederholeinheitendicke in Abhängigkeit von der Temperatur in Abschnitt 7.5.1 ergab, dass auch durch eine Temperaturvariation die DMPC-Bilagenabstände nicht in starkem Maße beeinflusst werden. Gemäß Abschnitt 6.4.1 ist das auch nicht bei der Einlagerung geladener Lipide der Fall.

Im folgenden Kapitel 8 werden daher Salzlösungen verwendet, um herauszufinden, ob auf diese Weise eine verstärkte elektrostatische Repulsion, verbunden mit deutlich erhöhten Bilagenabständen, erzielt werden kann.

8 Auswirkungen von Salzlösungen

Die Zugabe von Salzen zu den Modellsystemen bietet aus biologischer Sicht den zentralen Vorteil, dass sich durch die Anwesenheit von Ionen in Lösung die Modelle weiter dem natürlichen Organismus annähern. Die in der Natur auftretenden Ionenstärken, denen Zellmembranen von Organismen ausgesetzt sind, variieren dabei von sehr geringen Ionenstärken im Regenwasser über steigende Ionenstärken in Bächen sowie Flüssen bis hin zu sehr hohen Ionenstärken wie sie beispielsweise in Seen oder dem Meer vorliegen. Auch in Eukaryoten spielt die Variation der Ionenstärke nicht nur beim Kontakt mit Süß- oder Salzwasser eine wichtige Rolle. Durch defekte Ionenkanäle in Membranen können auch deutlich geringere Ionenstärken auftreten als im Normalfall üblich, die somit auch von Relevanz für die Forschung sind.^[143]

In Kapitel 8 stellt sich die Frage, in welcher Form Salze von biologischer Relevanz die Struktur von Oligolipidbilagensystemen und dabei insbesondere auch die Bilagenabstände in Abhängigkeit der Ionenstärke beeinflussen. Zudem wird untersucht, in welcher Form die Anwesenheit von Salzen die Lipid-NP-Interaktion beeinflusst.

In Unterkapitel 8.1 wird zunächst betrachtet, inwieweit sich die Phasenübergangstemperatur für DMPC-Vesikel in einer 50 mM Magnesiumchloridlösung, was der Ionenstärke im menschlichen Körper entspricht,^{[57, S. 204 f.][144, S. 650 f.][145]} von der Phasenübergangstemperatur in Wasser unterscheidet. In Abschnitt 8.2 wird mithilfe von NR-Messungen untersucht, inwieweit sich die Bilagenabstände von Oligolipidbilagensystemen durch die Zugabe von Salzen verändern und welchen Einfluss die anschließende Zugabe von NP auf die Modellsysteme hat. Im daran anschließenden Unterkapitel 8.3 wird der Umstand genutzt, dass die SLD der Komponenten bei XRR-Messungen grundlegend anders sind als bei NR-Messungen und es daher naheliegend ist, weitere Erkenntnisse über das System aufgrund der unterschiedlichen Kontrastverhältnisse zu erforschen. Im abschließenden Unterkapitel 8.4 werden die Ergebnisse zusammengefasst und eingeordnet.

8.1 DSC-Messungen

Das Modellsystem wird dahingehend variiert, dass genau die Menge an Magnesiumchlorid zugegeben wird, durch welche die Ionenstärke der Lösung der Ionenstärke des menschlichen Blutes entspricht.^{[57, S. 204 f.][144, S. 650 f.][145]} Mithilfe einer weiteren DSC-Messung lässt sich untersuchen, inwieweit dadurch die Phasenübergangstemperatur des Systems geändert wird und in welcher Form sich die Schmelzenthalpie ändert. Da in diesem Kapitel die Temperaturvariation keine Rolle spielt, wird die Beeinflussung der Phasenübergangstemperatur primär genutzt, um dadurch Rückschlüsse auf die Wechselwirkung zwischen den Lipiden und den Salzen zu ziehen. Die erhaltenen Messwerte

für die Bestimmung der Phasenübergangstemperatur in 50 mM Magnesiumchloridlösung sind in Abbildung 8.1 dargestellt. Die bestimmte Hauptphasenübergangstemperatur beträgt dabei $(24,57 \pm 0,16)$ °C und die Schmelzenthalpie $(21,0 \pm 0,5)$ $\frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$.

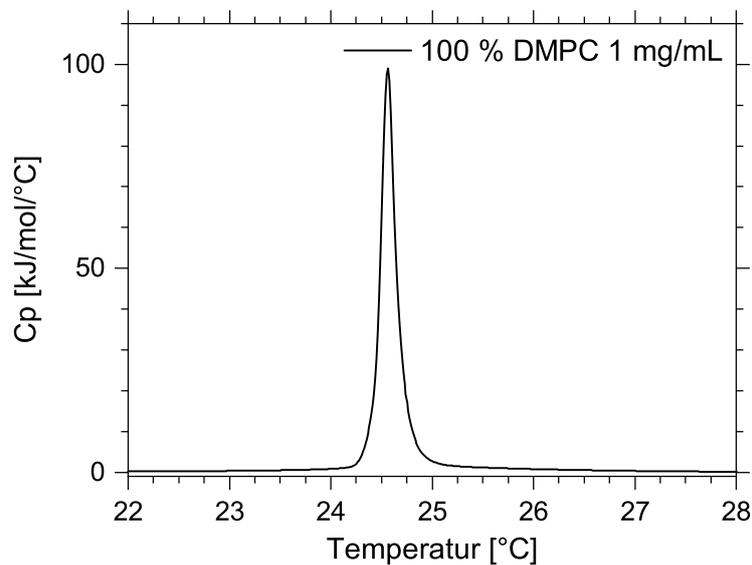


Abbildung 8.1. Bestimmte spezifische Wärmekapazität C_p einer DMPC-Vesikellösung in 50 mM Magnesiumchloridlösung mit der Konzentration $c_m = 1$ mg/mL.

Verglichen mit den Werten in Wasser in Kapitel 7.1.1 bzw. mit Abbildung 7.1 nimmt die Phasenübergangstemperatur um $(0,34 \pm 0,23)$ °C zu und die Schmelzenthalpie um $(1,0 \pm 0,7)$ $\frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$ ab.

Die Veränderungen liegen jeweils im 2σ -Bereich und sind somit nicht statistisch signifikant. Um statistisch signifikante Änderungen zu erhalten, wäre es möglich, mit deutlich höheren Salzkonzentration zu arbeiten, wodurch jedoch die biologische Relevanz verloren ginge. Ein Vergleich mit der Literatur zeigt ebenfalls, dass bei vergleichbaren Lösungen eine etwas höhere Salzkonzentration zu einer Erhöhung der Phasenübergangstemperatur führt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich die Salze besser an DMPC anlagern können, welches sich in der in Abbildung 4.3 skizzierten P β' -Phase befindet, als das in der Fall ist, wenn DMPC oberhalb der Phasenübergangstemperatur in der L α -Phase vorliegt. Diese Literaturwerte zeigen, dass die Zugabe von Kalziumchlorid bereits ab einer Konzentration von 200 mM eine Erhöhung der Phasenübergangstemperatur um $(2,02 \pm 0,07)$ °C zur Folge hat, wobei Natriumchlorid in derselben Konzentration mit einer Änderung der Phasenübergangstemperatur von $(0,00 \pm 0,01)$ °C zu praktisch keiner Veränderung führt. Erst ab einer Konzentration von 500 mM steigt die Phasenübergangstemperatur um $(0,09 \pm 0,01)$ °C leicht an.^{[83][140]}

Die gemessene Zunahme der Phasenübergangstemperatur durch die Anwesenheit von Magnesiumchlorid ist somit gemäß eines Vergleichs mit der Literatur stärker als durch Natriumchlorid, aber schwächer als durch Kalziumchlorid. Dies deckt sich mit den DSC-, QCMD- und Molekulardynamik-Simulation (engl.: molecular dynamics si-

8. Auswirkungen von Salzlösungen

mulation) (MD)-Ergebnissen von Le *et al.*, die zeigen, dass sich Kalzium- und Magnesiumionen permanent in die Membranen einlagern und daher die Phasenübergangstemperatur stärker erhöhen, als das bei Natriumchlorid der Fall ist.^[146] Es ist somit davon auszugehen, dass durch die Wahl von Kalziumchlorid als Salz das Modellsystem am stärksten beeinflusst wird und mit Magnesiumchlorid die Beeinflussung auch noch vergleichsweise hoch ist, wohingegen mit Natriumchlorid das System nur sehr schwach beeinflusst wird.

Die Abnahme der Schmelzenthalpie durch die Erhöhung der Salzkonzentration von 0 auf 50 mM deckt sich damit qualitativ mit den Resultaten von Sturtevant, der sowohl bei Wasser, 200 mM Natriumchloridlösung als auch 200 mM Kalziumchloridlösung jeweils die Schmelzenthalpie bestimmte und denselben Effekt für beide Salzlösungen beobachtete,^[140] wobei in dieser Arbeit hingegen primär Magnesiumchlorid als Salz verwendet wird.

Da sich gemäß Sturtevant die Phasenübergangstemperatur von DMPC in einer 200 mM Natriumchloridlösung nicht von der in Wasser unterscheidet,^[140] müssen die Kalziumionen in die DMPC-Membranen eingelagert werden. Wären es die Chloridionen, müsste sich auch in einer Natriumchloridlösung die Phasenübergangstemperatur und Schmelzenthalpie stärker ändern. Obgleich die Ergebnisse nicht statistisch signifikant sind, deutet der Trend daraufhin, dass auch Magnesiumionen in die DMPC-Bilagen eingelagert werden. Aufgrund der Hydrophilie der Kopfgruppen und der Ionen erfolgt die Einlagerung dabei im Kopfgruppenbereich, wie Szczes für Kalziumionen und ein DPPC-Chol-System^[147] und Kohli *et al.* allgemein für Lipide und Kalziumionen bestätigen.^[148] Zusammenfassend ist festzuhalten, dass durch die Zugabe von Magnesiumchlorid die Phasenübergangstemperatur leicht angehoben und die Schmelzenthalpie schwach abgesenkt wird. Da die Änderung der Phasenübergangstemperatur auf eine selektive Einlagerung von bivalenten Kationen zurückgeführt wird, ist im nächsten Schritt in Unterkapitel 8.2 das Ziel, die Auswirkungen auf die Wiederholeinheitsdicken zu quantifizieren, bevor die Interaktionen der Modellsysteme mit NP in Salzlösungen untersucht werden.

8.2 Neutronenreflexionsmessungen in Magnesiumchloridlösung

Die Interaktion zwischen den leicht geladenen, Chol beinhaltenden DMPC-Oligolipidbilagensystemen und AuNP war in Wasser für kleine NP gemäß des Abschnittes 6.6.2 zu langsam, als dass der Gleichgewichtszustand in einem zeitlich überschaubaren Rahmen erreicht worden wäre. Mit großen AuNP kam es hingegen zu einer Abtragung der DMPC-Oligolipidbilagensysteme, wohingegen Filme mit einem Chol-Anteil von 30 % nicht messbar mit den großen NP interagierten. Ziel dieses Unterkapitels ist es, die Beeinflussung der Charakteristika der Systeme durch die Variation der Magnesium-

chloridkonzentration zu ergründen. Eine weitere Fragestellung ist, ob die Zugabe von Salzen größere Bilagenabstände generiert, die günstigere Rahmenbedingungen für die Interaktion der Systeme mit NP schafft.

Im Folgenden wird zunächst in Unterkapitel 8.2.1 auf die Beeinflussung des DMPC-Systems durch die Interaktion mit Magnesiumchloridlösung eingegangen. Anschließend wird in Unterkapitel 8.2.2 der Chol-Gehalt des Systems auf 20 % erhöht und untersucht, welche Änderungen durch die Einlagerung von Chol resultieren. In Abschnitt 8.2.3 wird die Beeinflussung des Systems durch die Einlagerung von geladenen Lipiden in die Bilagen untersucht. Abschließend werden Systeme mit einem Chol-Anteil von 30 % in Unterkapitel 8.2.4 und 50 % in Abschnitt 8.2.5 thematisiert.

Zunächst soll aber in Form einer Überschlagsrechnung abgeschätzt werden, welche Änderungen der Kopfgruppen-SLD durch die etwaige Einlagerung eines Magnesiumions pro Kopfgruppe erwartet wird, um festzustellen, ob die bisher angenommene SLD weiter verwendet werden kann oder eine massive Änderung zu erwarten ist, was eine Anpassung der Kopfgruppen-SLD erforderlich machen würde.

Die SLD eines Magnesiumions beträgt $34,38 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ bei einem Volumen von $1,56 \text{ \AA}^3$. Wird von einer solvatisierten Kopfgruppe mit 8,4 Wassermolekülen pro Kopfgruppe und somit einer SLD von $3,88 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ bei einem Volumen von 589 \AA^3 ausgegangen, ergibt sich bei der Einlagerung eines Ions pro Kopfgruppe die in Gleichung 8.1 aufgeführte zusammengesetzte SLD $\rho_{SL \text{ KG neu}}$ für das Kopfgruppensystem von $3,96 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$.

$$\rho_{SL \text{ KG neu}} = \frac{1,56 \text{ \AA}^3 \cdot 34,38 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2} + 589 \text{ \AA}^3 \cdot 3,88 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}}{1,56 \text{ \AA}^3 + 589 \text{ \AA}^3} \approx 3,96 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2} \quad (8.1)$$

Somit ist die SLD-Änderung selbst bei dem Grenzfall - der Einlagerung eines Ions pro Kopfgruppe - gering. Bei einer solch schwachen Änderung übersteigt - selbst im Fall der maximalen Einlagerung - der Fehler bei der Anpassung die ermittelte Änderung der Kopfgruppen-SLD deutlich. Die Einlagerung der Ionen kann mithilfe von NR-Messungen somit nicht quantifiziert werden. Es wird daher auch in Magnesiumchloridlösung an den Parametern des bisherigen Modells festgehalten und von einer solvatisierten Kopfgruppe mit einer SLD von $3,88 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ ausgegangen.

8.2.1 100 % DMPC

In diesem Abschnitt wird zunächst die zeitliche Änderung eines DMPC-Oligolipidbilagensystems durch Magnesiumchloridzugabe thematisiert. Anschließend wird das System bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen im jeweiligen Gleichgewichtszustand charakterisiert und abschließend die Interaktion mit AuNP untersucht.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Zeitliche Entwicklung des Systems nach Magnesiumchloridzugabe

Um die zeitliche Entwicklung zu visualisieren, wird zunächst die Lage des Bragg-Peaks des DMPC-Oligolipidbilagensystems in Wasser bestimmt. Diese ist Abbildung 8.2 zu entnehmen.

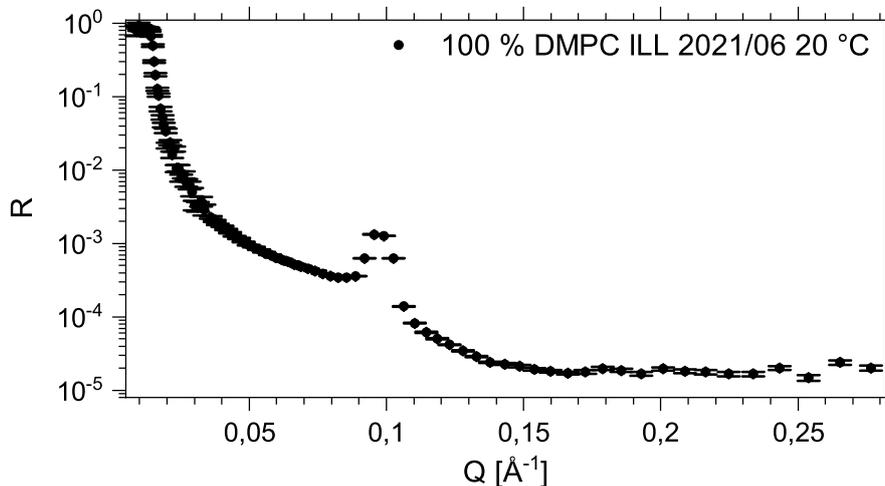


Abbildung 8.2. Dargestellt sind die NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPC vor der Zugabe von Magnesiumchlorid.

Wie anhand der Abbildung 8.2 zu erkennen ist, liegt vor der Magnesiumchloridzugabe der Bragg-Peak des DMPC-Oligolipidbilagensystems - und somit auch der Startwert für die Kinetikmessung - bei etwa $0,10 \text{ \AA}^{-1}$. Die zeitliche Entwicklung der Lage des Bragg-Peaks ausgehend von Wasser hin zu einer Gleichgewichtskonzentration an Magnesiumchlorid von 50 mM mittels NR-Messungen ist in Abbildung 8.3 dargestellt.

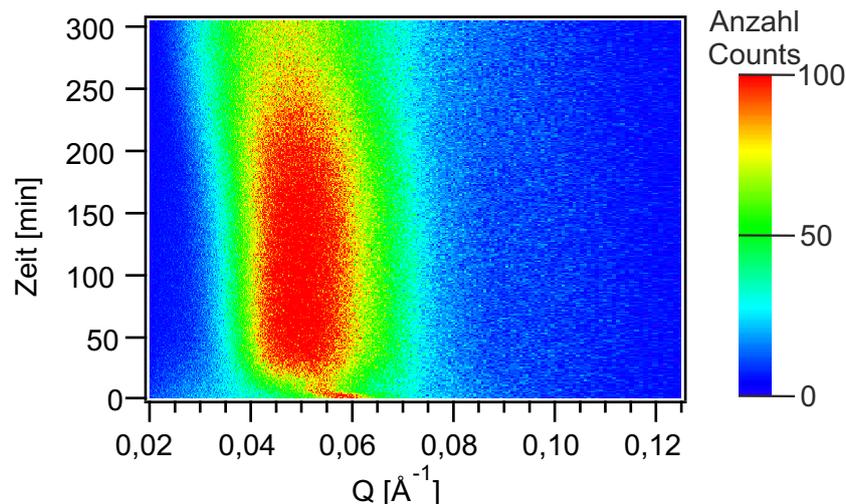


Abbildung 8.3. Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPC nach der Zugabe von Magnesiumchlorid. Die Endkonzentration nach der vollständigen Durchmischung in der Probenkammer betrug 50 mM. Die Lage des Bragg-Peaks zum Zeitpunkt 0 unterscheidet sich grundlegend von dem Startwert in Abbildung 8.2.

Das Pumpsystem, welches den Flüssigkeitsaustausch zwischen Reservoir und Probenkammer gewährleistet, liefert einen Fluss von $0,6 \frac{\text{mL}}{\text{min}}$,^[71] sodass in einer guten halben Stunde das komplette Flüssigkeitsvolumen von 20 mL durch die Probenkammer mit einem Volumen von circa 5 mL gepumpt wird. Das Pumpsystem befindet sich im Bereich des Neutronenstrahls und ist daher nicht zugänglich, sobald die Justage des gestartet wird. Somit muss das Pumpsystem vor der Justage eingeschaltet werden.

Wie der Vergleich des Startwertes des Bragg-Peaks in Abbildung 8.2 mit der Lage des Bragg-Peaks während der Kinetikmessung in Abbildung 8.3 zeigt, gelang es nicht, die Justage in kürzerer Zeit durchzuführen als das Pumpsystem benötigt, um die Magnesiumchloridlösung aus dem Reservoir in den Probenraum zu bringen. Die Justage war allerdings noch schnell genug, um in Abbildung 8.3 zu erkennen, dass der Bragg-Peak zu Beginn deutlich schmaler ist als einige Minuten danach.

Neben der Wanderung des Peaks von ehemals etwa $0,10 \text{ \AA}^{-1}$ hin zu circa $0,05 \text{ \AA}^{-1}$, wovon der letzte Teil der Wanderung ab ca. $0,065 \text{ \AA}^{-1}$ in Abbildung 8.2 zu erkennen ist, und der angesprochenen starken Verbreiterung des Bragg-Peaks ist vor allem erkennbar, dass auch nach den dargestellten 300 Minuten kein Gleichgewichtszustand vorliegt. Das Maximum verschiebt sich - nach der binnen Minuten verlaufenden ersten starken Verschiebung - mit fortschreitender Zeit sehr langsam hin zu kleineren $|\vec{q}|$ -Werten.

Gleichgewichtszustände in Magnesiumchloridlösungen

Nach der eben beschriebenen Kinetik nach der Zugabe von Magnesiumchlorid zu Wasser, bei welcher eine Gleichgewichtskonzentration von 50 mM eingestellt wurde, soll im Folgenden ein DMPC-Oligolipidbilagensystem bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen mithilfe von NR-Messungen charakterisiert werden, um herauszufinden, in welcher Form die Charakteristika des Oligolipidbilagensystems von der Magnesiumchloridkonzentration abhängen. Die Daten mit den zugehörigen Anpassungen sind in Abbildung 8.4 chronologisch dargestellt. Bei dieser Messung wurde zunächst mit einer Konzentration von 50 mM begonnen und die Lösung dann mehrfach verdünnt. Anschließend wurde die Konzentration wieder auf zwei zuvor bereits verwendete Konzentrationen erhöht, um zu sehen, ob die Ergebnisse reproduzierbar sind. Dabei liegen die hier gezeigten Systeme in einem Gleichgewichtszustand vor.

Die Daten für Wasser wurden bereits in Kapitel 6.1.1 angepasst und die Parameter sind Tabelle 6.1 in der Spalte HZB 2019/06 zu entnehmen. Die Parameter aller Anpassungen der Oligolipidbilagensysteme aus Abbildung 8.4 sind in der Tabelle 8.1 gelistet, wobei in der Tabelle anstelle von Wasser der Eintrag Lösungsmittel (LM) gelistet ist, da es sich bei den Umgebungen in den vorliegenden Messungen um Magnesiumchloridlösungen und nicht um reines Wasser handelt. Diese Notation wird auch bei den folgenden Tabellen verwendet.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

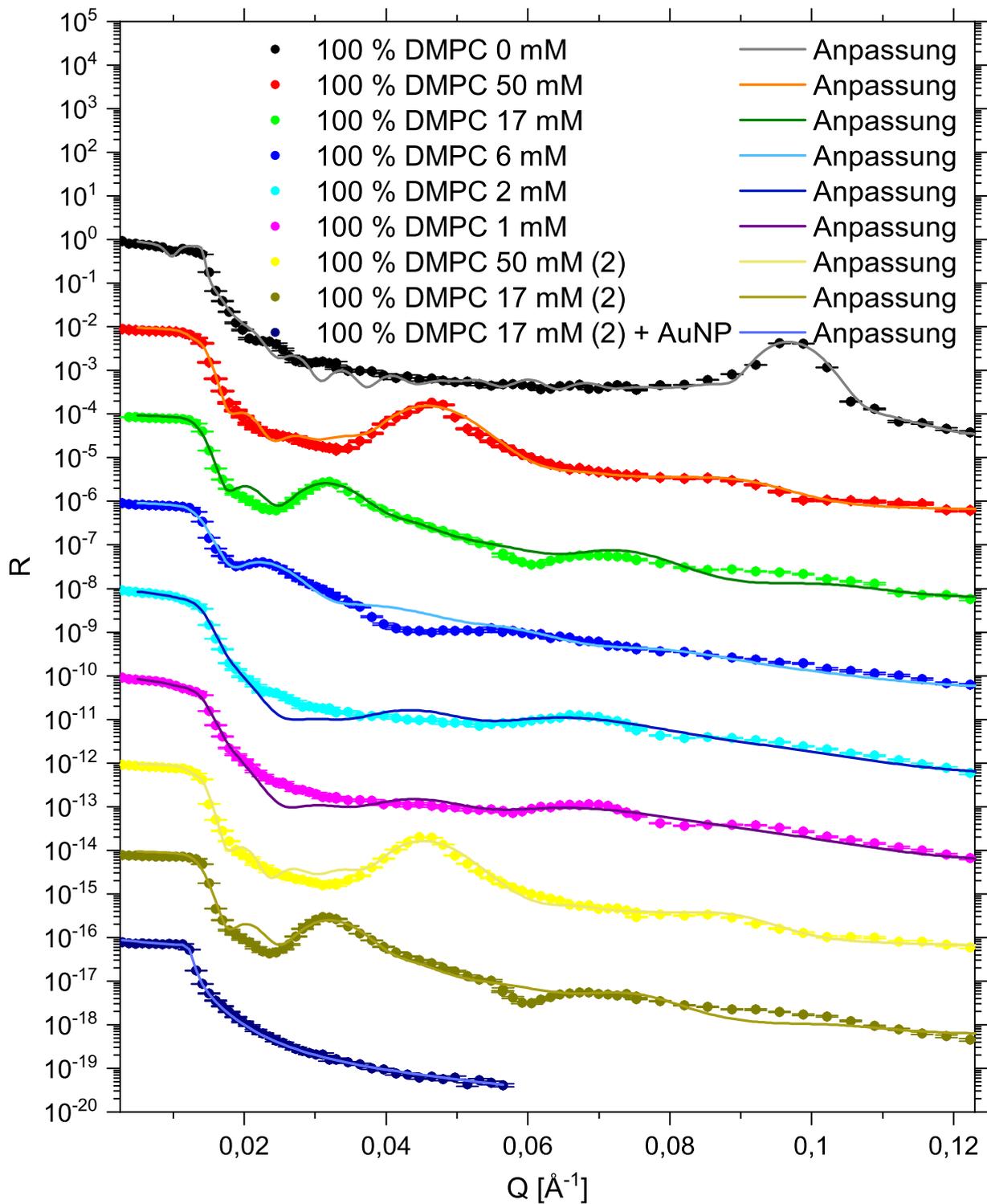


Abbildung 8.4. Dargestellt sind die NR-Daten für ein Oligolipidbilagensystem bestehend aus DMPC in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration. Zunächst wurde in schweren Wasser gemessen, danach folgten folgende Magnesiumchloridkonzentrationen: 50 mM, 17 mM, 6 mM, 2 mM, 1 mM, 50 mM (2), 17 mM (2) und abschließend wurden AuNP mit der Konzentration $5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ zugegeben. Die Systeme konnten mithilfe des in Abbildung 4.15 dargestellten Modells unter der Annahme gleichbleibender Lochanteile im Oligolipidbilagensystem angepasst werden. Die erhaltenen Daten nach der AuNP-Zugabe wurden unter der Annahme einer substratgebundenen Bilage angepasst.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Die Messdaten lassen sich gut durch eine kohärente Anpassung darstellen, was sich mit den AFM-Bildern an Luft deckt, da diese viele kleine Furchen zeigen, wobei die Strukturierung kleiner ist als die Kohärenzlänge.

Tabelle 8.1. Parameter der NR-Anpassung der DMPC-Oligolipidbilagen in schwerem Wasser mit verschiedenen Magnesiumchloridkonzentration bei 20,0 °C.

Konzentration [mM]	1	2	6	17 (1)	17 (2)	50 (1)	50 (2)
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	23,4	23,4	25,3	16,9	16,3	16,5	14,6
Σ [Å]	13,8	13,7	15,0	15,7	17,3	15,2	15,2
$\Delta\Sigma$ [Å]	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,1
$i\rho_{SL}$	0,43	0,39	0,41	0,27	0,27	0,26	0,24
$\Delta i\rho_{SL}$	0,02	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
N	5	5	4	5	5	6	6
d_{W1} [Å]	4,4	2,7	20,7	13,5	13,5	43,3	43,8
Δd_{W1} [Å]	0,3	0,3	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6
d_{W2} [Å]	20,2	21,8	200,0	129,3	128,1	80,6	81,6
Δd_{W2} [Å]	0,2	0,2	0,8	0,2	0,2	0,1	0,1
d_{W3} [Å]	48,9	50,6	272,3	191,2	184,4	101,1	106,1
Δd_{W3} [Å]	0,3	0,3	0,7	0,4	0,4	0,4	0,3
ρ_{LM} [10^{-6} Å^{-2}]	5,93	5,93	5,93	5,93	5,93	5,93	5,93
$\Delta\rho_{LM}$ [10^{-6} Å^{-2}]	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
Lochanteil [%]	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7
Δ Lochanteil [%]	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
d_{Wh} [Å]	77,1	78,7	256,9	186,2	185,0	137,5	138,5
Δd_{Wh} [Å]	0,2	0,2	0,8	0,2	0,2	0,1	0,1
d_{ges} [Å]	378	382	721	834	825	748	754
Δd_{ges} [Å]	1	1	1	1	1	1	1
χ^2	4.647	4.190	5.362	24.929	15.369	6.001	7.303

Gemäß der Ergebnisse in Abbildung 8.4 und Tabelle 8.1 sind die Resultate bei unterschiedlichen Konzentrationen in sehr gutem Maße reproduzierbar. Die Unterschiede sind auf die beim Verdünnungsprozess auftretenden Abweichungen - beim Abwiegen und der Zugabe sowie der Entnahme von Lösungsmittel - zurückzuführen. Wie aus der Tabelle 8.1 hervorgeht, sind die bestimmten Rauigkeiten sowie der Quotient $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ in den Magnesiumchloridlösungen größer als in Wasser. Die bestimmten Parameter für die Konzentrationen 2 mM und 1 mM sind nur bedingt belastbar, da die Modellierungen den Verlauf der jeweiligen Messdaten nicht optimal widerspiegeln. Diese Diskrepanz wird ein Stück weit durch die schlechte Auflösung kaschiert. Die schlechteste Auflösung wird jedoch für das Oligolipidbilagensystem mit der höchsten Quellung erhalten,

8. Auswirkungen von Salzlösungen

was nicht verwundert.

Die unabhängig voneinander durchgeführten Anpassungen liefern unterschiedliche Bilagenanzahlen. Die Anpassungen mit gleicher Bilagenanzahl sind mit einer starken Zunahme von χ^2 verbunden. Allgemein würde die Annahme der Bilagenzahlerhaltung bei den stark gequollenen Filmen dazu führen, dass der angepasste Quotient $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ noch weiter zunimmt, der erste Bragg-Peak bei der Modellierung deutlich breiter wird und die Lage des Maximums bei größeren $|\vec{q}|$ -Werten liegt, als das bei den Daten in Tabelle 8.1 der Fall ist.

Variierende Bilagenanzahl bei unterschiedlichen Salzkonzentrationen

Wie anhand der Tabelle 8.1 abgelesen werden kann, liegen die angepassten Quotienten $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ der Systeme deutlich über dem Wert für Wasser, welcher unter 5 % lag. Unter der Annahme der Bilagenzahlerhaltung würde dieser Wert für alle Systeme - außer in 50 mM Magnesiumchloridlösung - noch weiter zunehmen. Die Zunahme des Quotienten $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$ erinnert an die Auswirkungen, die mit der AuNP-Zugabe zu dem schwach negativ geladenen System 30 % Chol DMPG:DMPC 1:49 in Wasser in Kapitel 6.6.2 verbunden waren. Obgleich Anpassungen mit gleichbleibender Bilagenanzahl nicht gelangen, wurden die Anpassungen zumindest mit gleichbleibenden Lochanteilen durchgeführt. Dies führt nur im Fall von 6 mM Magnesiumchloridlösung zu einer erkennbaren Verringerung der Anpassungsgüte. Da auch bei diesem Film eine Reduzierung der Bilagenanzahl für eine treffende Anpassung der Messdaten am notwendigsten ist, werden im Anhang in Abbildung F.1 die Anpassungen mit unterschiedlichen Bilagenanzahlen einander gegenübergestellt, um zu veranschaulichen, welche Einflüsse die jeweiligen Annahmen auf das Modellsystem haben.

Die Veränderung der Bilagenanzahl erscheint jedoch nicht sinnvoll, da sich die Frage stellt, wie es sein kann, dass die Bilagenanzahl in 50 mM Magnesiumchloridlösung zunächst sechs beträgt, durch eine schrittweise Absenkung der Magnesiumchloridkonzentration bis 6 mM auf vier absinkt, dann aber durch zwei weitere Verdünnungen und einer anschließenden Magnesiumchloridzugabe wieder auf sechs ansteigt. Gerade durch die Entnahme von Lösungsmittel bei den zwei Verdünnungsschritten wäre davon auszugehen, dass nicht nur Lösungsmittel, sondern auch abgelöstes Lipid entnommen wird. Dieses könnte sich anschließend nicht erneut anlagern und die Bilagenanzahl von sechs könnte nicht mehr erreicht werden.

Ohne die Entnahme von Lösungsmittel könnten die Resultate von Inoko *et al.* für DPPC und DPPC-Chol-Systeme beim Quellen in Kalziumchloridlösung bei 5 °C ein Stück weit eine Erklärung liefern. Dort lagen die Lipide im Bereich der stärksten Quellung nicht mehr lamellar vor, wohingegen sie bei niedrigeren und höheren Konzentrationen wieder eine lamellare Struktur einnahmen.^[127] Lagen die DMPC-Systeme bei gewissen

Konzentrationen nur noch teilweise lamellar vor, könnte die Abnahme der Bilagenanzahl erklärt werden, nicht aber die Wiedieranlagerung, wenn dazwischen zweimal die Hälfte des Gesamtvolumens an Lösungsmittel entnommen wurde.

Eine mögliche vollständige Erklärung könnten hingegen die Resultate von Vogel und Salditt liefern, die beim Erhitzen von Multilagen den Ablöseprozess untersuchten. Dabei wurde festgestellt, dass sich beim Ablöseprozess an der Oberfläche des Oligolipidbilagensystems ein Übergang von planaren Bilagen zu multilamellaren Vesikeln vollzieht, die nach ihrer Entstehung noch mit der Oberfläche assoziiert sind und sich erst bei höheren Temperaturen ablösen.^{[15][149]} Die im ersten Stadium gebildeten Blasen besitzen dabei laut Literatur eine laterale Größe von etwa 10 - 50 μm und eine Höhe von circa 5 - 20 μm .^[149] Abgesehen von dem letzten Schritt, welcher den vollständigen Verlust der Bilagen darstellt, ist der Prozess weitgehend reversibel.^[15]

Unter der Annahme, dass der Ablöseprozess mit Salzen ähnlich abläuft, wie es bei hohen Temperaturen der Fall ist, wäre es denkbar, dass auch bei niedrigen Salzkonzentrationen, die eine starke Quellung hervorrufen, Vesikel gebildet werden, welche in einem reversiblen Prozess bei höheren Salzkonzentrationen wieder rückgebildet werden. Dies ist jedoch nur eine denkbare Möglichkeit, die mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie und Polarisationsmikroskopie überprüft werden könnte.^[149]

Interaktion mit AuNP

Unabhängig davon, ob die Bilagenanzahl erhalten bleibt oder nicht, können weitere Aspekte des Systems - wie beispielsweise die Charakterisierung der Bilagenabstände bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen - ergründet werden. Zudem kann die Reaktion des Systems auf die Zugabe von AuNP unabhängig davon untersucht werden.

Obgleich die Variation der Bilagenanzahl ein interessanter Aspekt ist, soll der Schwerpunkt hier auf der Lipid-AuNP-Interaktion liegen. Die Charakterisierung der verwendeten AuNP erfolgte nach der betreffenden Messzeit, indem die von Christian Busch synthetisierten, trocken gelagerten AuNP in Wasser gelöst und mittels DLS charakterisiert wurden. Das Resultat entspricht den in Tabelle 6.10 dargestellten AuNP 2, wobei der am häufigsten auftretende Durchmesser der Verteilung 101 \AA , der PDI 0,426 und das ζ -Potential ($60,1 \pm 13,5$) mV betrug.

Mit steigender Magnesiumchloridkonzentration bis 6 mM nehmen die DMPC-Bilagenabstände zunächst stark zu. Bei einer weiteren Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration auf 17 mM nehmen die Bilagenabstände wieder ab. Dieses Verhalten kann dadurch erklärt werden, dass anfänglich Magnesiumionen in die Bilagenstrukturen eingelagert werden, was den Trend der DSC-Messungen in Unterkapitel 8.1 bestätigt. Erwartungsgemäß sind die Bilagenabstände - aufgrund der elektrostatischen Repulsion

8. Auswirkungen von Salzlösungen

der Bilagen untereinander - in Magnesiumchloridlösung höher als in Wasser. Ab einer bestimmten Magnesiumchloridkonzentration führt jedoch die Erhöhung der Konzentration zu einer Verringerung der Bilagenabstände. Dies wird damit begründet, dass die Abschirmung der Bilagen zueinander durch die Erhöhung der Ionenstärke zunimmt. Folglich bedingt eine weitere Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration eine Verringerung der Bilagenabstände. Wie Abbildung 8.4 entnommen werden kann, treten bei den Bragg-Peaks der stark gequollenen Filme bei 6 mM und 17 mM starke rechte Schultern auf. Die Wiederholungsmessungen bei 17 mM und 50 mM zeigen, dass die Abstände und die Schultern reproduzierbar sind und daher die Einlagerungen der Ionen in die Bilagen vollständig reversibel ist.

Die anschließende AuNP-Zugabe erfolgte bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 17 mM, da bei dieser Konzentration sowohl ein klar ausgeprägter Bragg-Peak im Reflexionsprofil des Oligolipidbilagensystems als auch eine starke Quellung des Systems vorlag. Dabei ist in Anbetracht der Quellung und der AuNP-Größen das Eindringen der NP in die Wasserzwichenschichten möglich. Wie Abbildung 8.4 zeigt, ist die Zugabe der in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 2 mit einer Konzentration von $5 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ mit einem vollständigen Ablösen der freischwimmenden Bilagen verbunden und es bleibt lediglich die substratgebundene Bilage zurück. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Interaktion der DMPC-Oligolipidbilagensysteme bei 18,0 °C und 26,0 °C mit den großen AuNP 3, welche ein vergleichbares ζ -Potential besaßen wie die kleineren hier verwendeten AuNP 2. Zudem ist aufgrund des deutlich höheren Bilagenabstands der Einfluss der Van-der-Waals-Attraktion der verschiedenen Bilagen zueinander geringer, sodass diese bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 17 mM einfacher abgelöst werden können, als das in Wasser der Fall ist.

Im folgenden Kapitel 8.2.2 wird in die Oligolipidbilagensysteme Chol eingelagert, da bereits die vorangegangenen Messergebnisse bestätigten, dass die Systeme durch die Einlagerung von Chol stabilisiert werden. Zunächst wird untersucht, inwieweit die Einlagerung von Chol das Quellverhalten in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration beeinflusst, um anschließend die AuNP-Lipid-Interaktion zu untersuchen.

8.2.2 80 % DMPC 20 % Chol

Im nächsten Schritt werden durch die Einlagerung von 20 % Chol stabilisierte Filme untersucht. Dabei werden vier Messreihen präsentiert, wobei in der ersten Messreihe die Magnesiumchloridkonzentration variiert und mit der Überprüfung der AuNP-Lipid-Interaktion die Messreihe abgeschlossen wurde. Bei den Messreihen zwei bis vier wurde die Magnesiumchloridkonzentration nicht variiert und stattdessen direkt die Lipid-NP-Interaktion untersucht. Mit Ausnahme der letzten Messreihe, bei der TiO₂-NP verwendet wurden, wurde in allen anderen Messreihen auf AuNP zurückgegriffen.

Variation der Magnesiumchloridkonzentration

Die Messdaten der Messreihe mit Variation der Magnesiumchloridkonzentration und die zugehörigen Anpassungen sind in Abbildung 8.5 dargestellt. Da in Unterkapitel 8.2.1 gezeigt wurde, dass die Einlagerung der Magnesiumionen in die Modellmembranen reversibel ist und dasselbe Phänomen auch für dieses System beobachtet wird, können an dieser Stelle die Systeme unabhängig von der Reihenfolge der Messungen mit abnehmenden Magnesiumchloridkonzentrationen dargestellt werden. Die abgeleiteten Parameter der Anpassungen sind in Tabelle 8.2 dargestellt.

Der erste Bragg-Peak wandert durch die Zugabe von Magnesiumchlorid und die Verdünnung der Konzentration sowie die Zugabe von AuNP immer weiter zu kleineren Werten für Q . Während bei einer Konzentration von 12,5 mM neben dem Bragg-Peak bei einem geringen Q auch wieder der Bragg-Peak an derselben Stelle wie bei Wasser auftaucht, sind die gemessenen Reflektivitätswerte bei einer Konzentration von 6 mM fast deckungsgleich mit den in Wasser gemessenen Werten.

Die in der Tabelle 8.2 gelisteten Regionen des Films mit lediglich der substratgebundenen Bilage werden bei der Berechnung der Gesamtschichtdicke nicht gewichtet, obgleich sie mit bis zu 55 % in der inkohärenten Summe gewichtet werden. Grund hierfür ist, dass bei den kohärenten Anpassungen die Lösungsmittelanteile innerhalb der Bilagen ebenfalls keinen Einfluss auf die Gesamtschichtdicke nehmen.

Die Wiederholungsmessungen zeigen, dass die Bilagenabstände - wie auch bereits bei dem Film ohne Chol - sehr ähnlich sind. Die Abweichungen können auf die mehrfache Entnahme und Zugabe von Lösungsmittel im Reservoir zurückgeführt werden. Die Einlagerung der Ionen in die Membranen ist somit reversibel. Der grundlegende Unterschied zu der Messung mit dem System ohne Chol ist, dass bei diesem System durch eine hinreichend starke Verdünnung bei Magnesiumchloridkonzentrationen von 12,5 mM und darunter sehr ähnliche Werte wie für Wasser erhalten werden. Dies unterstreicht die Reversibilität der Ioneneinlagerung in die Systeme. Bei dem DMPC-Oligolipidbilagensystem ohne Chol nimmt zwar der Bilagenabstand bei einer Konzentration von unter 6 mM wieder ab, aber selbst bei einer Konzentration von 1 mM sind dort die Bilagenabstände noch erheblich höher, als das in Wasser der Fall ist. Die Herabsetzung der Ionenaffinität der Filme durch die Einlagerung von Chol ist somit klar erkennbar. Zudem ist besonders die Messung am System mit 20 % Chol bei 12,5 mM bemerkenswert, da hier - analog zu dem System mit einem geringen DMPG-Gehalt und AuNP ohne die Anwesenheit von Magnesiumchlorid - an manchen Stellen ein gequollener Film und an anderen Stellen ein ungequollener Film vorliegt.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

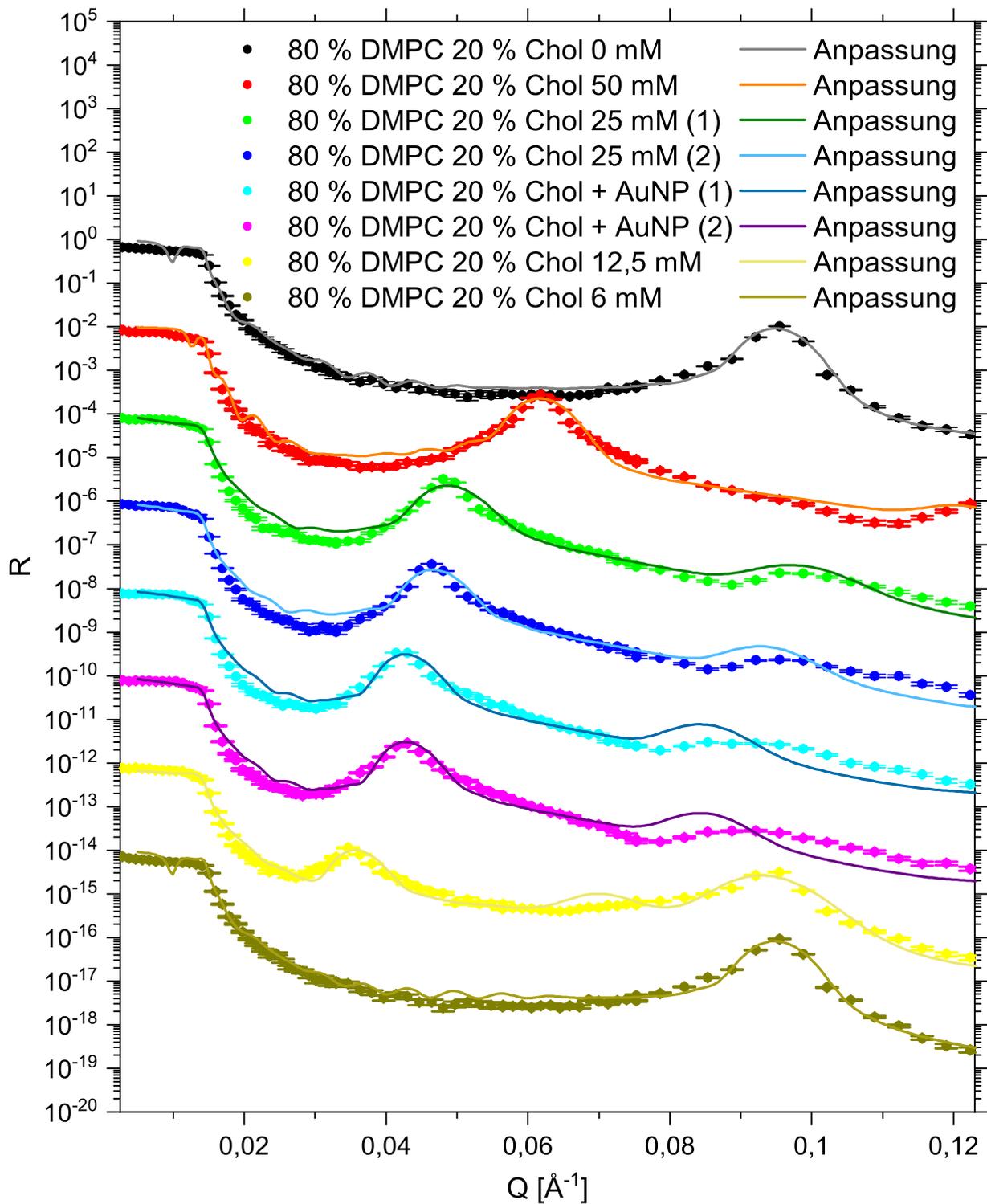


Abbildung 8.5. Dargestellt sind die NR-Daten für ein Oligolipidbilagensystem bestehend aus 80 % DMPC 20 % Chol in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration. Zunächst wurde in schwerem Wasser gemessen, danach folgten folgende Magnesiumchloridkonzentrationen: 50 mM, 25 mM, 12,5 mM, 6 mM, 25 mM (2) und abschließend wurde die AuNP-Konzentration von 0 auf zunächst auf $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ (1) und danach auf $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ (2) erhöht. Um eine bessere Übersichtlichkeit zu gewährleisten, sind die Messungen nach der Messung in Wasser nicht chronologisch, sondern nach abnehmender Magnesiumchloridkonzentration, sortiert.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.2. Parameter der NR-Anpassungen eines 80 % DMPC 20 % Chol-Systems mit unterschiedlichen Salzkonzentrationen bei 20,0 °C. Die SLD sind in 10^{-6} \AA^{-2} angegeben. Zudem betragen die Werte für $\rho_{SL \text{ Kopf}}$ 3,88, für $\Delta i \rho_{SL}$ 0,00 - 0,02 und für $\Delta \Sigma$ (0,1 - 0,2) Å.

c_{MgCl_2} [mM]	0	50	25(1)	25(2)	AuNP (1)	AuNP (2)	12,5	6
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	6,53	8,71	9,74	9,98	10,57	10,14	11,39	6,40
Σ [Å]	5,2	9,2	12,2	12,9	13,9	14,3	9,4	6,5
$i\rho_{SL}$	0,12	0,13	0,95	0,75	0,88	0,91	0,91	0,12
N	13 (50%) 15 (50%)	10 (50%) 11 (50%)	9 (45%) 1 (55%)	9 (45%) 1 (55%)	9 (45%) 1 (55%)	9 (45%) 1 (55%)	13 (35%) 8 (10%) 1 (55%)	13 (50%) 15 (50%)
d_{W1} [Å] Δd_{W1} [Å] d_{W1} [Å] Δd_{W1} [Å]	8,5 0,4	22,6 1,0	53,7 0,5	54,1 0,5	66,2 0,5	66,2 0,5	8,9 0,8 98,4 1,1	9,2 0,4
d_{W2} [Å] Δd_{W2} [Å] d_{W2} [Å] Δd_{W2} [Å]	9,25 0,02	45,85 0,04	73,9 0,1	79,7 0,1	93,9 0,1	93,7 0,1	10,3 0,1 127,5 0,3	9,30 0,02
d_{W3} [Å] Δd_{W3} [Å] d_{W3} [Å] Δd_{W3} [Å]	16,3 0,1	60,0 1,0	113,2 0,9	124,0 0,8	142,8 1,0	143,9 1,0	20,4 0,6 184 3	17,1 0,2
ρ_{LM} $\Delta\rho_{LM}$	6,14 0,01	6,14 0,01	6,13 0,01	6,04 0,01	6,04 0,01	6,04 0,01	6,04 0,01	6,04 0,01
Löcher [%] Δ Löcher	33,8 0,4	43,2 0,3	- -	- -	- -	- -	- -	33,8 0,1
d_{Wh} [Å] Δd_{Wh} d_{Wh} [Å] Δd_{Wh}	66,14 0,02	102,74 0,04	130,8 0,1	136,6 0,1	150,8 0,1	150,6 0,1	67,2 0,1 182,3 0,3	66,19 0,02
d_{ges} [Å] Δd_{ges} [Å] d_{ges} [Å] Δd_{ges} [Å]	923,0 0,5	1.024 1	1.132 1	1.157 1	1.284 1	1.284 1	872 1 1375 4	925,1 0,5
χ^2	12.360	13.795	5.079	5.598	7.175	7.145	5.038	13.049

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Beim Vergleich zu dem System ohne Chol - dargestellt in Abbildung 8.4 in Kapitel 8.2.1 - fällt auf, dass durch die Einlagerung von Chol die durch Magnesiumchlorid bedingte Quellungen, die Zunahme der Rauigkeiten und der Quotienten $\frac{\Delta|\bar{q}|}{|\bar{q}|}$ bedeutend schwächer ausfallen. Zudem gelingt es, mithilfe von Chol Oligolipidbilagensysteme zu generieren, welche zwar mit den NP interagieren, gleichzeitig jedoch reproduzierbar bei NP-Exposition stabil bleiben.

Anhand der Tabellen 6.4 und 8.2 ist zu erkennen, dass die Bilagenanzahlen von Systemen mit 20 % Chol in Wasser, bei einem Lochanteil von 33,8 %, zwischen 10 und 12 liegen. Ein Vergleich der Messungen in reinem Wasser mit den Magnesiumchloridkonzentrationen 25 mM (1) und 12,5 mM zeigt, dass neben deutlich stärkeren Quellungen auch bedeutend weniger Bilagen bei gleichzeitig deutlich mehr Löchern resultierten. Auch nach der erneuten Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration auf 25 mM (2) wurde dasselbe Ergebnis erhalten. Der Verlust von Bilagen bei starker Quellung ist somit - wie auch schon in Kapitel 8.2.1 mit Oligolipidbilagensystemen aus reinem DMPC thematisiert - reversibel. Würde stattdessen von einer durchgehenden Erhaltung der Bilagenanzahl ausgegangen, resultiert eine deutlich stärkere Zunahme der angepassten Rauigkeiten und eine Vergrößerung des Quotienten $\frac{\Delta|\bar{q}|}{|\bar{q}|}$.

Die höchste Quellung tritt nun bei einer höheren Konzentration von Magnesiumchloridlösung ein, als das bei Oligolipidbilagensystemen ohne Chol der Fall ist. Die Quellung ist zudem in Anwesenheit von Chol in den Bilagen schwächer, wie aus dem Vergleich der Tabellen 8.1 und 8.2 hervorgeht. Bei einer Salzkonzentration von 6 mM sind die Bilagenabstände vergleichbar mit den Abständen in Wasser. Bei dieser Konzentration war für DMPC die Quellung noch maximal. Die Erklärung hierfür ist, dass die Affinität des Chol-Moleküls Kationen zu binden vergleichsweise gering ist und zudem Chol durch die Interaktion mit der PC-Kopfgruppe die Anzahl an Bindungsstellen der PC-Kopfgruppe für Kationen absenkt.^{[125][150]} Die Einlagerung der Ionen in die Membranen erfolgt daher erst bei höheren Salzkonzentrationen. Aufgrund der geringeren Affinität der 80 % DMPC 20 % Chol-Membranen die Ionen aufzunehmen, sind die Bilagenabstände geringer.

AuNP-Lipid-Interaktion in 25 mM Magnesiumchloridlösung

Für die Untersuchung der Interaktion zwischen den in Tabelle 6.10 dargestellten AuNP 1 und dem Oligolipidbilagensystem wurde zunächst die Konzentration von 25 mM gewählt, da bereits bei 12,5 mM wieder ein Bragg-Peak zu sehen ist, der auf Bilagenabstände wie in schwerem Wasser hindeutet. Zudem liegen bei 12,5 mM unterschiedliche Quellungen vor, sodass sich dieser Film nicht als solide Referenz eignet. Die stärkste einheitliche Quellung für das Oligolipidbilagensystem liegt bei 25 mM vor. Im Gegensatz zu den reinen DMPC-Oligolipidbilagensystemen sind die Oligolipidbilagen-

systeme mit 20 % Chol auch nach Zugabe von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP-Lösung stabil, obgleich die AuNP-Konzentration doppelt so hoch ist, wie das bei der Messung mit DMPC der Fall war.

Obwohl in diesem Konzentrationsbereich eine Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration aufgrund der zunehmenden Abschirmung die Bilagenabstände absenken würde, nehmen durch die Zugabe der geladenen AuNP die Bilagenabstände zu. Das offenbart eine starke attraktive Wechselwirkung zwischen den Membranen und den AuNP. Die AuNP werden anscheinend in die Membran eingebaut, was zu einer Erhöhung der Bilagenabstände führt. Ein Abschirmungseffekt durch AuNP in Lösung wird nicht beobachtet. Tabelle 8.2 zeigt zudem, dass sich durch eine weitere, starke Erhöhung der AuNP-Konzentration auf $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ die Bilagenabstände fast nicht mehr verändern. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass durch eine weitere Erhöhung der AuNP-Konzentration nur noch in begrenztem Maß NP in die Membran eingebaut werden, die dadurch resultierende stärkere Abstoßung jedoch durch die höhere Abschirmung kompensiert wird, welche durch gelöste AuNP hervorgerufen wird.

Neben der Erhöhung der Bilagenabstände erhöhen sich auch die angepassten Rauigkeiten und die Quotienten $\frac{\Delta|\bar{q}|}{|\bar{q}|}$, sodass die Bilagenstruktur der Filme durch die Einlagerung der NP gestört wird. Während bei manchen Magnesiumchloridkonzentrationen keine sinnvollen Anpassungen mit derselben Bilagenanzahl wie bei der zuvor eingestellten Magnesiumchloridkonzentration möglich waren, konnten alle Anpassungen bei 25 mM Magnesiumchloridlösung - mit oder ohne AuNP - mit derselben Bilagenanzahl durchgeführt werden. Insgesamt ist festzustellen, dass die Bilagenabstände deutlich stärker durch Magnesiumchloridkonzentrationsänderungen manipuliert werden können, als dies bei den durchgeführten AuNP-Konzentrationsänderungen in 25 mM Magnesiumchloridlösung der Fall war. Die Zunahme der Bilagenabstände zeigt dabei die Einlagerung der AuNP in das Bilagensystem.

AuNP-Lipid-Interaktion in 50 mM Magnesiumchloridlösung

Um die Auswirkungen der AuNP-Exposition besser zu verstehen, wird im Folgenden die Interaktion zwischen einem System bestehend aus 80 % DMPC 20 % Chol bei einer höheren Ionenstärke mit AuNP untersucht. Die dabei verwendeten AuNP entsprechen den AuNP 1 in Tabelle 6.10. Da bei 25 mM bereits eine Interaktion nachgewiesen werden konnte, wird an dieser Stelle die Interaktion mit NP bei 50 mM Magnesiumchloridlösung untersucht. Zunächst wird den drei in Abbildung 6.4 sowie in Tabelle 6.4 gezeigten Oligolipidbilagensystemen im ersten Schritt Magnesiumchlorid zugegeben. Die danach erhaltenen NR-Daten und ihre jeweiligen Anpassungen sind in Abbildung 8.6 gezeigt. Die Parameter der Systeme 1, 2 und 3 sind in den Tabellen 8.3, 8.4 sowie 8.5 dargestellt.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

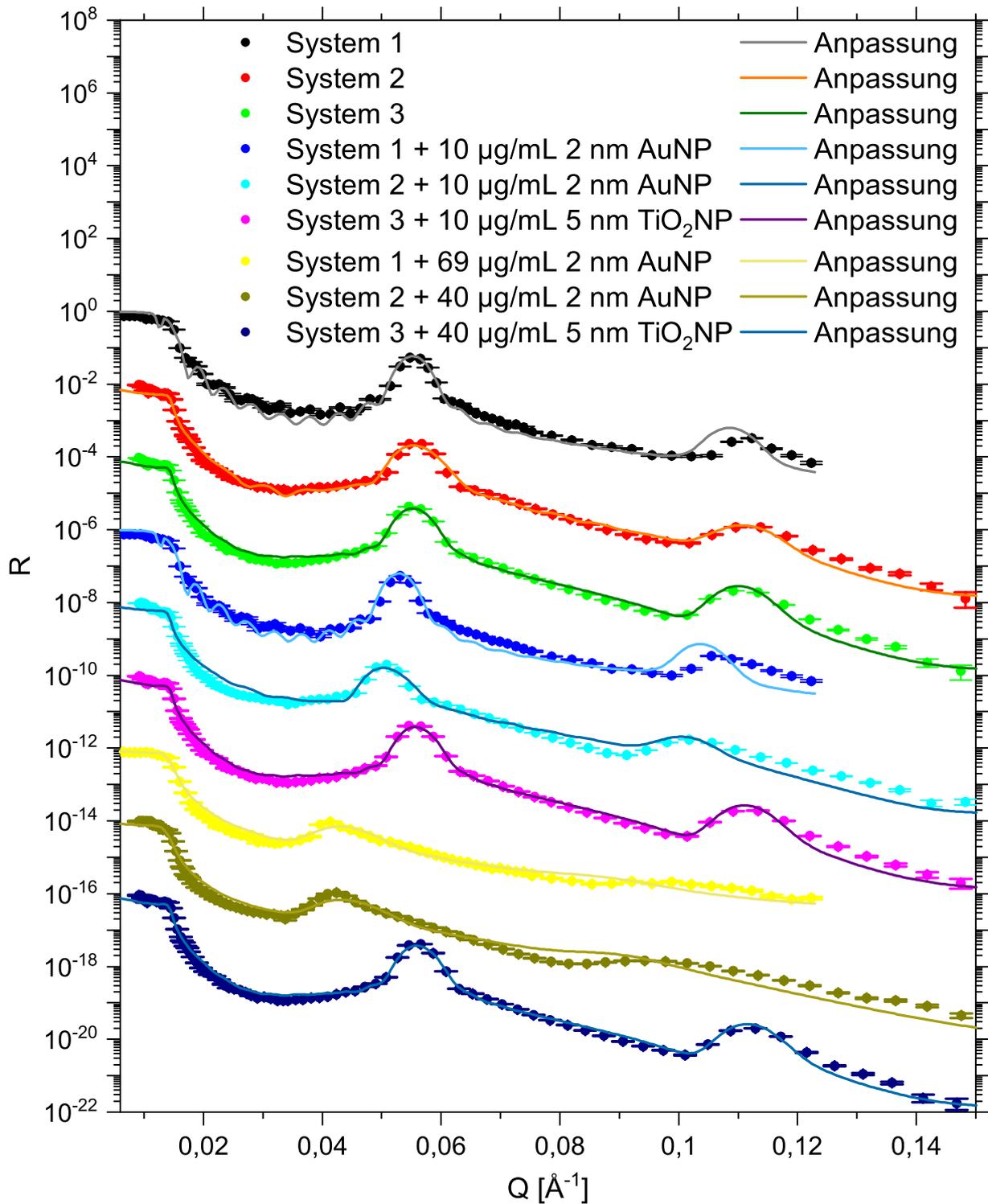


Abbildung 8.6. Dargestellt sind die NR-Daten dreier 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagensysteme bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM. Zunächst wurden alle drei Systeme mittels NR-Messungen vermessen, ohne dass sie NP ausgesetzt waren. Danach wurden die Systeme 1 und 2 42 Å großen AuNP und System 3 10,1 Å großen TiO₂-NP ausgesetzt. Die Startkonzentration betrug jeweils 10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Im zweiten Schritt wurde für System 1 die NP-Konzentration auf 69 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und für die Systeme 2 und 3 auf 40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ erhöht.

Die Hauptgründe für eine Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration, bei der die AuNP zugegeben werden, sind, dass bei einer 50 mM Magnesiumchloridlösung die

für das menschliche Blut biologisch relevante Ionenstärke von 150 mM vorliegt und dass bei einer höheren Magnesiumchloridkonzentration überprüft werden kann, ob die AuNP-Einlagerung erwartungsgemäß zu einer geringeren Beeinflussung des Systems führt. Hierbei sprechen drei Gründe für eine schwächere Beeinflussung des Systems. Der erste Punkt besteht darin, dass durch die geringeren Bilagenabstände die NP - welche ähnlich groß sind wie die Zwischenschichten - nicht mehr so gut in die Zwischenschichten eindringen können. Der zweite Grund dafür ist, dass die Erhöhung des ζ -Potentials durch die Einlagerung der AuNP in die Systeme zu einer schwächeren Abstoßung der Bilagen zueinander führt, als das bei geringeren Magnesiumchloridkonzentrationen der Fall ist, da bei der höheren Magnesiumchloridkonzentration der abschirmende Effekt durch die Zwischenschichten größer ist. Der dritte Aspekt besteht darin, dass bei geringeren Bilagenabständen die Van-der-Waals-Attraktion stärker ist, sodass eine etwaige leichte Erhöhung der Coulomb-Repulsion nur eine vergleichsweise schwache Vergrößerung der Zwischenschichtenabstände zur Folge hat.

Interaktion des 80 % DMPC 20 % Chol-Systems mit den AuNP 1 in 50 mM Magnesiumchloridlösung

In diesem Abschnitt wird die Interaktion des Systems 1 in Abbildung 8.6 mit den in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 1 untersucht.

Die mittels Anpassung der spekularen Reflektivität erhaltenen, unerwartet hohen Rauigkeiten wurden für dieses System von Philipp Gutfreund bestätigt. Dafür passte er die Daten an, welche durch die nicht-spekulare Streuung erhalten wurden.

Wie aus Tabelle 8.3 hervorgeht, können in 50 mM Magnesiumchlorid sowohl das System ohne AuNP als auch das mit einer geringen AuNP-Konzentration mit einer vergleichsweise guten Auflösung angepasst werden. Erst durch die Vervielfachung der AuNP-Konzentration ergibt die Anpassung einen deutlich größeren Quotienten $\frac{\Delta|\vec{q}|}{|\vec{q}|}$. Die Zunahme der Welligkeit ist daher bei beiden Schritten erkennbar. Die angepasste Rauigkeit nimmt hingegen nach beiden NP-Zugaben zu.

Der Lochanteil, welcher sich durch Wasser in den Bilagen ausdrückt, ändert sich durch die erste AuNP-Zugabe nicht. Dabei kann die Gewichtung der substratgebundenen Bilage mit 75 % in den Lagen darüber als Lochanteil verstanden werden, sodass ein Vergleich möglich und eine starke Zunahme des Lochanteils erkennbar ist. Zudem nimmt bei der hohen AuNP-Konzentration die Bilagenanzahl durch die Interaktion mit den NP erheblich ab.

Die erhaltenen Bilagenabstände sind bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM ohne AuNP um 13,77 Å statistisch signifikant höher, als das bei der vorangegangenen Messreihe mit variierender Magnesiumchloridkonzentration der Fall war. Eine möglicher Grund für die Abweichung könnte sein, dass die Charge an Magnesi-

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.3. Parameter der NR-Anpassungen für die 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen des Systems 1 aus Abbildung 8.6 bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM bei 20,0 °C vor und nach der zweimaligen Zugabe von AuNP. Bei der hohen AuNP-Konzentration wurde der Lochanteil nicht als Parameter verwendet, da in diesem Fall der Lochanteil durch einen Summand der inkohärenten Summe in Form einer Bilage repräsentiert wurde.

Parameter	ohne NP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	69 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \bar{q} }{ \bar{q} }$ [%]	5,4	5,4	15,2
Σ [Å]	9,2 ± 0,1	10,5 ± 0,1	14,3 ± 0,2
$i\rho_{SL}$	0,10 ± 0,00	0,11 ± 0,00	2,01 ± 0,07
N	11 (70 %) 12 (30 %)	11 (70 %) 12 (30 %)	5 (10 %) 6 (15 %) 1 (75 %)
d_{W1} [Å]	39,2 ± 0,3	42,1 ± 0,3	67,6 ± 1,2
d_{W2} [Å]	59,56 ± 0,03	64,96 ± 0,03	93,1 ± 0,6
d_{W3} [Å]	59,7 ± 0,3	65,2 ± 0,3	132 ± 3
$\rho_{SL \text{ Kopf}}$ [10^{-6} Å^{-2}]	3,88	3,88	3,88
ρ_{LM} [10^{-6} Å^{-2}]	6,38 ± 0,01	6,33 ± 0,01	6,23 ± 0,02
Lochanteil [%]	40,2 ± 0,1	40,2 ± 0,1	-
d_{Wh} [Å]	116,45 ± 0,03	121,85 ± 0,03	150,0 ± 0,6
d_{ges} [Å]	1.235,3 ± 0,5	1.289 ± 0,5	760 ± 4
χ^2	14.566	18.860	3.220

umchlorid zwischen den Messungen ausgetauscht wurde. Während bei der vorherigen Messung die erste AuNP-Zugabe in 25 mM Magnesiumchloridlösung eine Zunahme der Zwischenschichten um $(14,20 \pm 0,14)$ Å bewirkt, führt in 50 mM Magnesiumchloridlösung die Zugabe derselben Menge an AuNP zu einer Vergrößerung der Zwischenschichtabstände um $(5,40 \pm 0,04)$ Å. Die vorher formulierte Erwartung der geringeren Wiederholeinheitendicke bei höherer Magnesiumchloridkonzentration ist somit eingetreten.

Die weitere Erhöhung der AuNP-Konzentration um 59 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ liefert hingegen grundverschiedene Resultate. Während in 25 mM die Bilagenabstände leicht abnehmen, so dass die Gesamtzunahme der Bilagendicke des Systems ohne AuNP hin zu einer hohen AuNP-Konzentration insgesamt nur bei $(14,00 \pm 0,14)$ Å liegt, führt in 50 mM Magnesiumchloridlösung eine weitere Erhöhung der AuNP-Konzentration zu einer Gesamtzunahme von $(33,5 \pm 0,6)$ Å. Zu den bisherigen Überlegungen muss daher ergänzend auch noch die Einlagerungsaffinität der NP in Abhängigkeit von der Ionenstärke berücksichtigt werden. Aufgrund der höheren Abschirmung ist es möglich, bei einer höheren Ionenstärke mehr Ionen einzulagern. Dies wird durch mehrere eigene QCMD-Messungen bestätigt und beispielsweise auch von Parra-Ortiz *et al.* für 1-Palmitoyloyl-

2-oleoyl-3-phosphatidylcholin (POPC)-Systeme berichtet.^[151] Das POPC-Molekül besitzt dieselbe Kopfgruppe wie das in Abbildung 4.1 dargestellte DMPC-Molekül. Der Unterschied der beiden Moleküle besteht darin, dass bei dem POPC-Molekül im Kettengruppenbereich eine Kette um zwei CH₂-Gruppen und die andere Kette um vier CH₂-Gruppen länger ist als beim DMPC-Molekül. Im Kettengruppenbereich des POPC-Moleküls besitzt die längere der beiden Ketten eine Doppelbindung.^[152] Für eine quantitative Betrachtung der in Erscheinung tretenden Interaktionen müssten die neben der Coulomb-Repulsion auftretenden Kräfte bekannt sein, sodass durch den erhaltenen Gleichgewichtsabstand auf die Coulomb-Repulsion geschlossen werden könnte.

Messreihe 2 50 mM Magnesiumchloridlösung AuNP

Die Durchführung der zweiten Messreihe unterscheidet sich von der der ersten Messreihe lediglich durch eine etwas geringere AuNP-Konzentration der in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 1 im zweiten Schritt. Diese wurde von $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ auf $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ herabgesetzt, um einen weiteren Messpunkt bei einer Konzentration in der Mitte zwischen $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ zu erhalten. Durch diese Vorgehensweise kann die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des Systems in 50 mM Magnesiumchloridlösung und einer AuNP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ überprüft werden. Hierfür wurde dasselbe System, dieselbe Magnesiumchloridkonzentration und dieselben AuNP herangezogen. Die für die Anpassungen verwendeten Parameter sind in Tabelle 8.4 dargestellt.

Die in Tabelle 8.4 aufgeführten Parameter ermöglichen die bestmögliche Anpassung der Daten in Magnesiumchloridlösung vor und nach der ersten AuNP-Zugabe. Dabei wird angenommen, dass nicht nur eine inkohärente Summe für Bereiche mit unterschiedlichen Bilagenanzahlen verwendet werden muss, sondern dass auch der Wasseranteil in den Filmen nicht als Wassergehalt in den jeweiligen Summen aufgeführt werden kann. Stattdessen entspricht ein Summand der inkohärenten Summe lediglich aus einer substratgebundenen Bilage, welche in den Lagen darüber den Lochanteil darstellt.

Wie Tabelle 8.4 zu entnehmen ist, nehmen mit jeder AuNP-Konzentrationserhöhung die Rauigkeit, alle Zwischenschichtdicken und der prozentuale Anteil des Films, der aus einer Bilage aufgebaut ist, zu. Hingegen nimmt die Auflösung mit jedem Schritt ab. Bei dem Vergleich zwischen den Systemen in Tabelle 8.3 und 8.4 ist zu beachten, dass die Anpassungen mit sich unterscheidenden Modellen durchgeführt wurden.

Die Zwischenschichtdicken ähneln sich für die beiden Systeme 1 und 2 in den jeweiligen Umgebungen in gewisser Weise, wobei bei System 2 die Zwischenschichtzunahme durch die erste AuNP-Zugabe mit $(12,49 \pm 0,04) \text{ \AA}$ deutlich stärker ausfällt, als das bei System 1 mit $(5,40 \pm 0,04) \text{ \AA}$ der Fall ist. Zudem ist die Zwischenschichtdickenzunahme durch die zweite AuNP-Zugabe zu System 2 mit $(32,9 \pm 0,1) \text{ \AA}$ vergleichbar

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.4. Parameter der NR-Anpassungen der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen des Systems 2 aus Abbildung 8.6 bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM bei 20,0 °C vor und nach der zweimaligen Zugabe von AuNP.

Parameter	ohne NP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \bar{q} }{ \bar{q} }$ [%]	7,1 ± 0,0	7,2 ± 0,0	15,9 ± 0,0
Σ [Å]	12,6 ± 0,0	14,3 ± 0,0	14,8 ± 0,0
$i\rho_{SL}$	1,34 ± 0,01	1,59 ± 0,01	1,59 ± 0,01
N	8 (20 %) 10 (30 %) 1 (50 %)	8 (15 %) 10 (25 %) 1 (60 %)	5 (10 %) 6 (15 %) 1 (75 %)
d_{W1} [Å]	45,5 ± 0,1	54,7 ± 0,1	68,6 ± 0,2
d_{W2} [Å]	57,16 ± 0,02	69,65 ± 0,03	90,02 ± 0,11
d_{W3} [Å]	83,2 ± 0,3	104,5 ± 0,4	138,0 ± 0,7
$\rho_{SL\text{ Kopf}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	3,88	3,88	3,88
ρ_{LM} [10^{-6} \AA^{-2}]	6,21 ± 0,01	6,05 ± 0,01	5,80 ± 0,00
Lochanteil [%]	-	-	-
d_{Wh} [Å]	114,05 ± 0,02	126,84 ± 0,03	142,6 ± 0,1
d_{ges} [Å]	1.006,5 ± 0,3	1.122,6 ± 0,5	740,1 ± 0,8
χ^2	30.243	48.248	62.324

stark wie die bei System 1 mit $(33,5 \pm 0,6) \text{ \AA}$, obwohl bei System 2 nur halb so viele AuNP wie bei System 1 hinzugegeben wurden.

Ogleich die bestimmten Bilagenabstände variieren, bleibt festzuhalten, dass durch die AuNP-Zugabe die Rauigkeit der Systeme reproduzierbar zu- und die angepasste Auflösung systematisch abnimmt. Durch die Zugabe von AuNP mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ blieb bei System 1 das Oligolipidbilagensystem intakt, während bei System 2 der Anteil des Films, der aus lediglich einer substratgebundenen Bilage bestand, von 50 % auf 60 % anstieg. Bei einer weiteren Erhöhung der AuNP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ auf $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ oder $69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ führte die Interaktion der Lipide mit den NP sowohl zu einer Reduktion der Bilagenanzahl des Oligolipidbilagensystems als auch zu einem Anstieg des Anteils des Films, der lediglich aus einer substratgebundenen Bilage besteht.

Dabei kann mit den Daten der spekularen Reflektivität nicht auf den Einlagerungsort der AuNP geschlossen werden. Auch die Daten aus der nicht-spekularen Streuung lieferten keine Erkenntnisse zum Ort der Einlagerung, da gemäß Philipp Gutfreund die dominante Komponente für die nicht-spekulare Streuung die großen Löcher im System waren, deren Vorliegen sich ebenfalls im angenommenen Wasseranteil in den Bilagen beim Anpassen der spekularen Streuung bemerkbar machte. Aufgrund des dominanten Beitrags der Löcher konnte der Anteil an NP nicht bestimmt werden.

Interaktion der 80 % DMPC 20 % Chol-Systeme mit TiO₂-NP in 50 mM Magnesiumchloridlösung

Neben den bereits diskutierten Interaktionen der Lipidsysteme mit AuNP soll im Folgenden untersucht werden, inwieweit die Änderungen vom Material des NP abhängt. Daher werden im Folgenden statt AuNP TiO₂-NP gewählt, welche relevant sind durch deren Verwendung in Sonnencremes.^[1] Die NP wurden nach der Synthese charakterisiert und besitzen gemäß Tabelle 6.10 einen etwas größeren Durchmesser als die AuNP 1 bei gleichzeitig höherer Polydispersität und einem deutlich geringeren ζ -Potential, sodass ein geringerer Einfluss auf das System erwartet wird.

Die Resultate der Interaktion der TiO₂-NP in Tabelle 8.5 heben sich von allen Membran-AuNP-Interaktionen in Magnesiumchloridlösungen ab, da weder eine Zerstörung der lamellaren Struktur, noch eine Quellung der Bilagen einsetzt. Es bleiben alle Bilagen intakt, während alle Bilagenabstände und damit auch die Gesamtschichtdicke - aufgrund gleich bleibender Bilagenanzahl - einheitlich leicht abnehmen. Die Interaktion ist nicht nur schwächer als erwartet, sondern so schwach, dass der dominante Effekt die leicht zunehmende elektrostatische Abschirmung durch die Erhöhung der Ionenstärke zu sein scheint.

Tabelle 8.5. Parameter der NR-Anpassungen der 80 % DMPC 20 % Chol-Oligolipidbilagen des Systems 3 aus Abbildung 8.6 bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM bei 20,0 °C vor und nach der zweimaligen Zugabe von TiO₂-NP.

Parameter	ohne NP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ TiO ₂ -NP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ TiO ₂ -NP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,0
Σ [Å]	12,2 ± 0,0	12,0 ± 0,0	11,9 ± 0,0
$i\rho_{SL}$	0,77 ± 0,01	0,79 ± 0,00	0,79 ± 0,00
N	12 (20 %) 13 (30 %) 1 (50 %)	12 (20 %) 13 (30 %) 1 (50 %)	12 (20 %) 13 (30 %) 1 (50 %)
d_{W1} [Å]	43,4 ± 0,1	42,8 ± 0,1	42,6 ± 0,1
d_{W2} [Å]	58,30 ± 0,01	57,30 ± 0,01	56,75 ± 0,01
d_{W3} [Å]	101,8 ± 0,2	99,4 ± 0,2	97,7 ± 0,2
$\rho_{SL \text{ Kopf}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	3,88	3,88	3,88
ρ_{LM} [10^{-6} \AA^{-2}]	6,25 ± 0,00	6,23 ± 0,00	6,21 ± 0,00
Lochanteil [%]	-	-	-
d_{Wh} [Å]	113,10 ± 0,01	112,10 ± 0,01	111,55 ± 0,01
d_{ges} [Å]	1.395,4 ± 0,2	1.382,8 ± 0,2	1.375,6 ± 0,2
χ^2	24.397	24.076	30.301

Dieses Resultat ist vergleichbar mit dem Ergebnis für das DMTAP:DMPC 1:55 Oligoli-

8. Auswirkungen von Salzlösungen

pidbilagensystem mit einem Chol-Anteil von 30 %, bei dem eine AuNP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ auch lediglich eine abschirmende Wirkung hat. Zudem nehmen die Rauigkeiten der Filme nicht zu, was bei einer NP-Einlagerung zu erwarten ist. Es wird daher davon ausgegangen, dass keine Einlagerung der TiO_2 -NP in die Systeme stattfindet. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass das ζ -Potential der TiO_2 -NP gemäß Tabelle 6.10 mit $(21,8 \pm 12,2)$ mV deutlich geringer ist als das ζ -Potential der AuNP mit $(63,0 \pm 6,8)$ mV. Somit ist naheliegend, dass aufgrund der bestimmten Rauigkeiten, Zwischenschichtdicken und ζ -Potentiale keine starke attraktive Wechselwirkung zwischen den Modellmembranen und TiO_2 -NP stattfindet.

8.2.3 DMPC/geladenes Lipid 20 % Chol

Neben zwitterionischen Oligolipidbilagensystemen, deren Interaktion mit AuNP in Magnesiumchloridlösung untersucht wurde, soll im Folgenden auch die Interaktion geladener Oligolipidbilagensysteme mit AuNP in Magnesiumchloridlösung untersucht werden. Dabei wird zuerst die Interaktion eines Oligolipidbilagensystems mit positiv geladenem DMTAP und Magnesiumchloridlösung untersucht. Anschließend wird ein System mit negativ geladenem DMPG anstelle von DMTAP beleuchtet.

Oligolipidbilagensystem mit DMTAP

Zunächst wird ein DMTAP:DMPC 1:49 20 % Chol-Oligolipidbilagensystem in schwerem Wasser gemessen. Anschließend wird Magnesiumchlorid zugegeben, um einen erhöhten Bilagenabstand zu erhalten und somit die Vergleichbarkeit zu den bereits beschriebenen Systemen zu gewährleisten. Die Ionenstärke ist mit 25 mM Magnesiumchloridlösung nur halb so hoch wie im menschlichen Blut und simuliert beispielsweise eine - durch defekte Ionenkanäle in Membranen bedingte - deutlich geringere Ionenstärke als im Normalfall üblich.^[143] Nach dieser Messung wird eine weitere bei einer AuNP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ durchgeführt. Aufgrund der limitierten Messzeit war es nicht möglich, zusätzlich bei einer höheren AuNP-Konzentration zu messen. Die Daten mit den zugehörigen Anpassungen sind in Abbildung 8.7 dargestellt und die verwendeten Parameter sind in Tabelle 8.6 aufgelistet.

Die Dicke der Wiederholeinheit ist in 25 mM Magnesiumchloridlösung größer, als das bei der Messreihe mit variierender Magnesiumchloridkonzentration bei 80 % DMPC 20 % Chol ohne geladene Lipide in Tabelle 8.2 der Fall ist. Zur Einordnung sollte allerdings berücksichtigt werden, dass bei den weiteren Messungen an dem letztgenannten System mit einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM die Bilagenabstände allesamt größer waren, als bei der Messreihe mit variierender Magnesiumchloridkonzentration in Tabelle 8.2. Somit kann lediglich festgehalten werden, dass bei der Messreihe

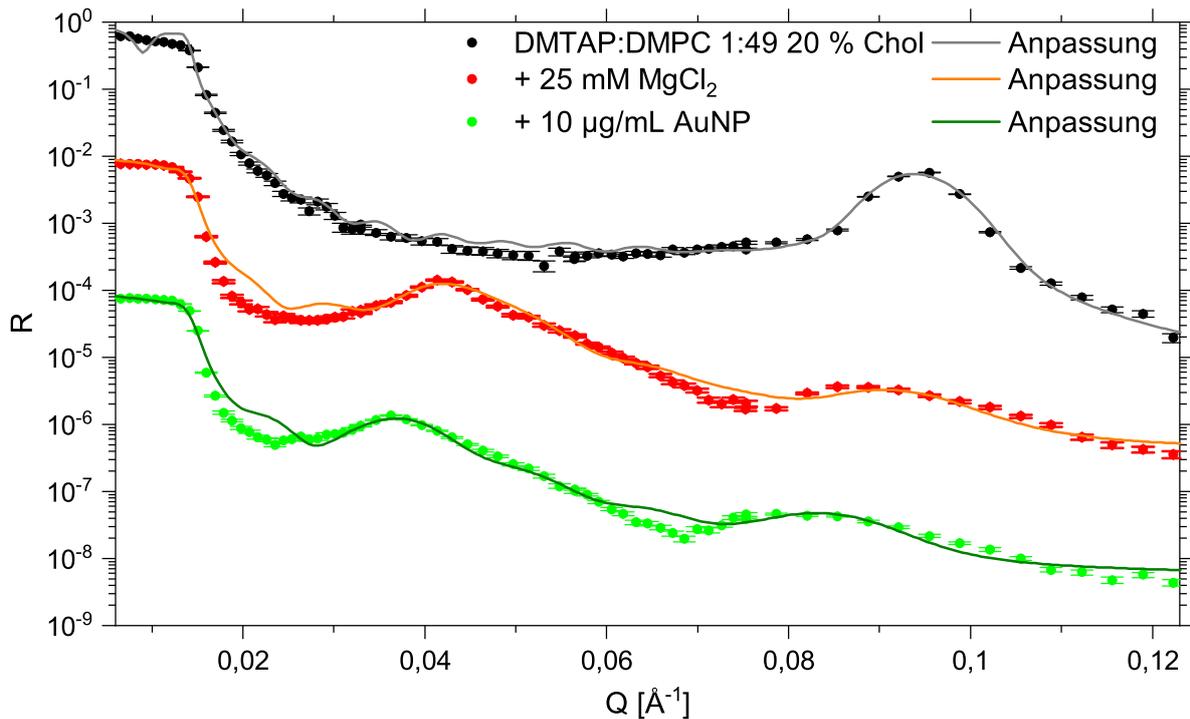


Abbildung 8.7. Dargestellt sind die NR-Daten eines Systems bestehend aus DMTAP:DMPC 1:49 mit 20 % Chol zunächst in schwerem Wasser, dem nach der ersten Messung Magnesiumchlorid zugegeben wurde, um eine Konzentration von 25 mM zu erreichen. Danach wurden dem System 42 Å große AuNP zugegeben, sodass deren Konzentration $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ betrug.

Tabelle 8.6. Parameter der NR-Anpassungen der DMTAP:DMPC 1:49 mit 20 % Chol-Oligolipidbilagen in Abbildung 8.7.

Parameter	schweres Wasser	25 mM Magnesiumchloridlösung	$10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	$7,2 \pm 0,0$	$15,0 \pm 0,0$	$15,0 \pm 0,0$
Σ [Å]	$9,1 \pm 0,0$	$12,7 \pm 0,1$	$15,0 \pm 0,1$
$i\rho_{SL}$	$0,12 \pm 0,00$	$0,60 \pm 0,02$	$0,60 \pm 0,01$
N	10 (30 %) & 13 (70 %)	7 (9 %) & 5 (29 %) & 1 (62 %)	7 (9 %) & 5 (29 %) & 1 (62 %)
d_{W1} [Å]	$4,0 \pm 0,5$	$71,0 \pm 0,4$	$18,2 \pm 0,4$
d_{W2} [Å]	$9,85 \pm 0,02$	$87,1 \pm 0,2$	$96,2 \pm 0,2$
d_{W3} [Å]	$17,9 \pm 0,2$	$139,7 \pm 0,7$	$152,4 \pm 0,6$
$\rho_{SL \text{ Kopf}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	3,88	3,88	3,88
ρ_{LM} [10^{-6} \AA^{-2}]	$5,99 \pm 0,01$	$5,97 \pm 0,01$	$6,21 \pm 0,00$
Lochanteil [%]	$25,1 \pm 0,1$	-	-
d_{Wh} [Å]	$66,66 \pm 0,02$	$146,9 \pm 0,2$	$152,4 \pm 0,2$
d_{ges} [Å]	$803,1 \pm 0,5$	750 ± 1	714 ± 9
χ^2	8.265	4.283	3.657

8. Auswirkungen von Salzlösungen

mit variierender Magnesiumchloridkonzentration die Bilagenabstände vergleichsweise gering ausgefallen sind. Ob das Ersetzen jedes fünfzigsten DMPC-Moleküls durch ein DMTAP-Molekül zu einer etwas größeren Quellung in Magnesiumchloridlösung führt, kann anhand der einen vorliegenden Messung nicht zweifelsfrei festgestellt werden. Die Bilagenabstände des geladenen und ungeladenen Systems liegen jedenfalls in einem ähnlichen Bereich, was sich mit durchgeführten Messungen der ζ -Potentiale deckt. Diese sind im Anhang in Tabelle F.1 und in Abbildung F.2 in Kapitel F.2 dargestellt. Dabei zeigte sich, dass sich in 50 mM Magnesiumchloridlösung selbst Systeme mit einem sehr viel höheren Anteil an geladenem Lipid nur vergleichsweise schwach von einem System ohne geladenes Lipid unterscheiden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass sich die Magnesiumionen sehr viel stärker in einen negativ geladenen Kopfgruppenbereich einlagern, als das für ein System mit positiv geladenen Kopfgruppen der Fall ist. In Folge dessen werden alle gemessenen ζ -Potentiale positiv und die ζ -Potentialunterschiede sind vergleichsweise gering. Ausgehend von diesem Ergebnis wäre zu erwarten, dass sich ein System mit einem viel geringeren DMTAP-Anteil von nur DMTAP:DMPC 1:49 mit 20 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung in guter Näherung gleich verhält wie ein System, bei dem nicht jedes 50. DMPC-Molekül durch ein DMTAP-Molekül ersetzt wurde.

Durch die Anpassungen der NR-Daten wird ersichtlich, dass durch die Magnesiumchloridzugabe die angepasste Auflösung deutlich schlechter wird und die Rauigkeit signifikant zunimmt. Durch die Zugabe von AuNP bleiben die Bilagenanzahl und die angepasste Auflösung hingegen unverändert, während die Rauigkeit und die Zwischenschichtdicke der Wiederholeinheit jedoch statistisch signifikant zunehmen.

Während der Bilagenabstand in 25 mM Magnesiumchloridlösung noch größer ist als bei der Messreihe mit variierender Magnesiumchloridkonzentration, liegen die Bilagenabstände nach der AuNP-Zugabe mit $(96,2 \pm 0,2)$ Å bei dem hier präsentierten geladenen System und $(93,9 \pm 0,1)$ Å bei dem ungeladenen System sehr nahe beieinander. Die Quellung der Systeme mit gleichem Chol-Gehalt geladener und ungeladener Oligolipidbilagen scheint daher in einem vergleichbaren Bereich zu liegen, was bei dem geringen DMTAP-Anteil nicht verwundert.

Oligolipidbilagensystem mit DMPG

Nachdem die Interaktion von positiv geladenen Oligolipidbilagensystemen in Magnesiumchloridlösung mit AuNP durchgeführt wurde, steht eine Messung mit negativ geladenen Oligolipidbilagensystemen noch aus. Anstelle der Untersuchung des analogen Systems mit DMPG wird der Anteil an geladenem Lipid von 1:49 auf 1:39 gesteigert, um etwaige Unterschiede zu den Systemen ohne geladene Lipide besser festzustellen. Gleichzeitig birgt diese Erhöhung des Anteils an geladenem Lipid das Risiko, dass

das Oligolipidbilagensystem in Lösung nicht mehr stabil sein könnte - wie in Kapitel 6.3 dargelegt. Es ist jedoch denkbar, dass die Systeme in Magnesiumchloridlösung - beispielsweise aufgrund der erhöhten Abschirmung - stabiler sind als in Wasser. Dies wird im Folgenden untersucht. In Abbildung 8.8 ist die zeitliche Entwicklung des Bragg-Peaks für ein DMPG:DMPC 1:39-System mit 20 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung dargestellt. Die zugehörigen Parameter sind Tabelle 8.7 zu entnehmen.

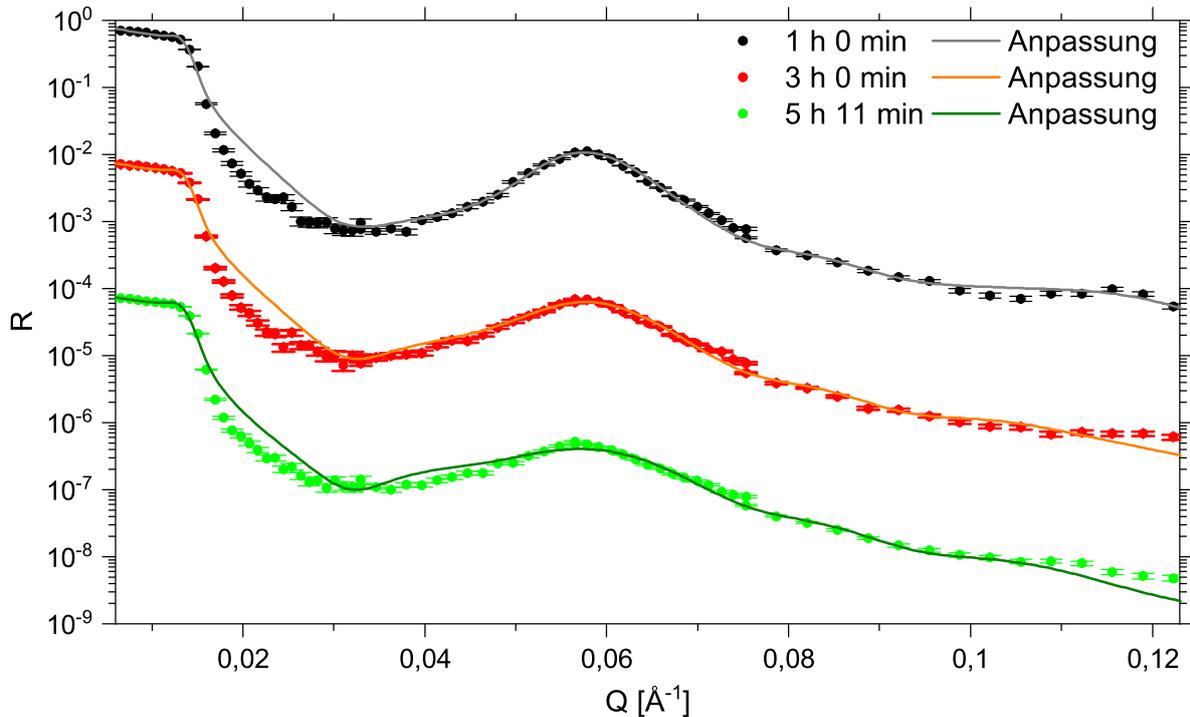


Abbildung 8.8. Dargestellt sind die NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPG:DMPC 1:39 mit 20 % Chol in einer 50 mM Magnesiumchloridlösung zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten.

Im Gegensatz zu dem System mit DMTAP:DMPC 1:49 ist das Oligolipidbilagensystem mit DMPG:DMPC 1:39 in 50 mM Magnesiumchloridlösung nicht stabil. Die Anzahl an Bilagen und daher auch die Gesamtschichtdicke nehmen gemäß Tabelle 8.7 in Schritten von zwei Stunden sukzessive ab. Hierbei werden wieder nur die Filmanteile mit mehr als einer Bilage zur Bestimmung der Gesamtschichtdicke berücksichtigt, da bei Filmen, bei denen eine kohärente Anpassung vorgenommen wurde, der Wasseranteil ebenfalls nicht bei der Gesamtschichtdicke berücksichtigt wurde. Gleichzeitig nimmt die Rauigkeit der Bilagen zu und die Gesamtschichtdicke ab, während die angepasste Auflösung schlechter wird. Die Dicke der Wiederholeinheit nimmt beim Ablöseprozess ebenfalls ab.

Diese mangelnde Stabilität ist bemerkenswert, da die Quellfaktoren deutlich geringer sind als das beispielsweise bei dem DMPC-System und geringen Magnesiumchloridkonzentrationen in Abschnitt 8.2.1 der Fall ist. Gemäß der Abbildungen 6.9 und 6.10 nimmt die Stabilität der Systeme durch die Einlagerung von Chol zu. Es wird ange

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.7. Parameter der NR-Anpassungen des Oligolipidbilagensystems bestehend aus DMPG:DMPC 1:39 mit 20 % Chol in einer 50 mM Magnesiumchloridlösung aus Abbildung 8.8.

Parameter	1 h 0 min	3 h 0 min	5 h 11 min
$\frac{\Delta \bar{q} }{ \bar{q} }$ [%]	15,0 ± 0,1	15,3 ± 0,1	16,3 ± 0,1
Σ [Å]	10,4 ± 0,1	10,8 ± 0,1	12,2 ± 0,1
$i\rho_{SL}$	0,53 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,60 ± 0,01
N	14 (12 %) & 4 (40 %) & 1 (48 %)	11 (5 %) & 4 (47 %) & 1 (48 %)	6 (5 %) & 4 (47 %) & 1 (48 %)
d_{W1} [Å]	32,2 ± 0,4	29,6 ± 0,4	25,8 ± 0,4
d_{W2} [Å]	53,4 ± 0,1	52,3 ± 0,2	49,3 ± 0,3
d_{W3} [Å]	57,3 ± 0,4	59,3 ± 0,4	62,2 ± 0,3
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	3,88	3,88	3,88
ρ_{LM} [10^{-6} \AA^{-2}]	5,85 ± 0,01	5,85 ± 0,01	5,85 ± 0,01
Lochanteil [%]	-	-	-
d_{Wh} [Å]	108,2 ± 0,1	107,1 ± 0,2	104,1 ± 0,3
d_{ges} [Å]	612 ± 1	432 ± 1	377 ± 1
χ^2	6.450	3.196	2.931

nommen, dass durch die 50 mM Magnesiumchloridlösung und die damit verbundene Einlagerung der Magnesiumionen in die Bilagenstrukturen sowie vor allem den Abschirmungseffekt der Salzlösung die Stabilität des Oligolipidbilagensystems erhöht werden könnte. Diese Hypothese konnte bei der Messung nicht belegt werden. Durch die Einlagerung geladener Lipide in die Strukturen sinkt die Stabilität des Systems. Bei den geringen Anteilen an positiv geladenem Lipid, bei denen das System stabil bleibt, sind keine strukturellen Unterschiede im Quellverhalten zu beobachten, wie dies Abschnitt 8.2.3 zu entnehmen ist.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass durch die Einlagerung von 20 % Chol in die Oligolipidbilagensysteme diese weniger stark in der Magnesiumchloridlösung quellen als Systeme ohne Chol. Jedoch sind Systeme mit Chol auch stabiler bei AuNP-Exposition. Bei der Zugabe von TiO₂-NP-NP kann keine Einlagerung der NP in die Lipidsysteme beobachtet werden und die Einlagerung von geladenen Lipiden führt zu vergleichbaren Resultaten in der Magnesiumchloridlösung wie für Systeme ohne geladene Lipide. Auch in 50 mM Magnesiumchloridlösung sind substratgebundene Oligolipidbilagensysteme ab einem gewissen, überschaubaren Stoffmengenanteil an geladenen Lipiden nicht stabil. Da die Einlagerung von 20 % Chol in die Systeme bereits die Stabilität bei AuNP-Exposition stark erhöht hat, soll im folgenden Unterkapitel 8.2.4 untersucht werden, wie sich Oligolipidbilagensysteme mit 30 % Chol in Salzlösungen verhalten.

8.2.4 70 % DMPC 30 % Chol

Auch für einen Chol-Anteil von 30 % wird zunächst untersucht, inwieweit sich die Oligolipidbilagensysteme bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen verhalten. Dabei wird zunächst eine Messreihe gezeigt, bei der die Magnesiumchloridkonzentration variiert wird und anschließend wird auf die AuNP-Interaktion bei Messreihen gleichbleibender Magnesiumchloridkonzentration eingegangen.

Variation der Magnesiumchloridkonzentration

Hierfür wurde dem in Abbildung 6.4 und Tabelle 6.5 gezeigten Oligolipidbilagensystem nach der Messung in schwerem Wasser Magnesiumchlorid zugegeben und im Folgenden die Magnesiumchloridkonzentration variiert. Die Ergebnisse und deren Anpassungen sind in Abbildung 8.9 dargestellt. Die abgeleiteten Parameter bei verschiedenen Magnesiumchloridkonzentrationen sind Tabelle 8.8 zu entnehmen.

Wie aus Tabelle 8.8 hervorgeht, bleibt die Anzahl an Oligolipidbilagen bei einer Veränderung der Magnesiumchloridkonzentration konstant - was bei den Oligolipidbilagensystemen mit geringerem Chol-Gehalt nicht der Fall war. Hierin unterscheidet sich das System grundlegend von den vorangegangenen mit geringeren Chol-Anteilen. Die Auflösung liegt zudem in dem Bereich, der durch das Instrument bedingt wird. Hiermit setzt sich der Trend fort, der bereits durch die Einlagerung von 20 % Chol beobachtet wurde und darin besteht, dass sich die angepasste Auflösung durch die Einlagerung von Chol erheblich verbessert. Durch die Präsenz von 30 % Chol nimmt somit die Welligkeit der Systeme ab und die Stabilität des Systems zu - wie auch anhand der Bilagenzahlerhaltung klar wird.

Dieses Ergebnis illustriert, dass die Konformationsänderung von DMPC-Chol-Systemen beim Übergang von niedrigen Chol-Anteilen zu hohen Chol-Anteilen von 24 % gemäß Greenwood *et al.*^[89] nicht nur die Anordnung der Moleküle ändert, sondern sie zeigen explizit auf, welche Veränderungen der Eigenschaften dadurch für das System resultieren.

Gemäß der Messungen von 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystemen bei 12,5 mM, 3 mM und 0 mM liegen die Dicken der Wiederholeinheiten im Bereich zwischen 64 und 65 Å und dementsprechend die Gesamtschichtdicken bei Werten von circa 1080 Å, während die Rauigkeiten im Bereich von circa 3 Å liegen. Durch die Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration von 12,5 mM auf 35 mM setzt eine Quellung aller Zwischenschichten ein, sodass die Dicke einer Wiederholeinheit auf über 102 Å ansteigt. Gleichzeitig vervielfacht sich die angepasste Rauigkeit auf knapp 15 Å. Durch die weitere Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration auf 50 mM und mehr nehmen die Zwischenschichtdicken aufgrund der zunehmenden Abschirmung wieder ab. Auch alle anderen Parameter nähern sich durch die Konzentrationserhöhung den

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Werten im nicht gequollenen Zustand schrittweise an.

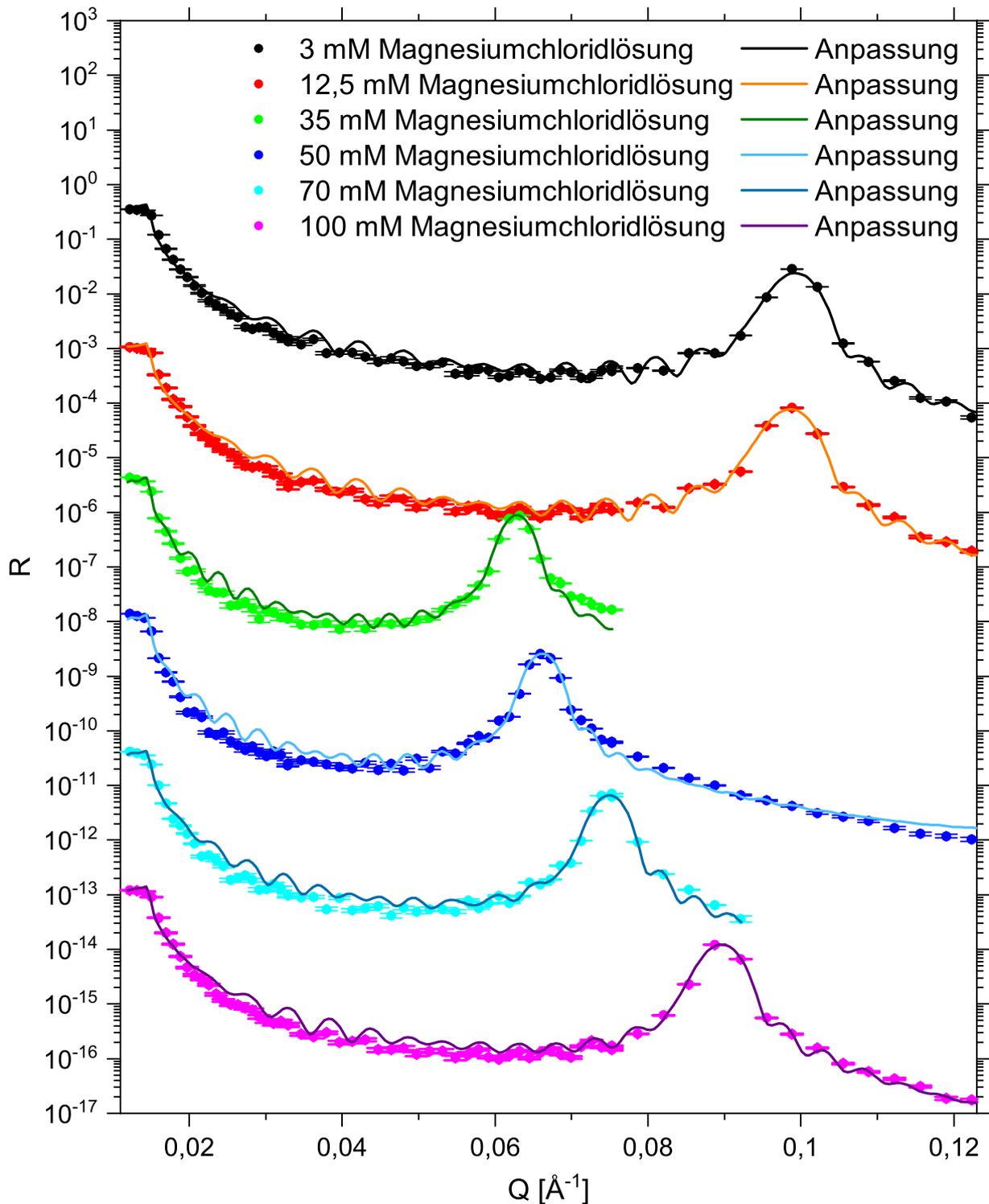


Abbildung 8.9. Dargestellt sind die NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC und 30 % Chol in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration. Zur besseren Übersichtlichkeit sind die Messungen nicht chronologisch, sondern nach steigender Magnesiumchloridkonzentration dargestellt. Bei der Versuchsdurchführung wurde folgende Reihenfolge gewählt: schweres Wasser, 50 mM, 12,5 mM, 3 mM, 100 mM, 70 mM und abschließend 35 mM Magnesiumchloridlösung. Der Versatz der Messdaten zueinander beträgt ausnahmsweise 2,5 Größenordnungen.

Tabelle 8.8. Parameter der NR-Anpassungen der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen bei verschiedenen Magnesiumchloridkonzentrationen bei 20,0 °C.

Salzkonzentration [mM]	3	12,5	35	50	70	100
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	2,50	2,66	3,26	2,98	2,50	2,56
$\Delta\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Σ [Å]	3,0	3,0	14,7	13,1	9,9	5,2
$\Delta\Sigma$ [Å]	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
$i\rho_{SL}$ [10^{-6} Å ⁻²]	0,32	0,37	0,18	0,20	0,22	0,27
$\Delta i\rho_{SL}$ [10^{-6} Å ⁻²]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
N	18(50%) 15(30%) 1(20%)	18(50%) 15(30%) 1(20%)	18(50%) 15(30%) 1(20%)	18(50%) 15(30%) 1(20%)	18(50%) 15(30%) 1(20%)	18(50%) 15(30%) 1(20%)
d_{W1} [Å]	6,8	7,0	22,5	20,0	17,6	8,7
Δd_{W1} [Å]	0,2	0,2	0,7	0,3	0,2	0,2
d_{W2} [Å]	7,54	7,96	45,23	39,96	28,53	14,48
Δd_{W2} [Å]	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00
d_{W3} [Å]	7,7	8,1	46,1	40,8	29,3	16,0
Δd_{W3} [Å]	0,2	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å ⁻²]	3,88	3,88	3,88	3,88	3,88	3,88
ρ_{LM} [10^{-6} Å ⁻²]	6,38	6,38	6,36	6,36	6,38	6,38
$\Delta\rho_{LM}$ [10^{-6} Å ⁻²]	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
d_{Wh} [Å]	64,46	64,88	102,15	96,88	85,45	71,40
Δd_{Wh} [Å]	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00
d_{ges} [Å]	1.079,6	1.086,1	1.656,7	1.575,8	1.403,3	1.186,1
Δd_{ges} [Å]	0,3	0,3	0,8	0,3	0,2	0,2
χ^2	10.791	7.377	6.971	14.820	7.992	9.053

Somit setzt sich auch bei der Quellung der Trend fort, was bereits beim Vergleich der 20 % Chol-Daten mit den Daten ohne Chol festgestellt wurde, dass die Quellung erst bei höheren Konzentrationen einsetzt und dann schwächer ausfällt. Während ohne Chol die maximale Quellung bei 6 mM Magnesiumchloridlösung vorliegt, führt bei 20 % Chol diese Magnesiumchloridkonzentration zu keiner Erhöhung der Bilagenabstände. Dort wird erst bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 12,5 mM ein an manchen Stellen maximal gequollener Film erhalten. Eine weitere Erhöhung des Chol-Gehalts auf 30 % führt erneut dazu, dass bei der Magnesiumchloridkonzentration, bei der das Oligolipidbilagensystem mit einem geringeren Chol-Anteil noch die maximale Quellung erzielte, keinerlei Quellung eintritt. Die maximale Quellung wird mit 30 % Chol bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 35 mM erreicht. Dieses Verhalten bestä-

8. Auswirkungen von Salzlösungen

tigt weiterhin, dass die Einlagerungsaffinität von Ionen in die Kopfgruppen durch die Anwesenheit von Chol gesenkt wird.

Lipid-AuNP-Interaktion

Da jedoch in erster Linie nicht die Interaktion von Salzen mit Modellmembranen, sondern vielmehr die Wechselwirkung zwischen den Membranen und NP von Interesse ist, werden im Folgenden die Auswirkungen einer NP-Exposition auf die Membranen untersucht. Hierfür wird die Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM gewählt, da diese einer isotonischen Ionenstärke entspricht^[57, S. 204 f.]^[144, S. 650 f.]^[145] und zudem die Ergebnisse mit den 20 % Chol beinhaltenden Oligolipidbilagensystemen verglichen werden können.

Um die Auswirkungen unterschiedlicher AuNP-Größen auf die Interaktion zu untersuchen, werden zwei Systemen unterschiedlich große AuNP mit ähnlichem ζ -Potential zugegeben. Deren Größenverteilung und ζ -Potentiale sind dabei der Tabelle 6.10 zu entnehmen, wobei hier die AuNP 1 und 2 verwendet wurden. Die Messdaten sowie die zugehörigen Anpassungen der beiden Systeme sind in Abbildung 8.10 dargestellt, wohingegen die abgeleiteten Parameter Tabelle 8.9 zu entnehmen sind.

Gemäß der in Tabelle 8.9 gelisteten Werte bleiben bei einer AuNP-Exposition mit einer Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ die Bilagenanzahlen der Oligolipidbilagensysteme mit 30 % Chol konstant. Gleichzeitig nehmen durch die AuNP-Zugabe die Rauigkeiten und alle drei Zwischenschichtdicken zu. Die Zunahme der Wiederholeinheitendicke fällt bei den 42 Å AuNP größer aus, als das bei den 10,1 Å AuNP der Fall ist. Auffällig ist zudem, dass die angepasste Dicke der äußersten Zwischenschicht in System 1 deutlich dicker ist als bei System 2. Dies gilt gleichermaßen für die Systeme vor der AuNP-Zugabe wie auch danach. Zudem stechen auch die auffallend hohen iSLDs bei den Systemen 1 und 2 ins Auge. Diese führen dazu, dass die Anpassungen im Bereich der Abbruchkante die kleinsten noch sinnvollen Reflektivitätswerte annehmen. Sie ermöglichen allerdings dadurch eine sinnvolle Anpassung der Daten im Bereich der Abbruchkante bis zum ersten Bragg-Peak.

Bei deutlich geringeren iSLDs, von beispielsweise unter $1 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$, wie sie bei den Simulationen der anderen Systemen angepasst wurden, ist es nicht möglich, die niedrige Reflektivität im Bereich um $0,035^{-1}$ zu simulieren. Bei niedrigeren iSLDs führt außerdem eine, sich mit den schwach ausgeprägten Kiessig-Oszillationen deckende, Bilagenanzahl dazu, dass der erste Bragg-Peak in der Simulation eine viel höhere Reflektivität aufweist als die Messdaten es nahelegen. Gleichzeitig führt eine geringe iSLD dazu, dass die angepasste Rauigkeit so hoch wird, dass die Intensität des simulierten zweiten Bragg-Peaks viel zu schwach ausfällt. Eine hohe iSLD ist somit notwendig für die Anpassung der Messdaten. Die erhaltene Auflösung entspricht bei

allen vier Messungen der instrumentenbedingten Auflösung. Durch die Anwesenheit von 30 % Chol bleibt der einzige entscheidende charakteristische Unterschied zwischen den Systemen in reinem schwerem Wasser und Magnesiumchloridlösung, dass durch die Veränderung der Magnesiumchloridkonzentration die Bilagenabstände stark variiert werden. Wie ein Vergleich mit dem in Tabelle 8.1 dargestellten reinen DMPC-System zeigt, hat die Magnesiumchloridzugabe bei dem System ohne Chol darüber hinaus einen starken Einfluss auf die angepasste Auflösung und die Rauigkeit.

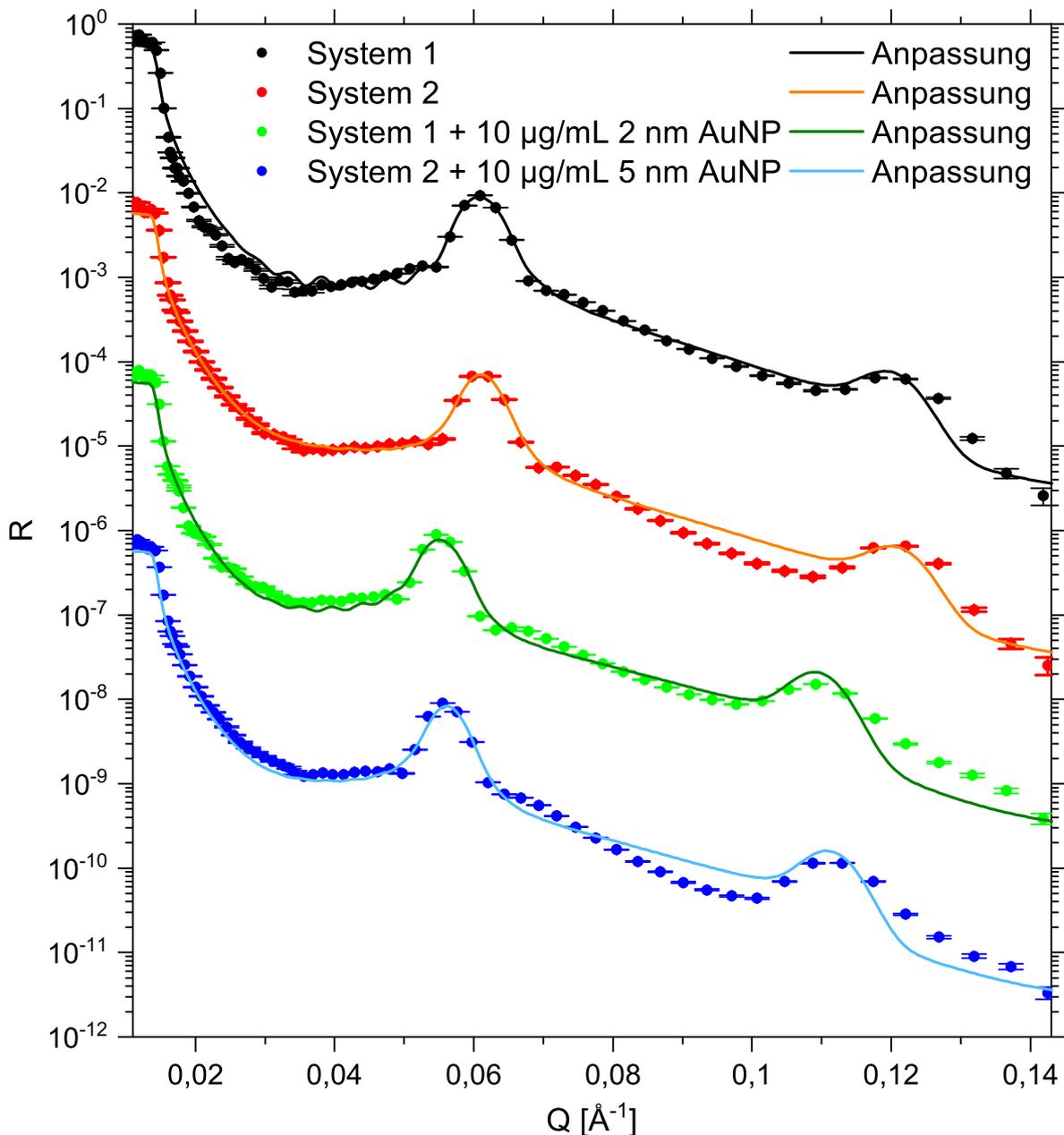


Abbildung 8.10. Dargestellt sind die NR-Daten zweier Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM - zunächst ohne AuNP und anschließend mit 10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP der Größe 42 \AA bzw. 100 \AA .

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.9. Parameter der NR-Anpassungen der 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagen bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM sowie mit AuNP unterschiedlicher Größen bei 20,0 °C.

Parameter	System 1	System 2	System 1 + 20 Å AuNP	System 2 + 50 Å AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7,0	7,0	7,0	7,0
Σ [Å]	12,1 ± 0,0	12,5 ± 0,0	12,4 ± 0,0	12,9 ± 0,0
$i\rho_{SL}$ [10^{-6} Å ⁻²]	2,79 ± 0,01	3,35 ± 0,01	3,37 ± 0,01	3,35 ± 0,01
N	10 (45 %) 1 (55 %)	12 (45 %) 1 (55 %)	10 (45 %) 1 (55 %)	12 (45 %) 1 (55 %)
d_{W1} [Å]	9,8 ± 0,1	6,8 ± 0,1	10,5 ± 0,1	9,3 ± 0,1
d_{W2} [Å]	48,77 ± 0,02	48,08 ± 0,02	59,20 ± 0,02	57,26 ± 0,03
d_{W3} [Å]	94 ± 1	49 ± 3	96 ± 2	58 ± 4
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å ⁻²]	3,88	3,88	3,88	3,88
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} Å ⁻²]	6,38 ± 0,02	6,38 ± 0,01	6,38 ± 0,02	6,38 ± 0,01
d_{Wh} [Å]	105,69 ± 0,02	105,00 ± 0,02	116,12 ± 0,02	114,18 ± 0,03
d_{ges} [Å]	1.014 ± 1	1.172 ± 3	1.090 ± 2	1.266 ± 4
χ^2	39.776	33.981	40.914	49.422

Nach diesen hier dargestellten Untersuchungen des Oligolipidbilagensystems wird abschließend der Chol-Anteil noch auf 50 % erhöht, um zu eruieren, wie sich ein solches System bei verschiedenen Magnesiumchloridkonzentrationen verhält. Dieser zuletzt gewählte Chol-Gehalt bietet sich an, da in Zellmembranen eukaryotischer Zellen der Anteil an Chol bis zu 50 % beträgt.^[87]

8.2.5 50 % DMPC 50 % Chol

Es wird analog zu den Messungen verschiedener Oligolipidbilagensysteme mit geringeren Chol-Anteilen gleichsam für das Oligolipidbilagensystem mit 50 % verfahren und das System bei verschiedenen Magnesiumchloridkonzentrationen charakterisiert. Die Messdaten sind in Abbildung 8.11 dargestellt.

Der verwendete Chol-Anteil übersteigt die Löslichkeit von Chol in DMPC.^{[94][153]} Es ist daher davon auszugehen, dass sich phasenseparierte Chol-Domänen ausbilden werden.^[94] Das Aufstellen eines treffenden Modells, welches analog zu den anderen Systemen ist, gelingt daher nicht. Verglichen mit den vorangegangenen Messungen bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen, sind hier nur sehr schwache Veränderungen sichtbar, sodass an dieser Stelle das System lediglich anhand der Lage von Kiessig-Oszillationen und des Bragg-Peaks charakterisiert wird. Die daraus resultierenden Dicken der Wiederholeinheiten in Abhängigkeit von der Magnesiumchlorid-

konzentration sind in Tabelle 8.10 und Abbildung 8.12 dargestellt.

Die erhaltenen Dicken der Wiederholeinheit liegen allesamt bedeutend unter den Werten für DMPC in Wasser, welche bei (64,35 - 65,17) Å lagen.

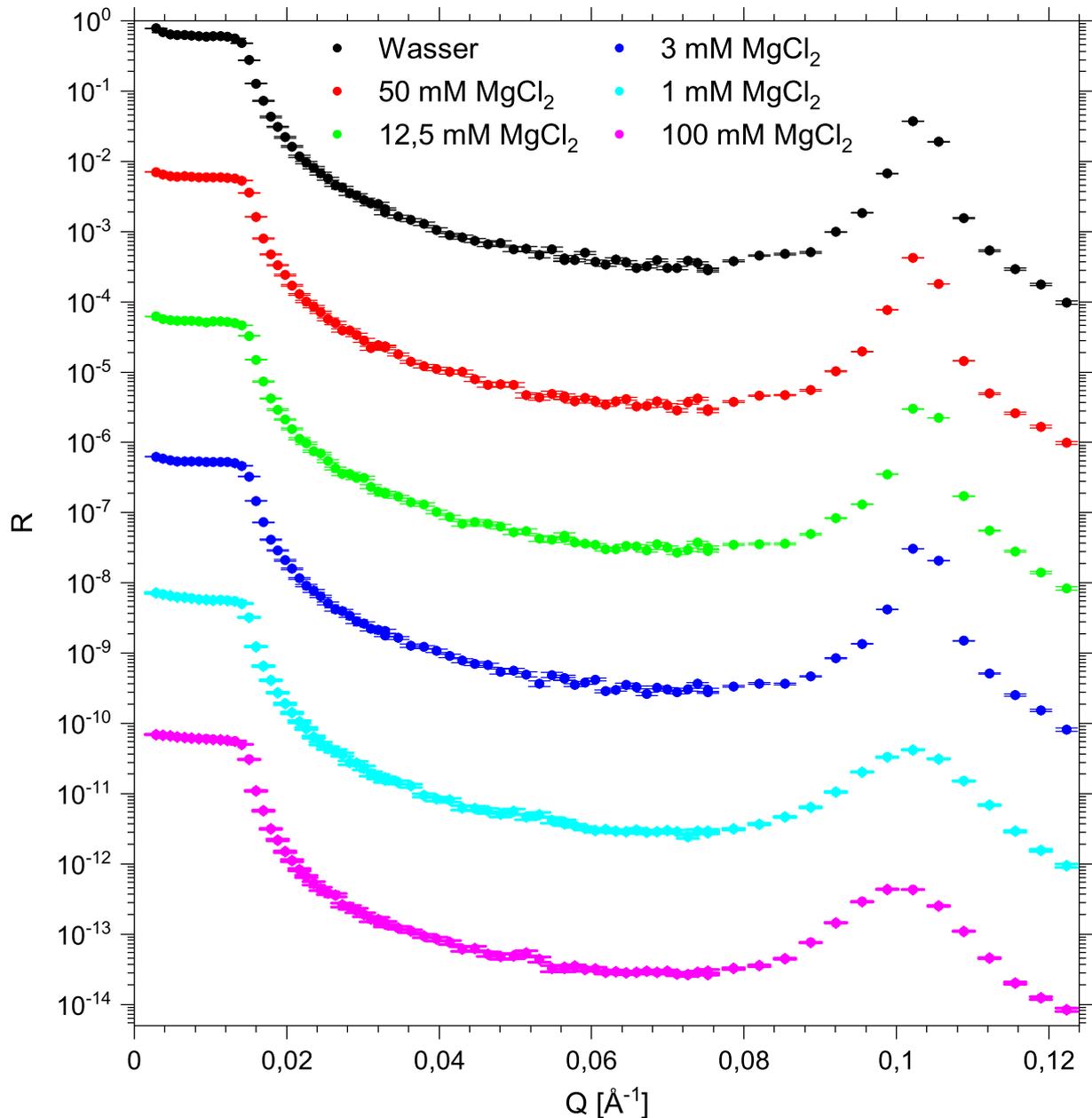


Abbildung 8.11. Es sind die NR-Daten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 50 % DMPC 50 % Chol bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen dargestellt. Zunächst wurde in schwerem Wasser gemessen, danach die Magnesiumchloridkonzentration auf 50 mM erhöht, sie dann schrittweise auf 12,5 mM, 3 mM und 1 mM abgesenkt, um sie abschließend auf 100 mM zu erhöhen. Da sich der Bragg-Peak in den letzten beiden Messungen aufgrund der starken Verbreiterung abhebt und sich die Lage des Bragg-Peaks nur minimal ändert, wurde eine chronologische Darstellung der Messungen gewählt.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.10. Parameter des Oligolipidbilagensystems bestehend aus 50 % DMPC 50 % Chol bei 20,0 °C und unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen. Aufgrund der starken Abschwächung der Kiessig-Oszillationen bei den Messungen in 1 mM und 100 mM Magnesiumchloridlösung konnte keine belastbare Gesamtschichtdicke ermittelt werden.

Magnesiumchloridkonzentration	Dicke der Wiederholeinheit [Å]	Gesamtschichtdicke [Å]
0 mM	60,93 ± 0,06	1.370 ± 10
1 mM	61,10 ± 0,08	-
3 mM	60,71 ± 0,07	1.300 ± 40
12,5 mM	60,62 ± 0,04	1.420 ± 30
50 mM	61,04 ± 0,08	1.270 ± 50
100 mM	62,05 ± 0,07	-

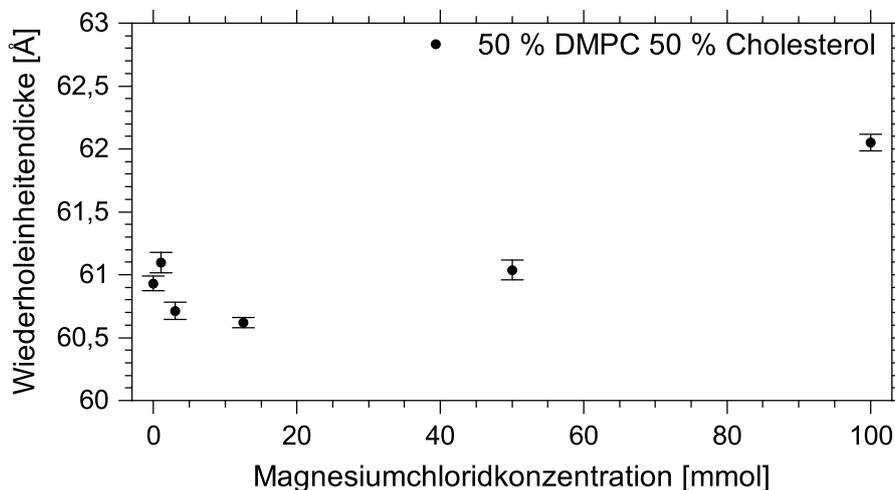


Abbildung 8.12. Ausgehend von den in Abbildung 8.11 dargestellten Daten wurden die Bragg-Peaks in RQ^4 -Darstellung angepasst und aus der Position des Maximums mit Gleichung 2.13 die Wiederholeinheitendicke bestimmt.

Die entsprechenden Gesamtschichtdicken sind in Abbildung 8.13 visualisiert.

Es bleibt festzuhalten, dass die Dicke der Wiederholeinheit und somit auch die Gesamtschichtdicke nicht - oder nur in einem sehr geringen Maß - durch die Änderung der Magnesiumchloridkonzentration beeinflusst wird. Dieser Effekt ist weitaus stärker als er alleine aufgrund der geringeren Affinität der Bilagen zu Ionen durch die Einlagerung von Chol erwartet wurde.

Dieses Ergebnis deckt sich mit den Resultaten von Inoko *et al.*, welche bei 5 °C mit nicht substratgebundenen DPPC-Oligolipidbilagen bei einem Chol-Anteil von 50 %, unabhängig von der Kalziumchloridkonzentration zwischen 0 und 1.000 mM, ebenfalls keine bemerkenswerte Änderung der Wiederholeinheitendicke feststellten.^[127] Neben der Verringerung der Einlagerungsaffinität von Kopfgruppen durch die Einlagerung von Chol ist es naheliegend, dass die gebildeten Chol-Domänen einer Quellung nicht zu-

träglich sind. Obgleich die Bragg-Peaks und Kiessig-Oszillationen bei den ersten vier Messungen klar erkennbar sind, eignet sich dieses System nicht für weitere Experimente, da die Bilagenabstände nicht - oder zumindest nicht in dem gewünschten Maße - variiert werden können.

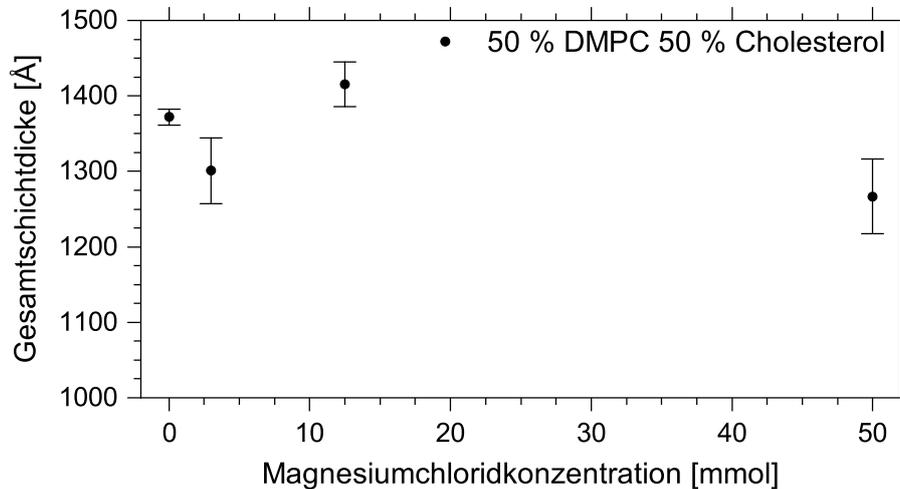


Abbildung 8.13. Ausgehend von den in Abbildung 8.11 dargestellten Daten wurden diese in eine RQ^4 -Darstellung überführt. Für die ersten vier Messungen konnte die Lage der Kiessig-Oszillationen bestimmt werden. Die Lage der Kiessig-Oszillationen wurde mit einer linearen Regression in einen durchschnittlichen Abstand der Oszillationen überführt. Dieser Schritt ist für die vier gezeigten Konzentrationen im Anhang in Kapitel F.3 in den Abbildungen F.3 - F.6 dargestellt. Die erhaltenen Steigungen wurden anschließend mit Gleichung 2.14 in eine Gesamtschichtdicke umgerechnet. Für die letzten beiden Messungen bei Magnesiumchloridkonzentrationen von 1 mM und 100 mM konnten dabei keine verlässlichen Gesamtschichtdicken bestimmt werden. Wie in Abbildung 8.11 zu sehen ist, sind die jeweiligen Bragg-Peaks breiter und die Kiessig-Oszillationen sind nur noch vereinzelt erkennbar, sodass die Gesamtschichtdicken nicht verlässlich bestimmt werden können.

8.3 Röntgenreflexionsmessungen

Mithilfe der NR-Messungen wurden viele Eigenschaften der Systeme ergründet und auch einige Änderungen des Systems durch die Interaktion mit Salzlösungen und AuNP festgestellt. Es bleibt jedoch die Frage bestehen, in welcher Form die AuNP mit dem System interagieren. Dieser Frage soll in diesem Kapitel nachgegangen werden.

Zunächst werden die Vorteile der XRR-Messungen gegenüber den NR-Messungen für die Lokalisierung von NP in Membranen dargelegt. Dafür sind in Tabelle 8.11 die SLD von AuNP für XRR-Messungen und NR-Messungen dargestellt, wobei von einer Molybdänquelle und leichtem Wasser bei XRR-Messungen und monochromatischen Neutronen, wie sie in Berlin an V6 verwendet werden, und schwerem Wasser bei NR-Messungen ausgegangen wird.^[19] Um die Interaktion mit NP zu untersuchen, werden Systeme mit 30 % Chol verwendet, da die NR-Messungen zeigten, dass bei diesem

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Chol-Gehalt die Bilagenanzahl erhalten bleibt, die angepasste Auflösung bei vielen Messungen im Bereich der Geräteauflösung liegt und dennoch eine Quellung der Systeme in 50 mM Magnesiumchloridlösung erfolgt. Die Ketten-SLD ergibt sich gemäß Tabelle 4.4.

Tabelle 8.11. NR- und XRR-SLD der wichtigsten Komponenten des Systems.^[19]

Parameter	Komponente					
	Au $d = 50 \text{ \AA}$	Mg ²⁺ -Ion	Ca ²⁺ -Ion	Kopf- gruppe trocken	Ketten- gruppe trocken	Wasser
NR-SLD [10^{-6} \AA^{-2}]	4,67	34,38	11,22	1,88	-0,25	6,38
XRR-SLD [10^{-6} \AA^{-2}]	128,43	217,21	136,12	11,05	8,93	9,43
Volumen [\AA^3]	$6,54 \cdot 10^4$	1,56	4,19	337	668	-

Wie aus Tabelle 8.11 hervorgeht, sind die SLD-Differenzen der Ionen und AuNP zu den Komponenten der Modellmembranen bei XRR-Messungen bedeutend höher als das bei NR-Messungen der Fall ist. Wie Tabelle 8.11 zudem entnommen werden kann, liegt bei NR-Messungen die SLD von Gold zwischen den SLD von trockenen Kopfgruppen und schwerem Wasser, sodass bei solvatisierten Kopfgruppen eine etwaige Einlagerung von AuNP nur geringe Änderungen der SL zur Folge hätte.

Im Folgenden werden Lösungsansätze beschrieben, mithilfe unterschiedlicher Ansätze die Anlagerungsposition der AuNP zu ergründen.

Aufgrund der Größe der NP sollte eine etwaige Einlagerung beispielsweise zu einer Vergrößerung des Kopf- oder Kettenbereichs führen. Es wäre zudem möglich, eine Kontrastanpassung der Bilagen oder des Lösungsmittels vorzunehmen. Dabei wird der Deuterierungsgrad der Komponenten so variiert, dass eine Anlagerung der NP sichtbar würde. Dabei werden beispielsweise die H-Atome der Lipide durch D-Atome ausgetauscht, sodass eine höhere SLD resultiert. Es könnte auch anstelle von reinem schwerem Wasser ein Gemisch aus schwerem und leichtem Wasser verwendet werden, um dadurch dieselbe SLD wie beispielsweise die Kopf- oder Kettengruppen zu erhalten. Gerade hinsichtlich der Lochanteile der Systeme ergeben sich durch diese Methode viele Vorteile. Die Veränderung der SLD durch eine NP-Einlagerung würde somit sichtbar werden. Ohne weitere NR-Messzeit kann dieser Frage jedoch nicht nachgegangen werden.

Alternativ drängen sich gemäß Tabelle 8.11 XRR-Messungen auf, die den enormen Vorteil bieten, dass der SLD-Unterschied von AuNP - und auch von Magnesium- oder Kalziumionen - zu allen anderen Komponenten des Oligolipidbilagensystems sehr groß ist. Das gilt neben den Kopf- und Kettengruppen auch für Wasser. Ferner sollte der sehr geringe SLD-Unterschied zwischen Kettengruppe und Lösungsmittel bereits den eben

beschriebenen Vorteil der Kontrastanpassung mit sich bringen. Eine etwaige Einlagerung der AuNP im Kopfgruppenbereich würde den Kontrast zwischen den Kopfgruppen und allen anderen Komponenten weiter erhöhen, wohingegen eine etwaige moderate Einlagerung im Kettengruppenbereich den Kontrast absenken würde. Eine stärkere Einlagerung im Kettenbereich könnte den Kontrast verschwinden lassen und eine noch stärkere Einlagerung den Kontrast wieder erhöhen.

Aus diesen Gründen werden im folgenden Unterkapitel 8.3 Oligolipidbilagensysteme mit 30 % Chol in Wasser und Magnesiumchloridlösung sowie deren Interaktion mit AuNP mithilfe von XRR-Messungen untersucht. Da mehr Messzeit zur Verfügung steht kann zudem der Einfluss des Lösungsmittels untersucht werden. Hinsichtlich biologischer Relevanz drängen sich dabei Messungen in PBS auf, da mithilfe des Puffers der pH-Wert des menschlichen Blutes simuliert^[5, S. 18 f.] und gleichzeitig die Interaktion der Membranen mit Natrium- und Kaliumionen untersucht werden kann.^[155] Durch die Verwendung von Kalziumchlorid kann der Frage nachgegangen werden, inwieweit der Austausch von Magnesiumionen durch Kalziumionen die Membraneigenschaften verändert.

Zunächst wird dabei in Abschnitt 8.3.1 das Modellsystem vorgestellt, in Unterkapitel 8.3.2 das Oligolipidbilagensystem in Wasser charakterisiert, in Abschnitt 8.3.3 die Systeme in Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung vor der NP-Zugabe charakterisiert, in Unterkapitel 8.3.4 die Interaktion der Lipide mit kleinen AuNP in Salzlösungen untersucht und in Abschnitt 8.3.5 abschließend die Wechselwirkung der Oligolipidbilagensysteme mit großen AuNP thematisiert.

8.3.1 Erweiterung des Modellsystems um den Parameter D_{w4}

Bei den XRR-Messungen wird zur Anpassung der Messdaten von demselben Modell wie bei den NR-Messungen ausgegangen. Da im Gegensatz zu den NR-Messungen die Salz- und NP-Zusätze eine grundlegende andere SLD als Wasser besitzen, wird bei den XRR-Messungen berücksichtigt, dass durch die Zusätze auch die SLD des Lösungsmittels zunimmt. Hierfür wird davon ausgegangen, dass in einem Liter Lösungsmittel 55,56 mol Wasser vorliegen und zudem - je nach Lösungsmittel - noch die entsprechenden Ionen.

Die Messdaten ließen sich sehr gut durch eine kohärente Anpassung modellieren. Da die Temperatur im Messraum am KIT durchgängig über 26,0 °C betrug, wurde in Anbetracht der AFM-Messergebnisse davon ausgegangen, dass die Filme durch die Aufbewahrung im Messraum von bis zu drei Tagen eine Topographie annehmen, die einer ausgeheizten Probe entspricht, wie sie in Kapitel 7.2 in Abbildung 7.3 dargestellt ist. Folglich kann für die Anpassungen von Filmen aus DMPC von einem kohärenten Modell mit einem vernachlässigbar geringen Wasseranteil ausgegangen werden. Für

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Filme aus 70 % DMPC 30 % Chol ist es aufgrund der deutlich geringeren Schmelzenthalpie als für DMPC-Systeme in Kapitel 7.1 fraglich, ob die Filme durch die Temperaturerhöhung eine vergleichbare Strukturänderung vollziehen.

Die Ketten-SLD liegt gemäß Tabelle 4.4 mit $8,93 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ sehr nah an der Wasser-SLD mit $9,43 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$, sodass sich die XRR-Daten nicht eignen, um verlässlich den Wassergehalt und somit den Lochanteil zu bestimmen. Bei den Anpassungen wurde jeweils ein Lochanteil angenommen, welcher im Bereich der durch NR-Messungen bestimmten Wasseranteile liegt, sodass - solange nicht anderweitig angegeben - pauschal für die Ketten von einer SLD von $9,0 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ ausgegangen wird.

Für die XRR-Messungen muss aufgrund der deutlich höheren SLD der Ionen und der NP angenommen werden, dass sich durch die Einlagerung von NP und Ionen die SLD in besagten Regionen in deutlich stärkerem Maße ändern, als das bei den NR-Messungen der Fall ist. Im Falle von NP ist es möglich, dass ein Teil des Partikels im Kopfgruppenbereich lokalisiert ist, wobei sich der Rest des Partikels in der Zwischenschicht befindet. Dies würde dann zu einer Erhöhung der SLD im Kopfgruppenbereich und der Wasserzweischicht führen. Im Falle der Bilage, die am weitesten vom Substrat entfernt ist, gibt es jedoch keine angrenzende Zwischenschicht mehr, da sie direkt an die Lösung grenzt. Damit es bei der Modellierung der Messdaten im Bereich um die äußerste Bilage möglich ist, die SLD durch eine etwaige NP-Einlagerung zu erhöhen, wird eine Zwischenschicht 4 eingefügt, die zwischen der äußersten Bilage und der Lösung liegt. Um die Anzahl an Parametern dabei nicht zu sehr zu erhöhen, werden die SLD der Zwischenschichten 1 bis 4 gekoppelt.

Im Fall von NR-Messungen ändert sich die SLD in diesem Bereich durch eine etwaige NP-Einlagerung nur in einem vernachlässigbaren Maße, da die SLD der solvatisierten Kopfgruppen, des Lösungsmittels und der NP in derselben Größenordnung liegen. Folglich ist die Einführung einer solchen Schicht bei NR-Messungen redundant. Um dennoch eine Vergleichbarkeit zu den NR-Ergebnissen zu gewährleisten, wird die Zwischenschicht 4 bei der Bestimmung der Gesamtschichtdicke nicht berücksichtigt. Das beschriebene Modell ist für den Fall vor der NP-Zugabe in Abbildung 8.14 dargestellt. Aufgrund der durchgeführten Überlegungen ist das Modell auch nach der AuNP-Zugabe noch anschlussfähig, sodass die Beeinflussung der Parameter durch die AuNP-Zugabe untersucht werden kann.

Damit das Modell auch in dieser Form nach einer etwaigen AuNP-Einlagerung verwendet werden kann, muss das Modell gewährleisten, dass die damit verbundenen SLD-Änderungen berücksichtigt werden können. Durch eine AuNP-Einlagerung in die Membran ist es aufgrund der Größe des NP naheliegend, dass auch ein Teil des NP in die angrenzende wässrige Schicht übersteht. Dies hätte zur Folge, dass auch die SLD der angrenzenden wässrigen Phase zunimmt. Durch eine Anpassung der SLD aller Komponenten des Oligolipidbilagensystems werden fast alle Bereiche abgedeckt,

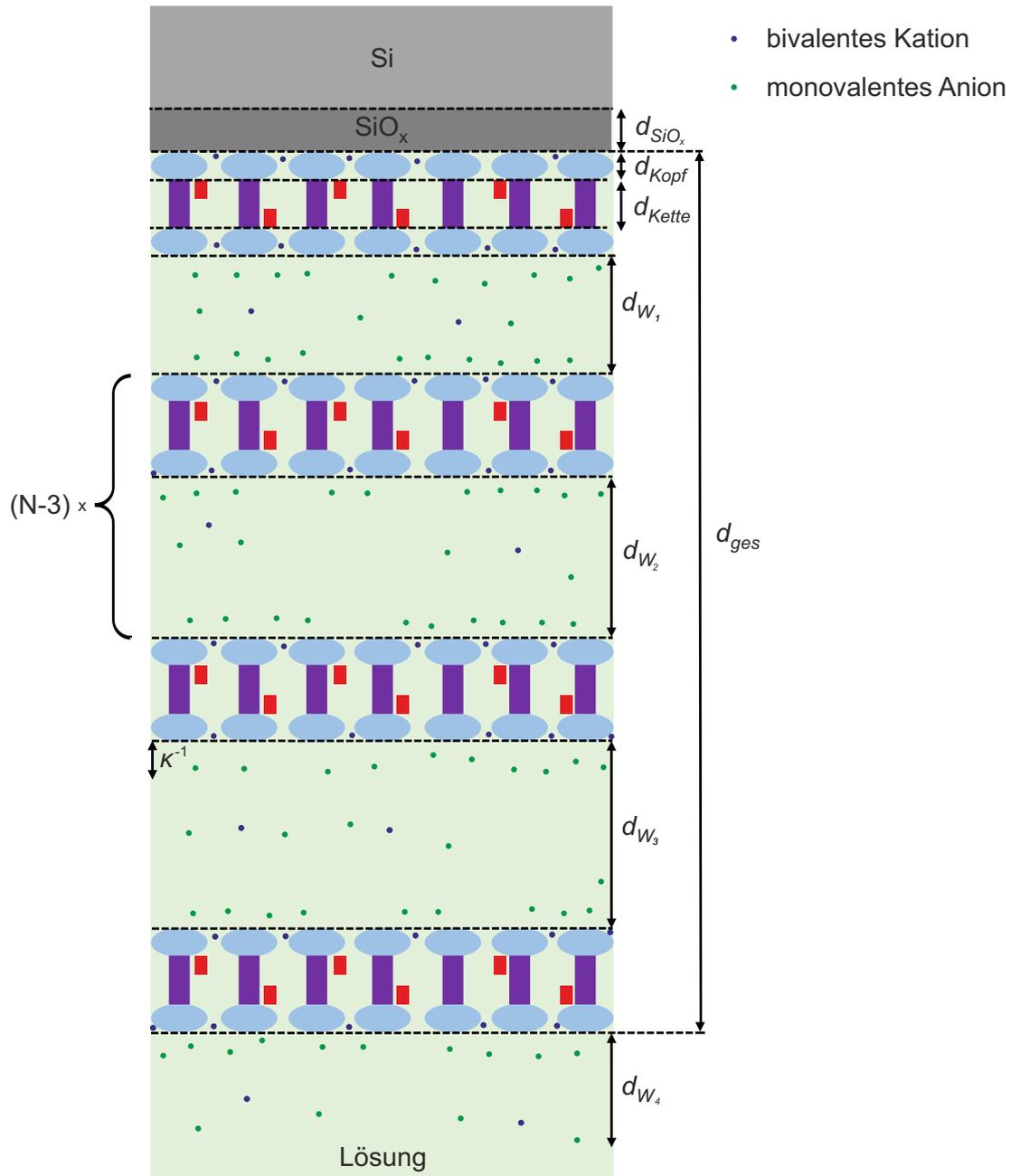


Abbildung 8.14. Dargestellt ist das Modellsystem für Oligolipidbilagensysteme mit einer Zwischenschicht 4 in Salzlösung für Salze, die in Lösung bivalente Kationen (Mg^{2+} und Ca^{2+}) und monovalente Anionen (Cl^-) bilden, und bei denen sich die Kationen im Kopfgruppenbereich einlagern. Die Grundlage für dieses zusammengesetzte Modell bilden die Modelle in Abbildung 4.6 und 4.15 sowie der in Kapitel 8.1 thematisierte Umstand, dass sich die verwendeten bivalenten Ionen im Kopfgruppenbereich einlagern. Zudem ist die Abschirmlänge κ^{-1} [57, S. 201 ff.] dargestellt. Sie gibt an, in welchem Abstand das elektrische Potential auf den $\frac{1}{e}$ -ten Teil abfällt und hängt von der Ionenstärke der Lösung, der relativen Permittivität des Mediums sowie der Temperatur ab.

in die NP herausragen können. Die einzige Stelle, an welcher diesem Umstand nicht Rechnung getragen werden kann, ist die Seite der äußersten Bilage, die in Richtung der Lösung orientiert ist. Um auch an dieser Stelle eine etwaige Erhöhung der SLD zu

8. Auswirkungen von Salzlösungen

ermöglichen, wird die in Abbildung 8.14 dargestellte Zwischenschicht 4 eingeführt. Für die Dicke dieser Schicht wird als obere Grenze dieselbe Strecke angenommen, wie sie auch in die andere Richtung der Bilage zur Verfügung steht mit $d_{W4} \leq \frac{d_{W3}}{2}$. Die Zwischenschicht 4 wird bei der Bestimmung der Gesamtschichtdicke nicht berücksichtigt, da andernfalls keine Vergleichbarkeit zu den NR-Messungen gegeben wäre.

8.3.2 70 % DMPC 30 % Chol in Wasser

Bevor die ausstehenden Fragen hinsichtlich der Interaktion der Systeme mit AuNP in Salzlösungen beantwortet werden können, wird zunächst das Oligolipidbilagensystem in Wasser - zur Überprüfung des Modellsystems - charakterisiert. Die entsprechende XRR-Messung ist in Abbildung 8.15 dargestellt. Die zugehörigen Parameter sind in Tabelle 8.12 gelistet. Zur Anpassung der SLD in den Zwischenschichten wurde der Wertebereich auf $(9,43 - 11,00) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ begrenzt. Die beste Anpassung in diesem Bereich wurde mit der unteren Grenze erzielt, die der SLD von Wasser entspricht. Ohne jegliche Grenzen würde die beste Anpassung mit einer SLD der Zwischenschichten von $(9,18 \pm 0,13) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ mit einem χ^2 -Wert von 0,74 erzielt. Die Abweichung zum Literaturwert beträgt somit 1,9 Standardabweichungen und ist nicht statistisch signifikant.

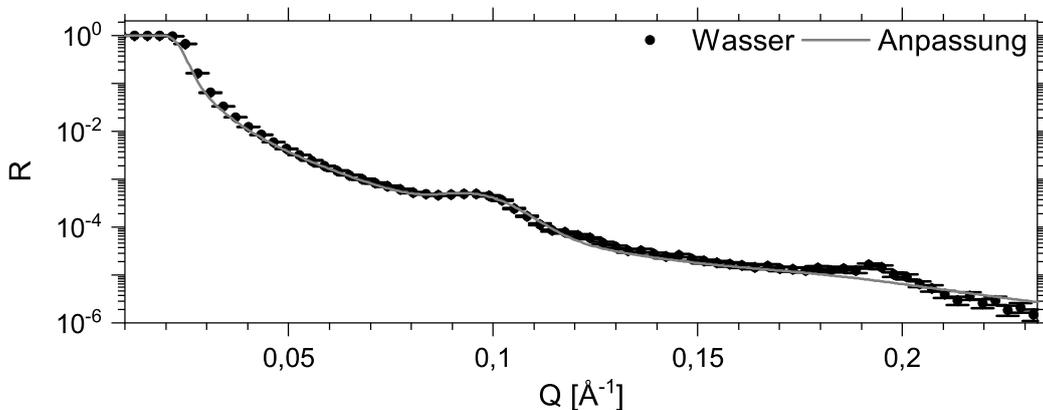


Abbildung 8.15. XRR-Messdaten eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol bei 20,0 °C mit zugehöriger Anpassung.

Wie der Abbildung 8.15 entnommen werden kann, ist für den $|\vec{q}|$ -Bereich um die Abbruchkante die Reflektivität nicht perfekt modelliert. In der Anpassung liegt die Abbruchkante bei etwas kleineren Q -Werten für als bei den Messdaten. Um eine treffendere Anpassung zu erreichen, müsste die angenommene SLD-Differenz zwischen Silizium und Wasser etwas größer sein, als das für die Literaturwerte der Fall ist. Während bei NR-Messungen die SLD des Lösungsmittels, welches in der Regel schweres Wasser ist, beispielsweise durch Anteile an leichtem Wasser verändert sein kann, ist

Tabelle 8.12. Parameter der XRR-Anpassung der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in Wasser bei 20,0 °C.

Parameter	Wasser
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	18
Σ [Å]	2 ± 3
N	13
d_{W1} [Å]	2 ± 2
d_{W2} [Å]	$11,9 \pm 0,8$
d_{W3} [Å]	37 ± 8
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å^{-2}]	$10,24 \pm 0,2$
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,43
$\rho_{SL\ W1-4}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,43
d_{Wh} [Å]	$68,8 \pm 0,8$
d_{ges} [Å]	898 ± 11
χ^2	0,89

eine solche Variationsmöglichkeit bei XRR-Messungen in leichtem Wasser nicht gegeben.

Eine physikalisch ohnehin nicht sinnvolle Verringerung der Lösungsmittel-SLD würde zwar die Anpassung im Bereich der Abbruchkante verbessern, aber eine Verschlechterung der Anpassung bei größeren Werten für Q mit sich bringen. Stattdessen werden für die SLD die Literaturwerte herangezogen, was zur Folge hat, dass die Abweichungen im Bereich der Abbruchkante bei den Anpassungen relativ stark ins Gewicht fallen wohingegen die Strukturen im Bereich der Bragg-Peaks aufgrund der geringeren Reflektivität deutlich schwächer gewichtet werden. Dieses Problem wird ein Stück weit reduziert, indem die statistischen Fehler der einzelnen Messpunkte bei den Anpassungen nicht berücksichtigt werden, da die Statistik im Bereich hoher Reflektivitäten besser ist. Obgleich die statistischen Fehler der einzelnen Messpunkte bei der Anpassung nicht berücksichtigt werden, sind sie dennoch in der Abbildung 8.15 dargestellt. Bei den folgenden Anpassungen wird analog verfahren. Durch das Vernachlässigen der Fehler unterscheiden sich die χ^2 -Werte der XRR-Messungen grundlegend von denen der NR-Messungen.

Um die Quellung von DMPC-Oligolipidbilagensystemen bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen zu komplettieren, wird das System in 100 mM Magnesiumchloridlösung mittels XRR-Messungen charakterisiert. Diese Messung ist im Anhang in Abbildung F.7 dargestellt. Die bestimmte Wiederholeinheitendicke liegt bei $(91,3 \pm 0,9) \text{ Å}$.

8.3.3 70 % DMPC 30 % Chol in 50mM Magnesiumchlorid- und 50 mM Kalziumchloridlösung

Bevor die Anpassungen der Messdaten thematisiert werden, steht zunächst die erwartete Kopfgruppen-SLD im Mittelpunkt, da diese von zentraler Bedeutung ist. Als Größe für die Kopfgruppe wird, nach wie vor, von einer solvatisierten Kopfgruppe ausgegangen. In Anbetracht der in Tabelle 8.11 dargestellten Größenverhältnisse wird angenommen, dass die Volumenzunahme der Kopfgruppe durch die Einlagerung der Ionen vernachlässigbar klein ist. Anhand der bestimmten SLD der Kopfgruppen kann die Anzahl an eingelagerten Ionen im Kopfgruppenbereich somit unmittelbar abgeleitet werden. Bei dieser Berechnung wird davon ausgegangen, dass die Kopfgruppen solvatisiert vorliegen und das Volumen der Kopfgruppe mit 8,4 Wassermolekülen 589 \AA^3 beträgt.^[86] Somit ergibt sich für die modellierte SLD der Kopfgruppe $\rho_{SL \text{ Kopf}}^m$ der in Gleichung 8.2 dargestellte Zusammenhang.

Dabei entspricht $\rho_{SL \text{ Kopf}}$ der SLD der Kopfgruppe ohne Ionen, V_K dem Volumen der Kopfgruppe ohne Ionen, N_I der Anzahl an Ionen pro Kopfgruppe und $\rho_{SL \text{ I}}$ der SLD der Ionen, deren Wert - genauso wie das Volumen der Ionen - V_I in Tabelle 8.11 gelistet ist. Wird Gleichung 8.2 nach N_I umgestellt, ergibt sich Gleichung 8.3, mit welcher sich die Anzahl an Ionen pro Kopfgruppe bestimmen lässt. Der resultierende Fehler ΔN ergibt sich mit Gaußscher Fehlerfortpflanzung und ist in Gleichung B.7 aufgeführt.

$$\rho_{SL \text{ Kopf}}^m = \frac{\rho_{SL \text{ Kopf}} \cdot V_K + \rho_{SL \text{ I}} \cdot V_I \cdot N_I}{V_K} \quad (8.2)$$

$$N_I = \frac{V_K \cdot (\rho_{SL \text{ Kopf}}^m - \rho_{SL \text{ Kopf}})}{\rho_{SL \text{ I}} \cdot V_I} \quad (8.3)$$

Filme mit 70 % DMPC 30 % Chol ohne Fehlstellen besitzen bei einer Hydratisierung in dem verwendeten Modell, was basierend auf der Publikation von Tristram-Nagle *et al.* auf Systeme mit Chol übertragen wurde, eine Kopfgruppen-SLD von $10,34 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$, während die SLD von Wasser bei $9,43 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ liegt.^{[19][86]} Die abgeschätzte Kopfgruppen-SLD passt zu einem nicht gequollenen Oligolipidbilagensystem, bei dem die Kopfgruppen solvatisiert vorliegen und der Lochanteil im System vergleichbar ist mit dem der AFM-Aufnahme in Abbildung 5.3. Die ähnliche angepasste SLD im Kopfgruppenbereich könnte auch durch die Erhöhung des Lochanteils - bei einer gleichzeitigen Anlagerung von Ionen im Kopfgruppenbereich - erklärt werden.

Für die durchgeführten Anpassungen wird vorausgesetzt, dass das in Tabelle 4.4 beschriebene Modell in Wasser genauso auf die Lipidmembranen in Salzlösungen übertragbar ist. Zudem wird angenommen, dass die SLD-Zunahme im Kopfgruppenbereich - im Vergleich zu den XRR-Messungen in Wasser - ausschließlich auf die Einlagerung von Ionen in den Kopfgruppenbereich zurückzuführen ist. Die bestimmten Unterschiede für die Dicke der Zwischenschicht 2 sind sowohl für die beiden Oligolipidbilagensys-

teme in Magnesiumchloridlösung als auch die beiden Systeme in Kalziumchloridlösung sehr gering sind. Dementsprechend wird davon ausgegangen, dass die Einlagerung der Ionen im Kopfgruppenbereich für Systeme mit dergleichen Zusammensetzung in derselben Lösung reproduzierbar ist. Zur genaueren Bestimmung der SLD der Kopfgruppen sind deshalb bei der Anpassung die SLD der Kopfgruppen und der Zwischenschichten beider Systeme in 50 mM Magnesiumchloridlösung miteinander verknüpft. Für die Anpassungen in 50 mM Kalziumchloridlösung wurde analog verfahren. Die Messdaten mit zugehörigen Anpassungen sind in Abbildung 8.16 visualisiert. Die dafür verwendeten Parameter sind in der Tabelle 8.13 dargestellt.

Generell fällt auf, dass durch die Einlagerung der Ionen in die Membranen die Rauigkeiten der Filme zunehmen und größer sind, als das beispielsweise bei den Filmen

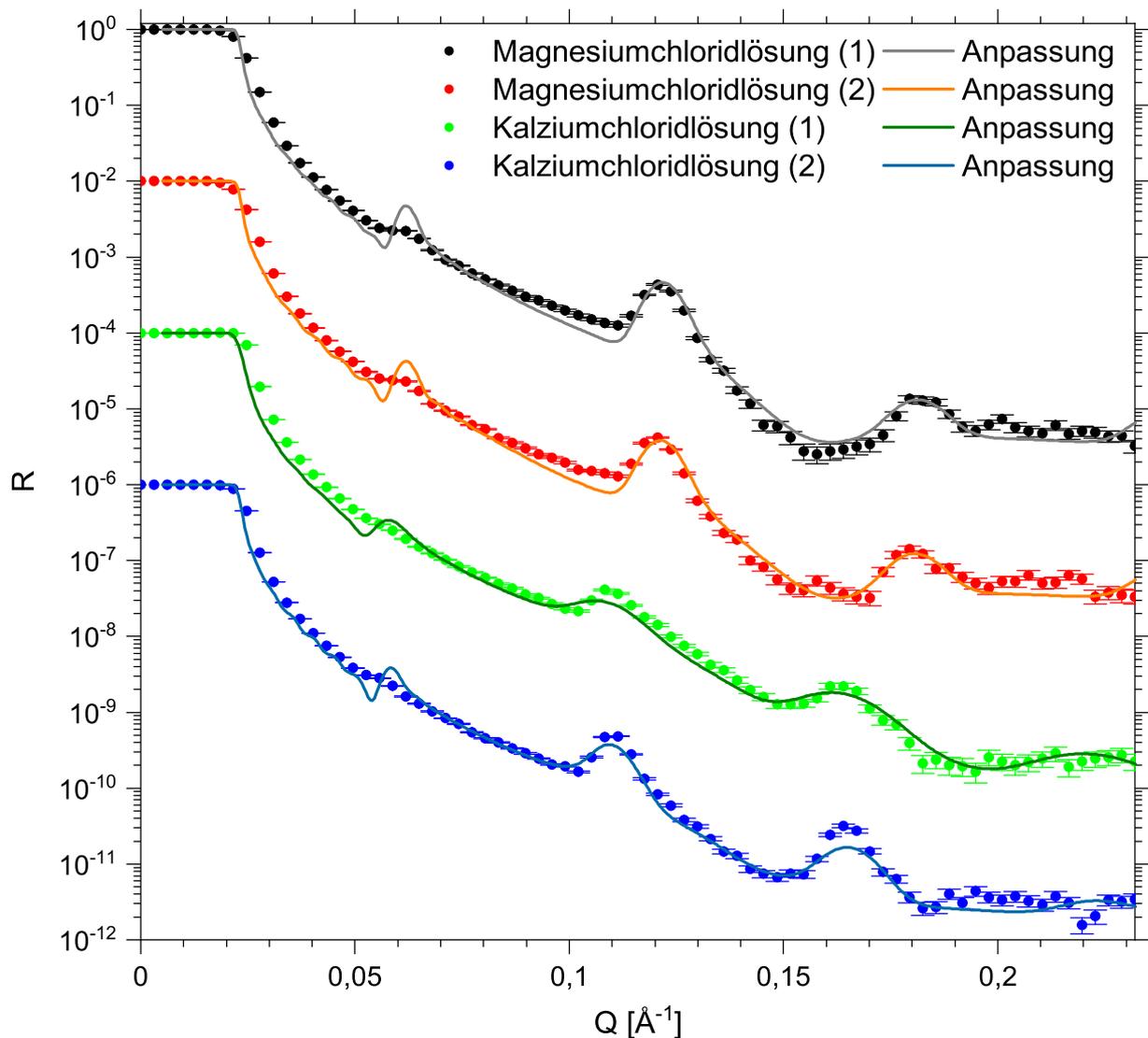


Abbildung 8.16. XRR-Messdaten von vier Oligolipidbilagensystemen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol mit zugehörigen Anpassungen bei 20,0 °C. Zwei Systeme wurden in 50 mM Magnesiumchloridlösung charakterisiert, die anderen beiden in 50 mM Kalziumchloridlösung.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.13. Parameter der XRR-Anpassungen von Oligolipidbilagensystemen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung und 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C.

Parameter	50 mM Magnesiumchloridlösung (1)	50 mM Magnesiumchloridlösung (2)	50 mM Kalziumchloridlösung (1)	50 mM Kalziumchloridlösung (2)
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7	7	12	8
Σ [Å]	4,2 ± 0,9	4,2 ± 0,9	5,3 ± 0,7	7,1 ± 0,5
N	12	10	10	12
d_{W1} [Å]	25 ± 2	26 ± 2	19 ± 3	11 ± 3
d_{W2} [Å]	46,7 ± 0,5	47,1 ± 0,4	58,4 ± 0,9	56,2 ± 0,6
d_{W3} [Å]	124 ± 5	121 ± 4	138 ± 8	137 ± 5
d_{W4} [Å]	19 ± 7	19 ± 7	56 ± 14	56 ± 14
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	10,75 ± 0,14	10,75 ± 0,14	11,05 ± 0,15	11,05 ± 0,15
Ionen pro Kopfgruppe	0,86 ± 0,29	0,86 ± 0,29	0,89 ± 0,19	0,89 ± 0,19
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,0	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,47	9,47	9,48	9,48
$\rho_{SL\ W1-4}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,90 ± 0,05	9,90 ± 0,05	10,11 ± 0,08	10,11 ± 0,08
d_{Wh} [Å]	103,6 ± 0,5	104,0 ± 0,4	115,3 ± 0,9	113,1 ± 0,6
d_{ges} [Å]	1.356 ± 7	1.150 ± 5	1.135 ± 11	1.337 ± 8
χ^2	1,40	1,42	1,17	1,06

derselben Zusammensetzung mit 70 % DMPC 30 % Chol in Wasser in den Tabellen 6.5 und 8.12 der Fall ist. Wie aus der Tabelle 8.13 hervorgeht, resultiert für das 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystem in einer 50 mM Kalziumchloridlösung ein höherer Bilagenabstand als das in 50 mM Magnesiumchloridlösung der Fall ist. Das deckt sich mit den Ergebnissen nicht substratgebundener DPPC-Oligolipidbilagensysteme der Literatur.^[127] Zudem sind gemäß Kant De *et al.* die ζ -Potentiale von Bilagensystemen mit PC-Kopfgruppen - wie auch DMPC in 40 mM Kalziumchloridlösungen - stärker positiv als in Magnesiumchloridlösungen derselben Konzentration, sodass die daraus resultierende stärkere Einlagerung von bivalenten Ionen einen größeren Gleichgewichtsabstand erklärt.^[156]

In Kalziumchloridquellen die Filme gemäß der Abbildung 8.16 und den Tabellen 8.14 und 8.15 stärker als in Magnesiumchlorid. Inoko *et al.* erhielten für nicht substratgebundene DPPC-Systeme Ergebnisse, die in dieselbe Richtung weisen, wie die vorliegenden Messungen an substratgebundenen 70 % DMPC 30 % Chol.^[127] Zudem erhielten Marra *et al.* für die Adsorption von Magnesiumionen und Kalziumionen auf DMPC bei 16 °C für Kalziumionen eine höhere Assoziierung an die Membranen als

für Magnesiumionen.^[157] Lis *et al.* fanden ebenfalls, dass bei gleichen Konzentrationen Kalziumionen stärker an DPPC Moleküle binden, als das bei Magnesiumionen der Fall ist.^[158] Es ist daher davon auszugehen, dass in einer 50 mM Kalziumchloridlösung mehr Kalziumionen in die Membran eingelagert werden, als bei einer 50 mM Magnesiumchloridlösung für Magnesiumionen, was die gefundenen höheren Quellungen um 10 Å gemäß Tabelle 8.13 erklärt.

Aus den XRR-Messungen geht zwar hervor, dass die Anpassungen in 50 mM Magnesiumchloridlösung und in 50 mM Kalziumchloridlösung deutlich besser werden, wenn für die Kopfgruppen eine höhere SLD angenommen wird, als das für Kopfgruppen in Wasser der Fall ist. Dennoch erscheint die Anzahl an Ionen pro Kopfgruppe etwas hoch - zumal durch die Anwesenheit von Chol eine geringere Einlagerung im Kopfgruppenbereich erwartet wird, als bei Systemen, die nur aus DMPC bestehen. Bei der Bestimmung der Anzahl an Ionen pro Kopfgruppe wurde davon ausgegangen, dass sich ausschließlich bivalente Ionen im Kopfgruppenbereich einlagern. Da bei vielen Anpassungen der erhaltene Wert für die Ketten-SLD im Bereich von $9,0 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ lag und die Ketten-SLD sich auch mit einem höheren oder geringeren Wasseranteil nur schwach ändert, wurde dieser Wert festgesetzt, um die Anzahl verwendeter Parameter bei den Anpassungen zu reduzieren. Dieser entspricht einem Wasseranteil von 17 %.

Etwaige Einlagerungen der monovalenten Anionen nahe der bivalenten Kationen werden dabei nicht berücksichtigt. Da die SLD somit ausschließlich auf die Einlagerung an bivalenten Kationen zurückgeführt wird, ist davon auszugehen, dass der ermittelte den wahren Wert etwas übersteigt, da angenommen werden kann, dass ein Teil der SLD-Zunahme auch auf die Anwesenheit von Anionen nahe der eingelagerten Kationen zurückzuführen ist. Anhand der Gleichungen 8.3 und B.7 wurden die in Tabelle 8.13 gelisteten Ionen pro Kopfgruppe abgeleitet.

Kucerka *et al.* erhalten für DPPC-Bilagen unter der Annahme, dass pro Kopfgruppe ein Magnesiumion einlagerbar ist, bereits bei einer Konzentration von 10 mM Magnesiumchloridlösung Anlagerungen, die mit 0,93 Ionen pro Kopfgruppe in einem ähnlichen Bereich liegen, wie sie in Tabelle 8.13 ermittelt sind. Hierbei sollte berücksichtigt werden, dass zwar die verwendete Ionenstärke bei den XRR-Messungen fünfmal höher ist als in der aufgeführten Literatur war, aber dass auf der anderen Seite durch die Einlagerung von Chol in die Bilagen die Affinität der Bilagen zur Aufnahme von Ionen sinkt.^{[125][150]}

Um die Einlagerung von AuNP quantifizieren zu können, ist es unerlässlich, den Referenzwert für die SLD der Kettengruppen, Kopfgruppen und Zwischenschichten vor NP-Zugabe zu kennen. Für die Anpassung der Messdaten des Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC und 30 % Chol in Wasser wird gemäß Kapitel 8.3.2 für die angepasste SLD der Zwischenschichten der Wert der unteren Grenze erhalten, welcher der SLD von Wasser entspricht. Ohne besagte untere Grenze wird ein etwas

8. Auswirkungen von Salzlösungen

geringerer Wert gewonnen, der knapp zwei Standardabweichungen darunter liegt. Bei den Messungen mit Magnesiumchlorid und Kalziumchlorid werden SLD für die Zwischenschichten erhalten, die deutlich größer sind, als die Literaturwerte für die entsprechende Lösung $\rho_{SL\ LM}$. Wird hingegen für die Zwischenschicht eine etwas niedrigere SLD angenommen, die eher dem Wert von $\rho_{SL\ LM}$ entspricht, resultieren schlechtere Anpassungen der Messdaten, wie den Abbildungen F.9 und F.8 sowie den Tabellen F.5 bis F.3 im Anhang zu entnehmen sind.

Wird die Zunahme der angepassten SLD in den Zwischenschichten auf die Präsenz von Ionen zurückgeführt, kann aus den ermittelten SLD auf die Konzentrationen der Ionen in den Zwischenschichten geschlossen werden. Diese lägen bei (590 ± 70) mM und (730 ± 80) mM.

Bei solchen Ionenkonzentrationen in den Zwischenschichten resultiert ein unrealistisch hoher osmotischer Druck gegenüber der restlichen Lösung. Unter Anwendung des Van't Hoff'schen Gesetzes und unter Berücksichtigung, dass sich nach dem Lösen von Kalziumchlorid doppelt so viele Chloridanionen wie Kalziumionen in der Lösung befinden, resultiert für das Oligolipidbilagensystem in 50 mM Kalziumchloridlösung der in Gleichung 8.4 bestimmte, unphysikalisch hohe osmotische Druck Π . Dabei bezeichnet Δc den Konzentrationsunterschied, R die universelle Gaskonstante und T die Temperatur.^[57, S. 347]

$$\Pi = 3 \cdot \Delta c \cdot R \cdot T = 3 \cdot 680 \frac{\text{mol}}{\text{m}^3} \cdot 8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \cdot 293 \text{ K} \approx 5 \text{ MPa} \quad (8.4)$$

Der in Gleichung 8.4 bestimmte osmotische Druck ist deutlich größer, als es für ein stabiles System physikalisch sinnvoll wäre. Veranschaulicht wird dies dadurch, dass der hier berechnete osmotische Druck deutlich größer ist als der in anderen Veröffentlichungen verwendete osmotische Druck, der angelegt wird, um die Bilagen sehr stark zusammenzudrücken.^{[133][159]}

Somit bleibt festzuhalten, dass die Anpassung der SLD im Zwischenschichtbereich ohne die Verwendung von Grenzen einen unphysikalisch hohen Wert liefert. Das verwendete Modell beschreibt die Systeme daher nicht exakt. Es wird davon ausgegangen, dass durch die Erhöhung der SLD im Zwischenschichtbereich eine auftretende Abweichung zwischen dem realen System und dem Modellsystem verringert werden kann, obgleich nicht klar ist, was die ausschlaggebende Abweichung der Messdaten und dem zugrunde liegenden Modell verursacht.

Die Bestimmung der SLD ohne die Verwendung von Grenzen ist jedoch unabdingbar für die Lokalisierung der AuNP-Einlagerung. Würden beispielsweise vor der AuNP-Zugabe für die Anpassung der SLD im Bereich der Zwischenschichten Grenzen gesetzt, resultierte bei der Anpassung der Wert, welcher zuvor als obere Grenze gewählt wurde. Würde dann nach der AuNP-Zugabe keine obere Grenze mehr gesetzt, ergäbe

sich für die SLD der Zwischenschichten eine höhere SLD als zuvor. Diese Zunahme wäre jedoch zum größten Teil nicht auf die AuNP zurückzuführen, sondern auf das Wegfallen der oberen Grenze. Es ist daher nicht möglich, eine obere Grenze für $\rho_{SL} w_{1-4}$ zu verwenden, wenn bei einer folgenden AuNP-Zugabe die etwaige Einlagerung der NP quantifiziert werden soll.

Die erhaltenen SLD-Profile für die Systeme in 50 mM Kalziumchloridlösung und 50 mM Magnesiumchloridlösung sind in Abbildung 8.17 exemplarisch für die beiden Systeme (2) dargestellt. Trotz der etwas größeren angepassten Kopfgruppen-SLD für das System in Kalziumchloridlösung wird im SLD-Profil für das Pendant in Magnesiumchloridlösung - aufgrund der etwas geringeren Rauigkeit - eine höhere SLD im Bereich der Kopfgruppen erreicht.

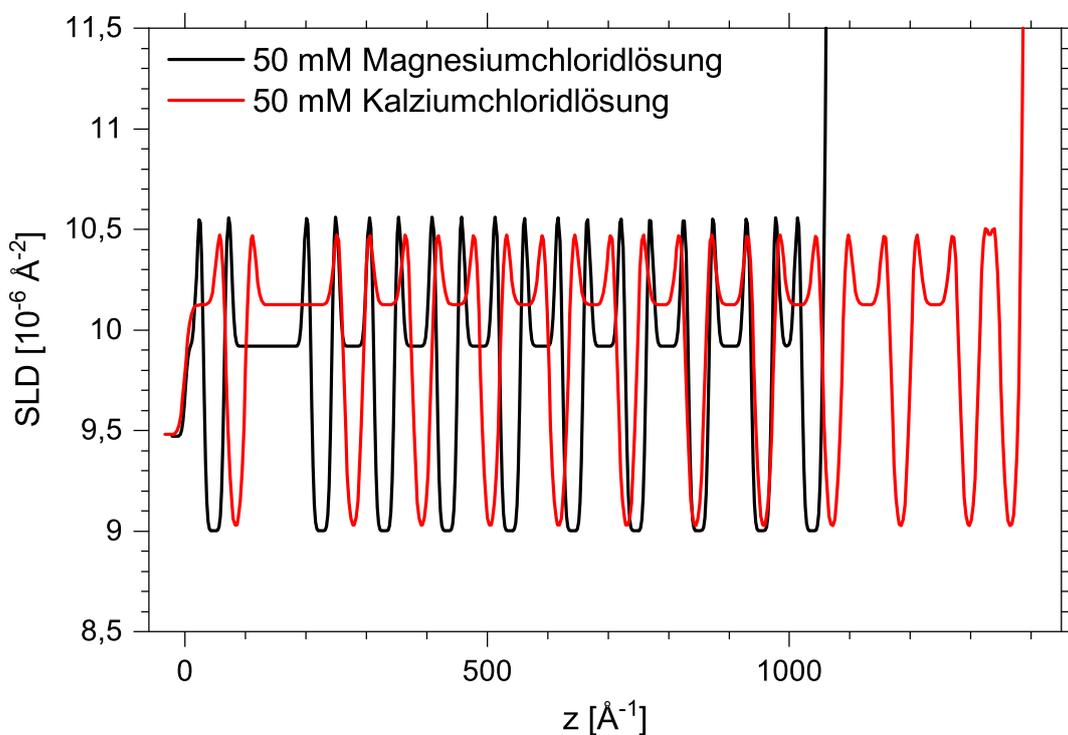


Abbildung 8.17. Aus den Anpassungen in Abbildung 8.16 erhaltenes SLD-Profil der beiden Oligolipidbilagensysteme (2) bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol. Eines davon wurde in 50 mM Magnesiumchloridlösung und das andere in 50 mM Kalziumchloridlösung gemessen. Die SLD sind für das System in Kalziumchloridlösung im Bereich der Zwischenschichten höher, aber im Kopfgruppenbereich durch die höhere Rauigkeit etwas geringer.

Nach der Untersuchung der Einlagerung von Kalzium- und Magnesiumionen in die Kopfgruppen soll im Folgenden die Einlagerung der AuNP untersucht werden. Zunächst wird die Interaktion mit kleinen AuNP in Unterkapitel 8.3.4 thematisiert, wohingegen in Kapitel 8.3.5 auf die Interaktion von 70 % DMPC 30 % Chol in Magnesiumchlorid-, Kalziumchlorid- und PBS-Lösung mit großen AuNP eingegangen wird.

8.3.4 Interaktion mit kleinen AuNP

Gemäß Tabelle 8.11 und der Diskussion in Kapitel 8.3.1 wird für die Einlagerung von AuNP eine SLD-Änderung des Systems erwartet. Alternativ zu dem dort beschriebenen Modell besteht auch die Möglichkeit, eine weitere Schicht innerhalb der Wiederholeinheit einzufügen. Diese läge oberhalb des Kopfgruppenbereichs, kann jedoch maximal halb so dick sein wie die innerste Zwischenschicht. Die Einführung dieses neuen Modells bringt jedoch den inhärenten Nachteil mit sich, dass pro Wiederholeinheit sechs Komponenten (NP-Schicht, Kopfgruppe, Kettenbereich, Kopfgruppe, NP-Schicht, Wasser) auftreten, anstelle der bisherigen vier (Kopfgruppe, Kettenbereich, Kopfgruppe, Wasser). Der offenkundigste Unterschied zu dem bisher verwendeten Modell wäre, dass durch mehr Komponenten und gleichbleibende Rauigkeit innerhalb einer Wiederholeinheit mehr Übergänge und somit ein stärkeres Verwaschen der SLD als bisher eintreten würde.

Bei dem Sechs-Komponenten-Modell zeigte sich bei den Anpassungen, dass die modellierte Rauigkeit geringer ist als bei dem Vier-Komponenten-Modell. Dies hat unter der Annahme gleicher Rauigkeiten bei allen Übergängen zur Folge, dass im SLD-Profil der Übergang des Kettengruppenbereichs zu den Kopfgruppen beim Sechs-Komponenten-Modell - aufgrund der generellen Abnahme der Rauigkeiten - deutlich härter ist. Die Vergleichbarkeit zu den in der Arbeit durchgeführten Anpassungen wäre somit nicht gewährleistet. Aus diesem Grund wird die Anzahl an Komponenten nicht verändert und es wird weiterhin mit dem Vier-Komponenten-Modell gearbeitet.

Anstelle einer neuen Schicht werden daher lediglich die SLD der Ketten-, Kopfgruppen und Zwischenschichten angepasst. Dabei wird davon ausgegangen, dass die SLD innerhalb einer jeweiligen Komponente - Kettengruppenbereich, Kopfgruppe und Zwischenschicht - für alle Bilagen näherungsweise gleich sei. In Abbildung 8.18 sind die XRR-Daten zweier DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit 30 % Chol dargestellt. Einem System wurden in 50 mM Magnesiumchloridlösung und dem anderen in 50 mM Kalziumchloridlösung AuNP zugegeben. Durch die in Abbildung 8.18 dargestellten Modellierungen wurden die Parameter, welche für die Magnesiumchloridlösung in Tabelle 8.14 und für Kalziumchloridlösung in Tabelle 8.15 dargestellt sind, abgeleitet.

Wie aus Tabelle 8.14 ersichtlich wird, nimmt die angepasste Rauigkeit des Systems durch die Zugabe der AuNP sowie die Erhöhung der AuNP-Konzentration weiter zu, während die angepasste Auflösung mit beiden AuNP-Zugaben abnimmt. Dabei ist die Zunahme der Rauigkeit durch die Erhöhung der AuNP-Konzentration von 0 auf $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP statistisch signifikant. Dasselbe gilt für die Dicke der Zwischenschichten, welche bei der geringen AuNP-Konzentration um 3,9 Standardabweichungen größer ist als zuvor.

Hingegen ist die Zunahme der Kopfgruppen- und besonders der Zwischenschichten-

SLD nicht statistisch signifikant. Die bestimmte SLD der Zwischenschichten und die SLD der Kopfgruppen lagen für die geringe und hohe AuNP-Konzentration in einem ähnlichen Bereich, wobei die jeweiligen Fehler sehr hoch waren. Um die Streuung zu

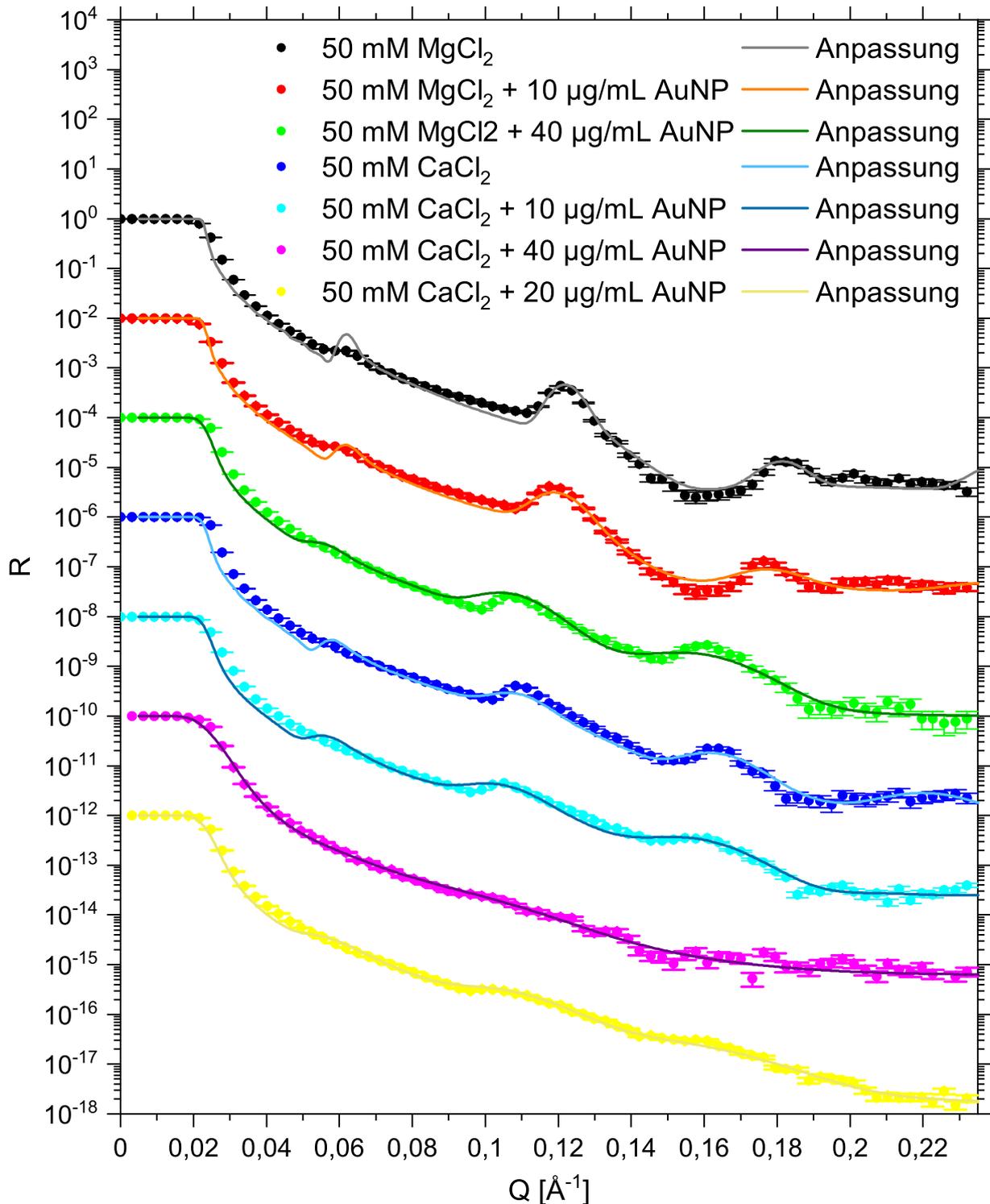


Abbildung 8.18. Dargestellt sind die XRR-Daten zweier Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung und 50 mM Kalziumchloridlösung, denen anschließend die in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 1 mit einem ungefähren Durchmesser von 42 \AA zugegeben wurden.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.14. Parameter der XRR-Anpassungen der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach der AuNP-Zugabe.

Parameter	ohne AuNP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7	12	20
Σ [Å]	4,2 ± 0,7	7,5 ± 0,7	8,4 ± 0,6
N	12	12	12
d_{W1} [Å]	25 ± 2	15 ± 3	31 ± 6
d_{W2} [Å]	46,7 ± 0,5	49,0 ± 0,7	63,6 ± 1,0
d_{W3} [Å]	124 ± 5	130 ± 5	180 ± 40
d_{W4} [Å]	19 ± 7	19 ± 7	19 ± 7
$\rho_{SL \text{ Kopf}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	10,75 ± 0,14	11,36 ± 0,23	11,36 ± 0,23
$\rho_{SL \text{ Kette}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL \text{ LM}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,47	9,47	9,47
$\rho_{SL \text{ W1-4}}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,90 ± 0,05	9,99 ± 0,09	9,99 ± 0,09
d_{Wh} [Å]	103,6 ± 0,5	105,9 ± 0,7	120,5 ± 1,0
d_{ges} [Å]	1.356 ± 7	1.375 ± 9	1.590 ± 40
χ^2	1,40	1,09	1,09

minimieren, wurden für die Anpassungen dieser beiden Datensätze, mit geringer und hoher NP-Konzentration, $\rho_{SL \text{ W1-4}}$ und $\rho_{SL \text{ Kopf}}$ jeweils miteinander gleichgesetzt. Der Grund hierfür ist, dass ohne die Verwendung von Grenzen für die hohe AuNP-Konzentration um weniger als eine Standardabweichung geringere SLD erhalten wurden als das für die geringe AuNP-Konzentration der Fall war. Da bei einer stärkeren Quelle und demselben Lochanteil die SLD im Zwischenschicht- und Kopfgruppenbereich nicht abnehmen sollte, wurden diese Größen vor der abschließenden Anpassung miteinander verknüpft. Die SLD-Profile des Oligolipidbilagensystems in 50 mM Magnesiumchloridlösung vor der AuNP-Zugabe und mit der hohen NP-Konzentration sind in Abbildung 8.19 dargestellt.

Eine detaillierte Diskussion der AuNP-Einlagerung erfolgt anschließend an eine Beschreibung der Systeme in 50 mM Kalziumchloridlösung. Gemäß Tabelle 8.15 nehmen durch die Zugabe der in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 1 in 50 mM Kalziumchloridlösung die Zwischenschichtdicken, die Kopfgruppen-SLD und die SLD der Zwischenschichten zu. Aufgrund der großen Fehler sind die jeweiligen Änderungen in Bezug auf die Messung ohne AuNP nicht statistisch signifikant. Neben der abnehmenden Auflösung ist lediglich die modellierte Rauigkeit bei einer AuNP-Konzentration von 40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ statistisch signifikant höher, als das bei 20 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und ohne AuNP der Fall war. Analog zum Vorgehen bei 50 mM Magnesiumchlorid wurden $\rho_{SL \text{ W1-4}}$ und $\rho_{SL \text{ Kopf}}^m$ bei den AuNP-Konzentrationen von 10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und 20 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ miteinander verknüpft. Es ist bemerkenswert,

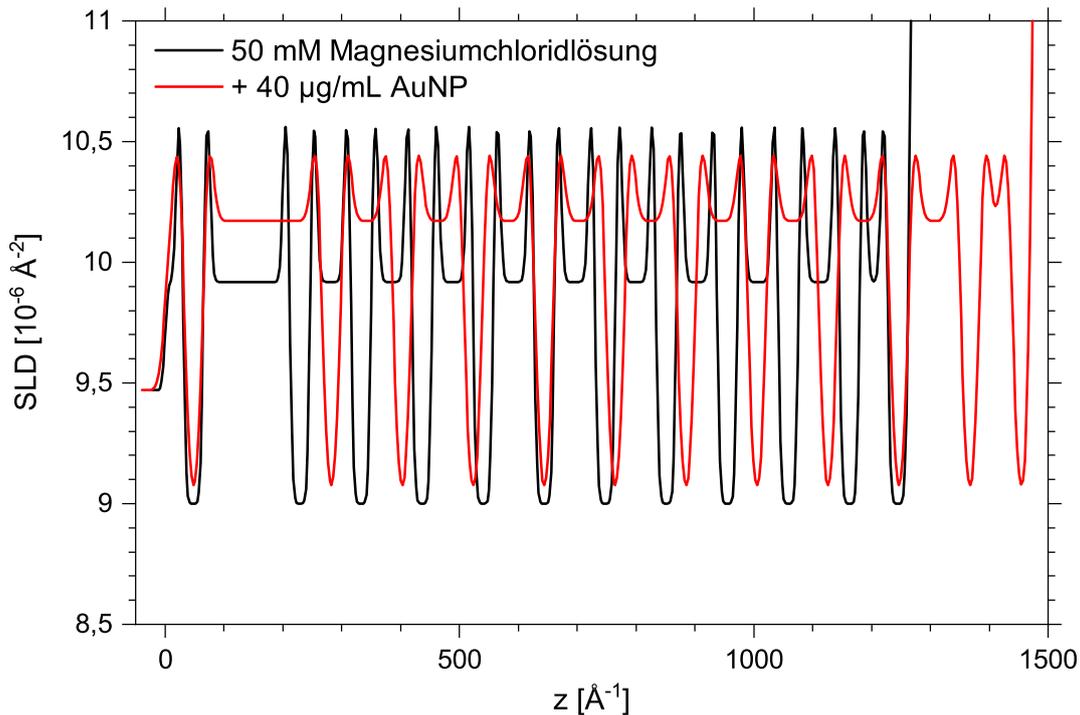


Abbildung 8.19. Aus den Anpassungen in Abbildung 8.18 erhaltene SLD-Profile eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung vor der AuNP Zugabe und bei einer NP-Konzentration von $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Klar zu erkennen sind die höheren SLDs im Bereich der Zwischenschichten. Zudem ist die höhere Rauigkeit durch die Anwesenheit der AuNP. Bei höheren Werten für z auch der etwas größere Bilagenabstand mit NP durch den auftretenden Versatz der Profile zueinander ersichtlich. Die höhere Rauigkeit macht sich besonders dadurch bemerkbar, dass die Zunahme der Kopfgruppen-SLD durch die höhere Rauigkeit verschleiert wird.

dass durch die Verringerung der AuNP-Konzentration von $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ auf $20 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ die angepasste Auflösung, mit der das Oligolipidbilagensystem charakterisiert werden kann, deutlich besser wird. Dies deutet eine Reversibilität für Systeme mit einem Chol-Gehalt von 30 % an, wobei für eine verlässlichere Aussage deutlich mehr Messungen hinsichtlich dieser Fragestellung durchgeführt werden müssten.

Die resultierenden SLD-Profile für 50 mM Magnesiumchloridlösung, $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ sowie $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP sind in Abbildung 8.20 dargestellt.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.15. Parameter der XRR-Anpassungen von Oligolipidbilagensystemen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach den Zugaben von AuNP.

Parameter	ohne AuNP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	20 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	12	19	28	43
Σ [Å]	5,3 ± 0,7	5,4 ± 0,3	6,3 ± 0,3	11,7 ± 0,9
N	10	10	10	10
d_{W1} [Å]	19 ± 3	24 ± 3	27 ± 5	20 ± 10
d_{W2} [Å]	58,4 ± 0,9	63,9 ± 1,1	64,6 ± 2,0	74 ± 5
d_{W3} [Å]	138 ± 8	142 ± 13	200 ± 80	200 ± 200
d_{W4} [Å]	56 ± 14	56 ± 14	56 ± 14	56 ± 14
$\rho_{SL}^m \text{ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	11,05 ± 0,16	11,60 ± 0,30	11,60 ± 0,30	12,08 ± 0,66
$\rho_{SL} \text{ Kette}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,0	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL} \text{ LM}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,48	9,48	9,48	9,48
$\rho_{SL} \text{ W1-4}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	10,11 ± 0,08	10,42 ± 0,11	10,42 ± 0,11	10,42 ± 0,90
d_{Wh} [Å]	115,3 ± 0,9	120,8 ± 1,1	121,1 ± 1,9	131 ± 5
d_{ges} [Å]	1.135 ± 11	1.183 ± 15	1.250 ± 100	1.300 ± 200
χ^2	1,17	0,92	0,39	1,65

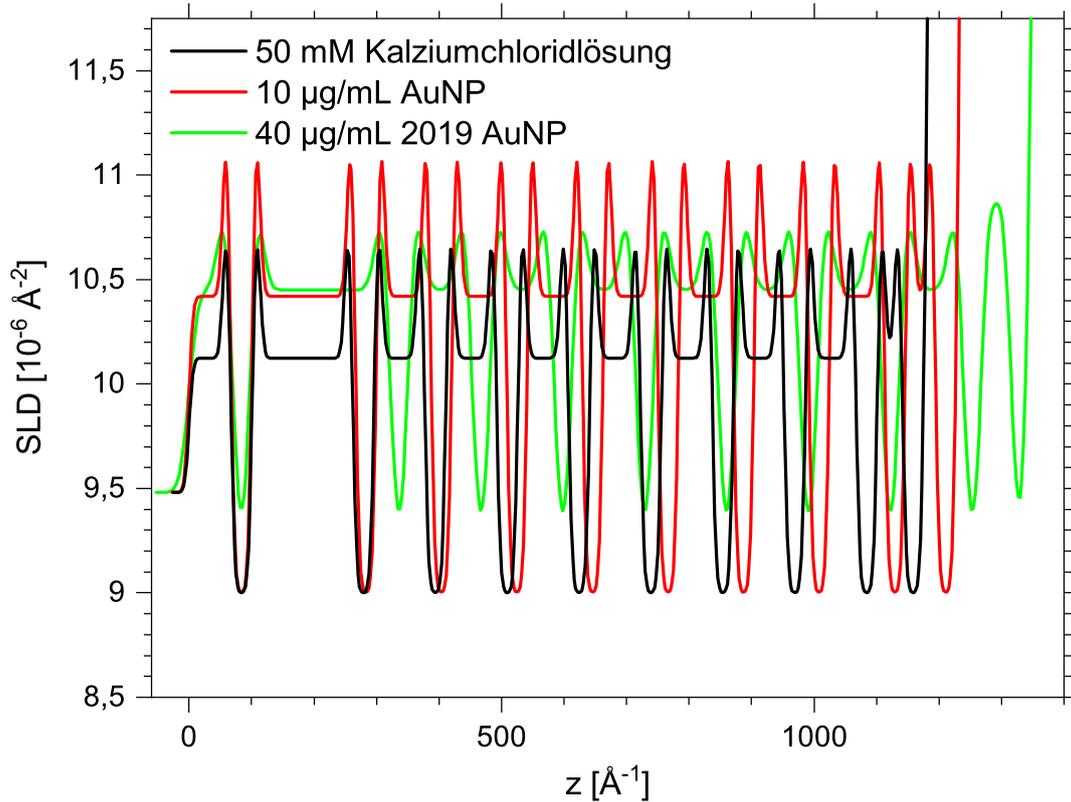


Abbildung 8.20. Aus den Anpassungen in Abbildung 8.18 erhaltenes SLD-Profil eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Kalziumchloridlösung vor der AuNP Zugabe, bei einer NP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ und $40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Die Veränderung des SLD-Profiles durch die Zugabe der geringen NP-Konzentration ist sowohl im Bereich der Zwischenschichten als auch in den Kopfgruppen klar erkennbar, da die Rauigkeit bei der Anpassung gleich blieb. Ein völlig neues Bild liefert das erhaltene SLD-Profil für die hohe AuNP-Konzentration. Bereits beim Übergang zwischen Lösungsmittel, der in Kapitel 8.3.1 eingeführten Schicht 4 und der äußersten Kopfgruppe ist erkennbar, dass durch die enorm hohe Rauigkeit die SLD stark verschmiert. Die Rauigkeit ist im Vergleich zu den Dicken der Komponenten so groß, dass die angepassten SLD im SLD-Profil lediglich für $\rho_{SL W1-4}$ erreicht werden und abgelesen werden können.

Um von der SLD-Zunahme in den Tabellen 8.14 und 8.15 auf das Volumenverhältnis von AuNP zum Lösungsmittel $\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}$ zu schließen, werden die in Tabelle 8.11 gelisteten SLDs und Gleichung 8.7 verwendet. Dabei wird davon ausgegangen, dass die SLD-Änderungen ausschließlich auf die Einlagerung von AuNP zurückzuführen ist und die Anzahl an Ionen im Bereich der Zwischenschichten näherungsweise konstant bleibt. Um Gleichung 8.7 zu erhalten, wurde ausgehend von dem allgemeinen Ansatz in Gleichung 8.5 angenommen, dass $V_{ges} \approx V_{LM}$, sodass sich Gleichung 8.6 ergibt. Dementsprechend resultiert aus der Umstellung von Gleichung 8.6 nach dem gesuchten Volumenverhältnis unmittelbar Gleichung 8.7 mit dem zugehörigen Fehler in Gleichung B.8.

$$\rho_{SL ges} \cdot V_{ges} = \rho_{SL LM} \cdot V_{LM} + \rho_{SL Au} \cdot V_{AuNP} \quad (8.5)$$

8. Auswirkungen von Salzlösungen

$$V_{LM} \cdot (\rho_{SL ges} - \rho_{SL LM}) = V_{AuNP} \cdot \rho_{SL Au} \quad (8.6)$$

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}} = \frac{\rho_{SL ges} - \rho_{SL LM}}{\rho_{SL Au}} \quad (8.7)$$

Das Verhältnis $\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}$ kann somit bestimmt werden und ist in den Gleichungen 8.8 und 8.9 dargestellt.

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}} \left(\text{Magnesiumchloridlösung, } 10/40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = \frac{1}{1.430} \pm \frac{1}{1.250} \quad (8.8)$$

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}} \left(\text{Kalziumchloridlösung, } 10/20/40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = \frac{1}{410} \pm \frac{1}{940} \quad (8.9)$$

Der Volumenanteil des Lösungsmittels ist somit in den Zwischenschichten um den Faktor 410 bis 1.430 größer als der Volumenanteil der AuNP. Die angepasste SLD für den Kettengruppenbereich läuft in sechs von sieben Fällen in die untere Grenze, wobei im übrigen Fall die angepasste SLD mit $(8,93 \pm 0,13) \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ nur minimal oberhalb der unteren Grenze von $8,91 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ liegt. Dementsprechend wird davon ausgegangen, dass sich die hydrophilen AuNP nicht im Kettenbereich der Oligolipidbilagen einlagern. Um die Anzahl an angepassten Parametern zu reduzieren, wird bei den finalen Anpassungen für die Ketten-SLD $9,0 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ verwendet. Auf diese Weise wurden die in Tabelle 8.15 gelisteten Parameter erhalten. Dabei war bei den angepassten SLD der Kopfgruppen eine Zunahme zu beobachten. Da die modellierten SLD sehr viel näher an den SLD der Kopfgruppen als an denen von den AuNP liegen, wird für diese grobe Abschätzung analog zur Bestimmung der Volumenanteile des Lösungsmittels vorgegangen. Die Verhältnisse $\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}$ sind den Gleichungen 8.10 - 8.12 zu entnehmen.

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} \left(\text{Magnesiumchloridlösung, } 10/40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = \frac{1}{210} \pm \frac{1}{480} \quad (8.10)$$

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} \left(\text{Kalziumchloridlösung, } 10/20 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = \frac{1}{230} \pm \frac{1}{380} \quad (8.11)$$

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} \left(\text{Kalziumchloridlösung, } 40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = \frac{1}{120} \pm \frac{1}{190} \quad (8.12)$$

Wie aus den Gleichungen 8.10, 8.11 und 8.12 hervorgeht, ist gemäß der Anpassungen der Volumenanteil für AuNP im Kopfgruppenbereich in 50 mM Magnesiumchloridlösung in einem ähnlichen Bereich, wie es in 50 mM Kalziumchloridlösung der Fall ist. Die Abweichungen sind nicht statistisch signifikant. Etwaige Abweichungen könnten beispielsweise darauf zurückzuführen sein, dass die Kalziumionen stärker an die Kopfgruppen binden als Magnesiumionen^{[157][158]} und die AuNP ein Stück weit mit den bivalenten Ionen um die Bindungsstellen konkurrieren.

Gemäß der Gleichungen 8.10, 8.11 und 8.12 ist der Volumenanteil der Kopfgruppen im Kopfgruppenbereich um den Faktor 120 bis 230 größer als der Volumenanteil der

AuNP. Bei einer Massenkonzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10 \frac{\mu\text{g AuNP}}{\text{g LM}}$ liegt ein Massenverhältnis von $1:10^5$ vor. Aufgrund der deutlich höheren Dichte von Gold ist das Volumenverhältnis in der Lösung noch geringer, sodass gemäß der Messung sowohl im Kopfgruppenbereich als auch in den Zwischenschichten die AuNP in einem deutlich höheren Verhältnis vorliegen, als das in der Lösung der Fall ist.

Mit den erhaltenen Ergebnissen lassen sich die Größen der AuNP abschätzen, welche in die Membranen eingelagert werden. Die zugrundeliegende Idee wird im Folgenden skizziert. Eingelagerte große AuNP ragen mit einem großen Teil ihres Volumens aus dem Kopfgruppenbereich in die Lösung und bedingen daher eine relativ starke Zunahme der SLD im Zwischenschichtbereich. Kleine AuNP, deren Durchmesser nur geringfügig größer sind als der Kopfgruppenbereich, ragen hingegen mit einem geringen Teil ihres Volumens in den Zwischenschichtbereich, sodass dort durch die Einlagerung die SLD nur geringfügig zunimmt. Aufgrund dieser größenabhängigen Änderung der SLD im Zwischenschichtbereich kann anhand der in den Gleichungen 8.10 - 8.12 erhaltenen Volumenverhältnisse auf die durchschnittliche Größe der eingelagerten NP geschlossen werden. Hierbei stellt sich die Frage, ob beispielsweise selektiv bei der Einlagerung eine gewisse Größe der AuNP bevorzugt wird. Zudem fungiert das Ergebnis als Überprüfung der Vorgehensweise, da dadurch überprüft werden kann, ob die Ergebnisse in einem physikalisch sinnvollen Bereich liegen.

Es wird angenommen, dass die AuNP rund sind und mit der Höhe h aus dem Kopfgruppenbereich heraus in die Zwischenschicht überragen, wie es in Abbildung 8.21 dargestellt ist.

Ihr Gesamtvolumen $V_{ges \text{ AuNP}}$ ist Gleichung 8.13 zu entnehmen, während das Volumen des in die Zwischenschicht hervorstehenden Kugelsegments $V_h \text{ AuNP}$ in Gleichung 8.14 dargestellt ist.^[160, S. 108 ff.]

Das Verhältnis $\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}$ ist in Gleichung 8.15 beschrieben. In den Gleichungen 8.13, 8.14 und 8.15 entspricht h dem Durchmesser der AuNP abzüglich der solvatisierten Kopfgruppendicke d_k , r dem Radius des AuNP, N_{KG} der Anzahl an Kopfgruppen pro eingelagertem AuNP und A_{KG} der Querschnittsfläche einer Kopfgruppe. Dabei wird angenommen, dass ein Teil der Kugel im Bereich der Kopfgruppen lokalisiert ist, wohingegen sich das überstehende Kugelsegment im Bereich der Zwischenschicht befindet. Das Kopfgruppenvolumen V_{KG} entspricht dem Volumen im Kopfgruppenbereich, in welchen im Mittel der in Abbildung 8.21 skizzierte Teil eines AuNP eingelagert wird. Es stimmt mit dem Produkt von d_k , A_{KG} , N_{KG} und $\left(1 + \frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}\right)$ überein, da durch die Einlagerung des AuNPs das Gesamtvolumen der Kopfgruppe V_{KG} um das Teilvolumen des AuNPs erhöht wird. Das Verhältnis $\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}$ ist in Gleichung 8.16 beschrieben. Dabei kommt der Faktor $\frac{1}{2}$ dadurch zustande, dass die Zwischenschicht zwischen zwei Kopfgruppenbereichen liegt und von beiden Seiten angelagerte AuNP in die Zwischenschicht ragen. Die Grundfläche entspricht somit der Hälfte der Fläche, wie sie in der

8. Auswirkungen von Salzlösungen

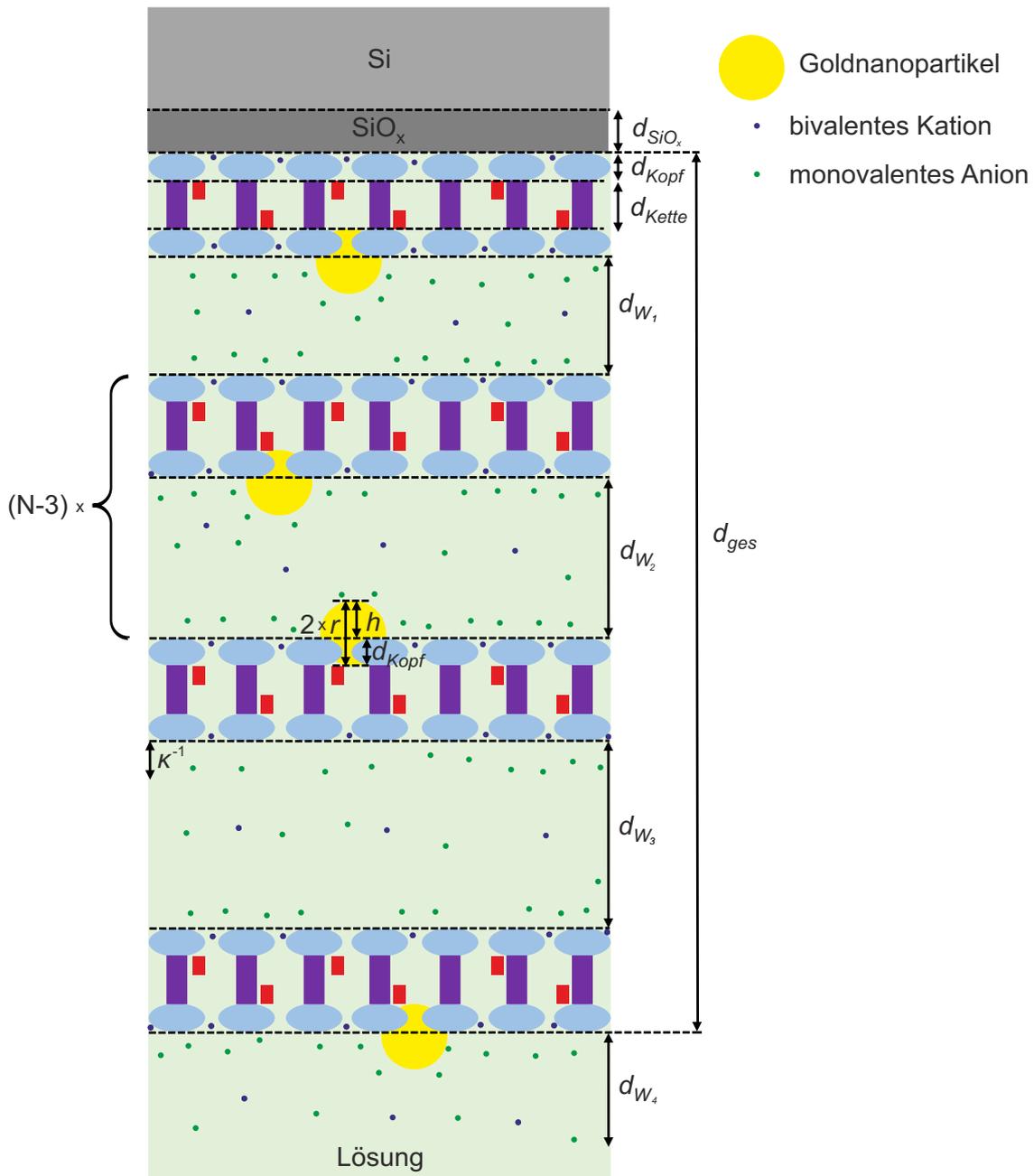


Abbildung 8.21. Das überarbeitete System unterscheidet sich von dem in Abbildung 8.14 dargestellten Modellsystem lediglich durch die Anwesenheit von AuNP, die um die Strecke h aus dem Kopfgruppenbereich in die Zwischenschichten ragen.

Überlegung für die Kopfgruppe in Gleichung 8.15 bestimmt wurde.

$$V_{ges \text{ AuNP}} = \frac{4}{3} \cdot \pi r^3 \quad (8.13)$$

$$V_h \text{ AuNP} = \frac{1}{3} \cdot \pi \cdot h^2 \cdot (3 \cdot r - h) \quad (8.14)$$

Wird Gleichung 8.15 durch Gleichung 8.16 geteilt, resultiert Gleichung 8.17. Dabei wird V_{AuNP} nicht gekürzt, da somit die Verhältnisse in den Gleichungen 8.8 bis 8.12

verwendet werden können.

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} = \frac{\frac{4}{3} \cdot \pi r^3 - \frac{1}{3} \cdot \pi \cdot h^2 \cdot (3 \cdot r - h)}{d_{KG} \cdot N_{KG} \cdot A_{KG} \cdot \left(1 + \frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}\right)} \quad (8.15)$$

$$\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}} = \frac{\frac{1}{3} \cdot \pi \cdot h^2 \cdot (3 \cdot r - h)}{d_{W2} \cdot N_{KG} \cdot A_{KG} \cdot \frac{1}{2} \cdot \left(1 + \frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}\right)} \quad (8.16)$$

$$\frac{\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}}{\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}} = \frac{\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{4}{3} \pi r^3 - \frac{1}{3} \pi h^2 \cdot (3 \cdot r - h)\right) \cdot d_{W2} \cdot N_{KG} \cdot A_{KG} \cdot \left(1 + \frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}\right)}{d_{KG} \cdot N_{KG} \cdot A_{KG} \cdot \left(1 + \frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}\right) \cdot \frac{1}{3} \pi h^2 \cdot (3 \cdot r - h)} \quad (8.17)$$

Nach der Umformung von Gleichung 8.17 zu Gleichung 8.18 wird abschließend die Relation $h = 2r - d_{KG}$ verwendet, wodurch sich Gleichung 8.19 ergibt.

$$\frac{\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}}{\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}} = \frac{\frac{1}{2} \cdot d_{W2} \cdot \left(\frac{4}{3} \pi r^3 - \frac{1}{3} \pi h^2 \cdot (3 \cdot r - h)\right)}{\frac{1}{3} \pi h^3 \cdot (3 \cdot r - h)} \quad (8.18)$$

$$0 = \frac{d_{W2} \cdot (4r^3 - (2r - d_{KG})^2 \cdot (r + d_{KG}))}{2 \cdot d_{KG} (2r - d_{KG})^2 \cdot (r + d_{KG})} - \frac{\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}}{\frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}} \quad (8.19)$$

Die Gleichung 8.19 wurde mit den zugehörigen Parametern aus den Tabellen 8.14 und 8.15 sowie den Gleichungen 8.8 bis 8.12 für das jeweilige System mittels Wolfram|Alpha numerisch gelöst.^[161] Die Ergebnisse sind in den Gleichungen 8.20 bis 8.24 dargestellt.

$$r \left(50 \text{ mM Magnesiumchloridlösung, } 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = 8 \text{ \AA} \quad (8.20)$$

$$r \left(50 \text{ mM Magnesiumchloridlösung, } 40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = 9 \text{ \AA} \quad (8.21)$$

$$r \left(50 \text{ mM Kalziumchloridlösung, } 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (13 \pm 6) \text{ \AA} \quad (8.22)$$

$$r \left(50 \text{ mM Kalziumchloridlösung, } 20 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (13 \pm 6) \text{ \AA} \quad (8.23)$$

$$r \left(50 \text{ mM Kalziumchloridlösung, } 40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (11 \pm 5) \text{ \AA} \quad (8.24)$$

Der Fehler für die in den Gleichungen 8.20 bis 8.24 angegebenen Werte wird dargestellt abgeschätzt, dass für den Quotienten $\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} / \frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}$ der relative Fehler bestimmt wird. Bei der Bestimmung von r (AuNP) werden neben den Werten aus den Gleichungen 8.8 bis 8.12 auch Werte eingesetzt, die um den relativ bestimmten Fehler größer und kleiner sind. Der Mittelwert beider Abweichungen zum Ergebnis wurde dabei als Fehler genähert. Für Abweichungen zu größeren Werten des Quotienten $\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} / \frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}$ resultieren vergleichsweise geringe Abweichungen. Für kleine Werte des Quotien-

8. Auswirkungen von Salzlösungen

ten $\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}} / \frac{V_{AuNP}}{V_{LM}}$ strebt der Radius der NP gegen sehr große Werte.

Der erhaltene Fehler für das System in Magnesiumchloridlösung ist allerdings so groß, dass aufgrund des relativen Fehlers für den Quotienten von über 100 % für den um eine Standardabweichung kleineren Wert ein negativer Quotient resultiert. Das ist physikalisch nicht sinnvoll, da $\frac{V_{AuNP}}{V_{KG}}, \frac{V_{AuNP}}{V_{LM}} \in \mathbb{R}_0^+$. Dementsprechend werden für die Radien der AuNP keine Lösungen mit $r(\text{AuNP}) \in \mathbb{R}_0^+$ erhalten.

Da die Zunahme der Zwischenschicht-SLD bei AuNP-Zugabe in 50 mM Magnesiumchloridlösung vergleichsweise schwach ist, resultiert für dieses System entsprechend eine kleinere bestimmte AuNP-Größe, als das bei den Resultaten in Kalziumchloridlösung der Fall ist. Durch die geringere bestimmte Größe sind die AuNP anteilig stärker im Kopfgruppenbereich lokalisiert, sodass durch die Einlagerung mit diesem Modell eine stärkere Änderung im Kopfgruppenbereich resultiert, als das für die Zwischenschicht der Fall ist. Die Ergebnisse in den Gleichungen 8.20 bis 8.24 sprechen für die Einlagerung von AuNP im Kopfgruppenbereich, deren Durchmesser 8 Å bis 13 Å beträgt.

Bei dem Ergebnis ist zu beachten, dass im Gegensatz zu den DLS-Messungen an dieser Stelle nicht der hydrodynamische Radius, sondern lediglich die Größe des AuNPs ohne Liganden und ohne Hydrathülle bestimmt wird. Dieser wird daher zwangsläufig systematisch geringer sein als die erhaltene Größe bei den DLS-Messungen. Zudem wurde bei der Charakterisierung der AuNP 1 in Tabelle 6.10 eine Größenverteilung erhalten, sodass es möglich ist, dass selektiv eher die etwas kleineren AuNP im Kopfgruppenbereich eingelagert werden.

Um Vergleichswerte für die präsentierten Werte in 50 mM Magnesiumchlorid- und 50 mM Kalziumchloridlösung zu generieren, wurden mit denselben Messdaten zudem Anpassungen durchgeführt, bei denen vor der AuNP-Zugabe die Variationsbreite der angepassten SLD eingeschränkt wurde. Folglich lagen die erhaltenen SLD der Zwischenschichten näher an der SLD von Wasser. Die Resultate sind im Anhang in Kapitel F.5 den Tabellen F.3 bis F.5, den Abbildungen F.8 und F.9 sowie den Gleichungen F.1 bis F.5 zu entnehmen. Durch diese Vorgehensweise resultiert bei der Zugabe von AuNP ein größerer SLD-Sprung für die Zwischenschichten. Folglich wird der ermittelte NP-Anteil in den Zwischenschichten größer, sodass auch die ermittelten AuNP-Größen entsprechend größer werden. Doch auch diese Werte sind nicht viel größer und liegen im Bereich von 12 Å bis 16 Å.

8.3.5 Interaktion mit großen AuNP

Mithilfe von NR-Messungen wurde die Beeinflussung von DMPC-Oligolipidbilagensystemen durch 500 Å große AuNP bislang ohne die Verwendung von Salzen untersucht. Das soll an dieser Stelle nachgeholt werden. Hierbei stellt sich die Frage, wie sich Sys-

teme mit 30 % Chol bei einer Exposition mit großen AuNP verhalten. Die Messdaten mit den zugehörigen Anpassungen in Salzlösungen für die Interaktion zwischen den 70 % DMPC 30 % Chol-Systemen mit 500 Å großen AuNP sind in Abbildung 8.22 dargestellt. Die zugehörigen Parameter sind für die Magnesiumchloridlösung in Tabelle 8.16 und für die Kalziumchloridlösung in Tabelle 8.17 visualisiert.

In Tabelle 8.16 wurden Σ , d_{W4} , $\rho_{SL\text{ Kopf}}$ und $\rho_{SL\text{ W1-4}}$ gekoppelt, da diese bei den Anpassungen sehr nahe beieinander lagen und die Messdaten bei den Zugaben von AuNP lediglich eine stärkere Abschirmung suggerieren. Durch die Kopplung dieser Parameter und der daraus resultierenden Minimierung der verwendeten Parameter, wurden vergleichsweise geringe Fehler erhalten.

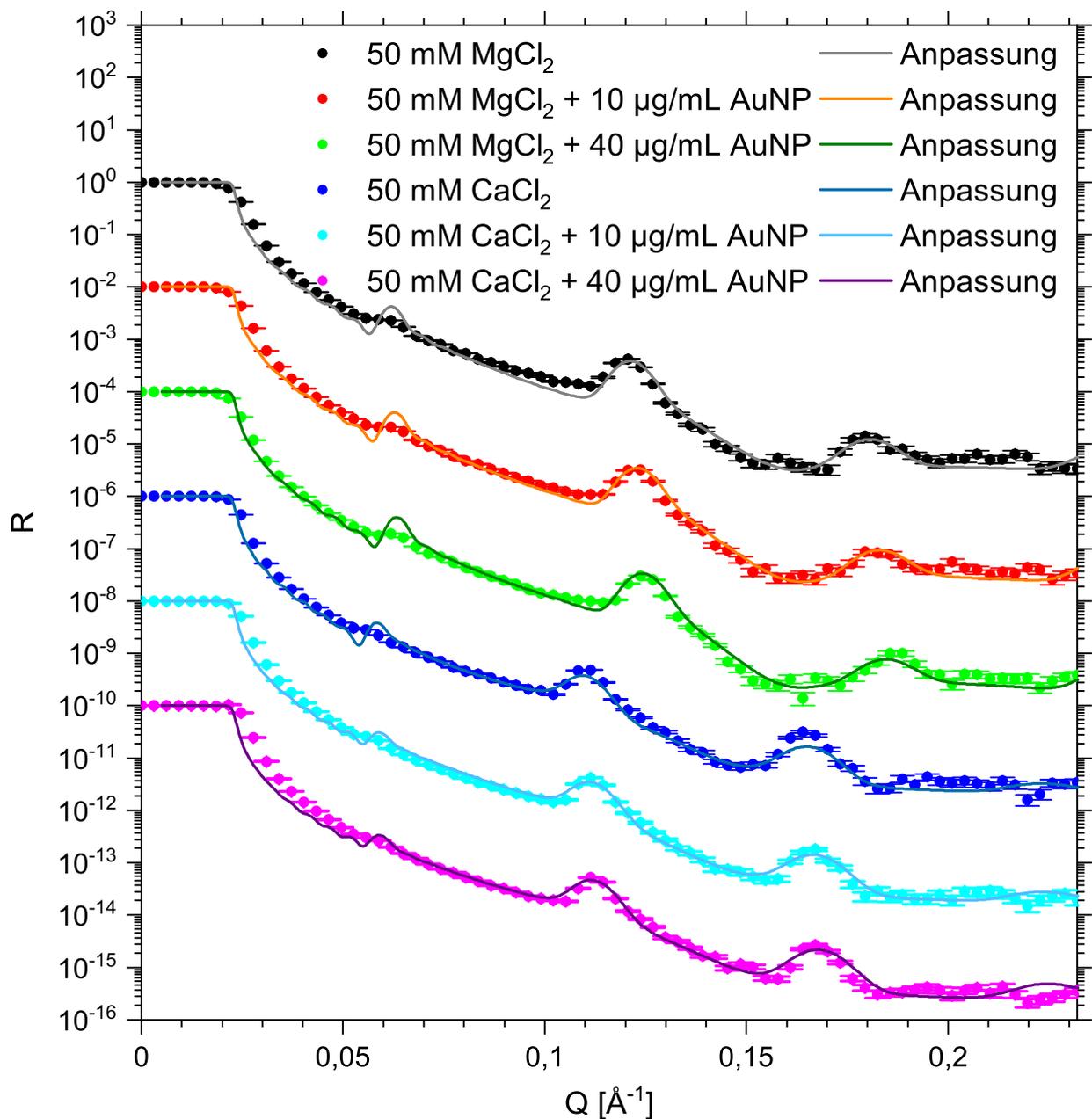


Abbildung 8.22. Dargestellt sind die XRR-Daten zweier Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung und 50 mM Kalziumchloridlösung, denen anschließend AuNP der Größe 50 Å zugegeben wurden.

8. Auswirkungen von Salzlösungen

Tabelle 8.16. Parameter der XRR-Anpassungen von Oligolipidbilagensystemen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach der Zugabe großer AuNP.

Parameter	ohne AuNP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7	7	7
Σ [Å]	4,2 ± 0,7	5,0 ± 0,7	5,0 ± 0,7
$i\rho_{SL}$ [10^{-6} Å ⁻²]	0	0	0
N	10	10	10
d_{W1} [Å]	26 ± 2	23 ± 2	23 ± 2
d_{W2} [Å]	47,1 ± 0,4	46,0 ± 0,5	45,0 ± 0,5
d_{W3} [Å]	121 ± 4	122 ± 4	123 ± 4
d_{W4} [Å]	19 ± 7	19 ± 7	19 ± 7
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å ⁻²]	10,75 ± 0,14	10,75 ± 0,14	10,75 ± 0,14
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å ⁻²]	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} Å ⁻²]	9,47	9,47	9,47
$\rho_{SL\ W1-4}$ [10^{-6} Å ⁻²]	9,90 ± 0,05	9,90 ± 0,05	9,90 ± 0,05
d_{Wh} [Å]	104,0 ± 0,4	102,9 ± 0,5	102,0 ± 0,5
d_{ges} [Å]	1.150 ± 5	1.139 ± 6	1.132 ± 6
χ^2	1,42	1,04	0,84

Tabelle 8.17. XRR-Parameter der Anpassungen eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C vor und nach der Zugabe großer AuNP.

Parameter	ohne AuNP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	8	8	8
Σ [Å]	7,1 ± 0,5	7,1 ± 0,5	7,1 ± 0,5
$i\rho_{SL}$ [10^{-6} Å ⁻²]	0	0	0
N	12	12	12
d_{W1} [Å]	11 ± 3	10 ± 3	11 ± 3
d_{W2} [Å]	56,2 ± 0,6	55,4 ± 0,6	54,9 ± 0,6
d_{W3} [Å]	137 ± 5	92 ± 5	88 ± 4
d_{W4} [Å]	56 ± 14	56 ± 14	56 ± 14
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å ⁻²]	10,84 ± 0,16	10,84 ± 0,16	10,84 ± 0,16
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å ⁻²]	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} Å ⁻²]	9,48	9,48	9,48
$\rho_{SL\ W1-4}$ [10^{-6} Å ⁻²]	10,12 ± 0,08	10,12 ± 0,08	10,12 ± 0,08
d_{Wh} [Å]	113,1 ± 0,6	112,3 ± 0,6	111,8 ± 0,6
d_{ges} [Å]	1.337 ± 8	1.284 ± 8	1.276 ± 7
χ^2	1,06	0,89	1,77

Bei den Anpassungen in Kalziumchloridlösung wurden dieselben Parameter gekoppelt wie bei den Anpassungen in Magnesiumchlorid. Vor den Kopplungen wurde verifiziert, dass die jeweiligen Parameter der drei Systeme gegen sehr ähnliche Werte streben. Die Anpassung für das System mit der hohen AuNP-Konzentration besitzt den höchsten χ^2 -Wert, da für diese Messung die Diskrepanz zwischen Messwerten und Anpassung im Bereich der Abbruchkante am höchsten ist und dieser Bereich nicht durch die Variation der Parameter entscheidend beeinflusst werden kann. Der Trend aller Parameter folgt auch für die höchste NP-Konzentration - trotz der von den Messdaten am meisten abweichenden Anpassung der Abbruchkante - den Entwicklungen, die auch bei der ersten AuNP-Zugabe zu erkennen sind. Da die Ausrichtung des Detektors für alle sechs Messungen gleich war, ist naheliegend, dass für die Abweichung im Bereich der Abbruchkante die Justage der Probe ausschlaggebend war, da diese für jede Messung neu durchgeführt wurde. Die χ^2 -Werte aller Anpassungen verbesserten sich im 10^{-2} -Bereich durch die Einführung der Zwischenschicht 4, obwohl die Dicken dieser Schicht für die jeweiligen drei Messungen in einer Salzlösung untereinander gekoppelt wurden.

Wie den Tabellen 8.16 und 8.17 entnommen werden kann, führt die Zugabe großer AuNP in erster Linie zu einer Erhöhung der Ionenstärke. Diese wird nicht nur durch die AuNP, sondern auch durch die entsprechenden Gegenionen bedingt. Diese Erhöhung der Ionenstärke schlägt sich in einer, durch die größere Abschirmung bedingten, Verringerung der Bilagenabstände zueinander nieder. Dieses Resultat deckt sich mit den in den Gleichungen 8.20 bis 8.24 abgeleiteten Radien der eingelagerten NP, welche um mehr als eine Größenordnung geringer sind als die hier verwendeten AuNP der Größe 500 Å. Die kleinen AuNP werden in die Membranen eingelagert und führen zu einem Quellen der Bilagen. Bei der Verwendung großer AuNP resultiert hingegen eine Zerstörung von Oligolipidbilagensystemen aus reinem DMPC, wohingegen Systeme mit 30 % Chol bei gleich bleibender Bilagenanzahl die Bilagenabstände etwas verringern - aufgrund der erhöhten vorherrschenden Ionenstärke.

Neben den biologisch relevanten Magnesium- und Kalziumionen sind zudem besonders Natrium- und Kaliumionen sowie die Verwendung eines pH-Wertes, wie er auch im Blut vorliegt, von Interesse. Diese Gesichtspunkte werden durch das Arbeiten in PBS-Lösung untersucht. Die Konzentration liegt dabei für Natriumionen und Chloridionen bei etwa 150 mM und für Kaliumionen bei circa 5 mM.^{[5, S. 18 f.][155][154, S. 976]} Die Ionenstärke ist somit vergleichbar mit 50 mM Magnesiumchlorid- bzw. 50 mM Kalziumchloridlösung.^[57, S. 204 f.]

Die XRR-Daten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in PBS ist im Anhang in Abbildung F.10 dargestellt. Dabei sind die Positionen der Bragg-Peaks in PBS sehr ähnlich zur Lage der Bragg-Peaks in Wasser, wie ein Vergleich mit beispielsweise Abbildung 8.15 zeigt. Die gleichbleibende Position der Bragg-Peaks zeigt, dass

die Einlagerung von vorrangig Natriumionen^[155] in die Membranen deutlich schwächer ist, als das bei den Systemen in Kalziumchlorid- und Magnesiumchloridlösung der Fall war. Dies wurde gemäß Kapitel 8.1 erwartet. Da in Kalziumchlorid-, Magnesiumchlorid- und PBS-Lösung Chloridanionen vorliegen, sind die unterschiedlichen Quellungen zweifelsfrei auf die Kationen zurückzuführen - wie auch anhand anderer Ergebnisse in Kapitel 8.1 beschrieben. Somit bleibt festzuhalten, dass die Anwesenheit von Natrium-, Kalium-, Phosphationen^[155] in der PBS-Lösung keine Quellung der Oligolipidbilagensysteme bedingt - wie sie in Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösung mit einer vergleichbaren Ionenstärke zu beobachten ist.

Da sich gemäß Sturtevant die Phasenübergangstemperatur von DMPC in einer 200 mM Natriumchloridlösung nicht von der in Wasser unterscheidet,^[140] wird die getroffene Aussage unterstrichen, derzufolge die Chloridionen keinen entscheidenden Einfluss spielen können und die Natriumionen deutlich schwächer mit den Lipiden wechselwirken, als das mit den Magnesium- und Kalziumionen der Fall ist. Es überrascht daher nicht, dass die Bilagenabstände sich in etwa mit denen in Wasser decken.

8.4 Zusammenfassung

Im Folgenden werden die Resultate für die Systeme in Salzlösungen zusammenfassend dargestellt. Dabei wird zusammengetragen, welche Veränderungen für die Modellsysteme durch die Zugabe von Salzen und NP resultieren. Hierfür werden die Ergebnisse in den Unterkapiteln 8.4.1 sowie 8.4.2 vor und nach der AuNP-Zugabe resümiert und diskutiert.

8.4.1 Oligolipidbilagen in Salzlösung vor der AuNP-Zugabe

Zusammenfassend sind in Tabelle 8.18 die lamellaren Schichtdicken für unterschiedliche Chol-Anteile in den Filmen und Magnesiumchloridkonzentrationen in der Lösung dargestellt. Diese Werte sind in den Abbildungen 8.23 und 8.24 visualisiert.

Für DMPC wurde die Dicke der Wiederholeinheit mittels NR-Messungen bestimmt - mit Ausnahme der Messung bei 100 mM Magnesiumchloridlösung, bei der auf XRR zurückgegriffen wurde. Die Messungen mit 20 % und 50 % Chol erfolgten via NR-Messungen. Die Wiederholeinheitendicken bei 3 mM, 12,5 mM, 35 mM, 70 mM und 100 mM wurden mit NR-Messungen bestimmt, während bei 0 mM und 50 mM der Mittelwert aus diversen NR-Messungen und XRR-Messungen gebildet wurde. Zur Einordnung ist die lamellare Schichtdicke zweier Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Kalziumchloridlösung, ebenfalls in der Tabelle 8.18 und Abbildung 8.23 aufgeführt.

Tabelle 8.18. Erhaltene Wiederholeinheitendicken für diverse Chol-Anteile in DMPC-Oligolipidbilagensystemen und Magnesiumchloridkonzentrationen in der Lösung.

c_{MgCl_2} [mM]	Chol-Anteil [%]			
	0	20	30	50
0	(64,68 ± 0,13) Å	(68,0 ± 0,9) Å	(63,5 ± 0,7) Å	(60,98 ± 0,17) Å
1	(75,9 ± 0,2) Å	-	-	(61,10 ± 0,08) Å
2	(77,5 ± 0,2) Å	-	-	-
3	-	-	(64,46 ± 0,00) Å	(60,71 ± 0,07) Å
6	(271,4 ± 0,6) Å	(66,19 ± 0,02) Å	-	-
12,5	-	(67,2 ± 0,1) Å (182,3 ± 0,3) Å	(64,88 ± 0,00) Å	(60,62 ± 0,04) Å
17	(184,2 ± 0,9) Å	-	-	-
25	-	(131,6 ± 2,9) Å	-	-
35	-	-	(102,15 ± 0,01) Å	-
50	(136,8 ± 0,9) Å	(109,8 ± 3,1) Å	(103,2 ± 1,6) Å	(61,04 ± 0,08) Å
70	-	-	(85,45 ± 0,00) Å	-
100	(91,3 ± 0,9) Å	-	(71,40 ± 0,00) Å	(62,05 ± 0,07) Å

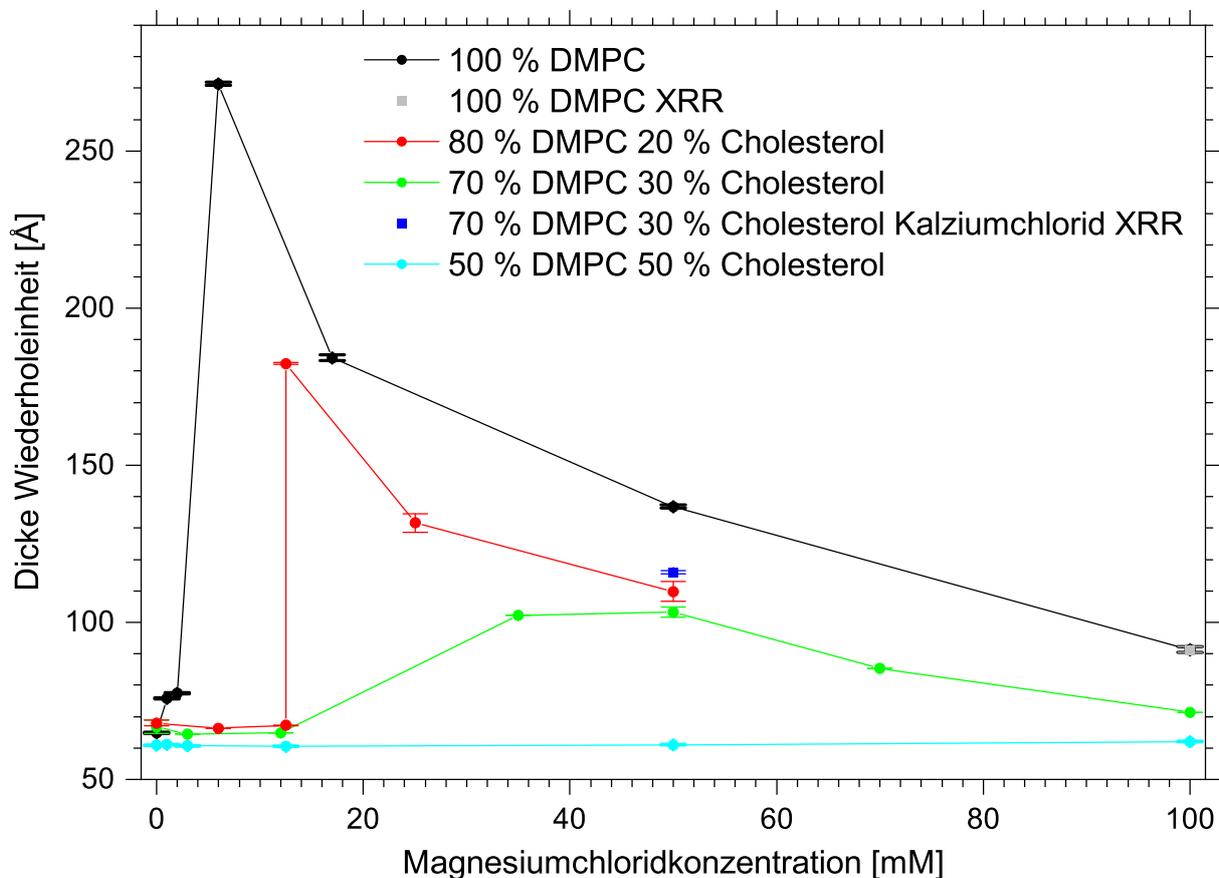


Abbildung 8.23. Mittels NR-Messungen und XRR-Messungen ermittelte lamellare Schichtdicken in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und der Magnesiumchloridkonzentration.

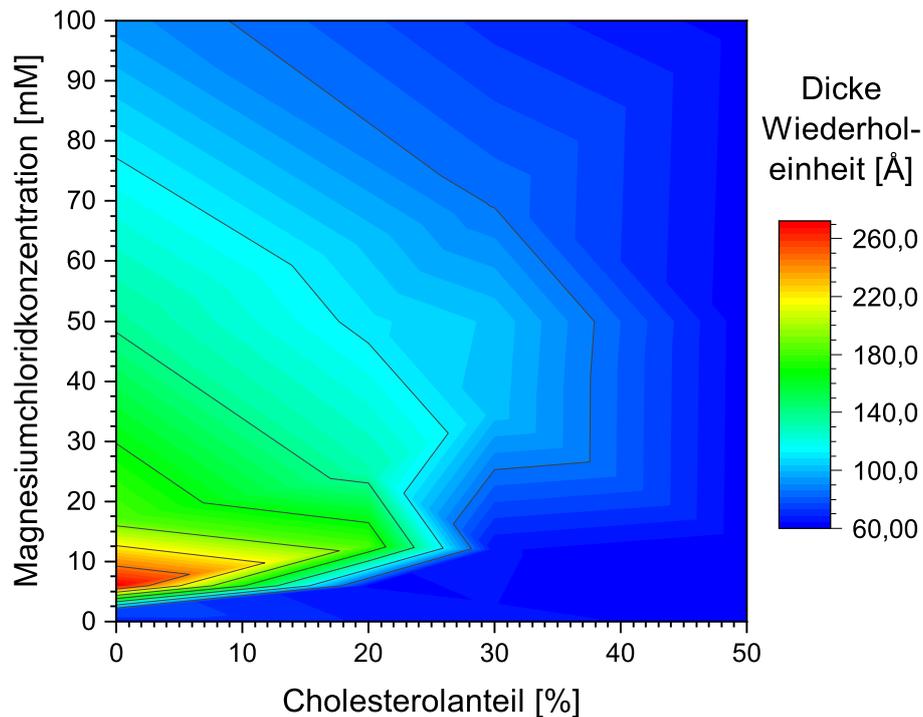


Abbildung 8.24. 2D-Darstellung der Ergebnisse der Wiederholeinheitendicke in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt und der Magnesiumchloridkonzentration erhalten durch NR- und XRR-Messungen.

Bevor der Verlauf der Messpunkte in den Abbildungen 8.23 und 8.24 im Mittelpunkt steht, wird zunächst auf drei spezielle Messpunkte eingegangen, die in den Abbildungen dargestellt sind.

Das Oligolipidbilagensystem mit einem Chol-Anteil von 20 % liegt bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 12,5 mM teils in stark gequollener und teils in ungequollener Form vor. Somit gibt es für diese Konzentration zwei Messpunkte und im dargestellten Punkt-Linien-Diagramm in Abbildung 8.23 dementsprechend eine vertikale Verbindung beider Messpunkte.

Bei der Messung der lamellaren Schichtdicke eines Oligolipidbilagensystems bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in Abhängigkeit von der Magnesiumchloridkonzentration wurden bei 35 mM und 50 mM die Bilagenabstände ermittelt. Dabei lag bei 35 mM der Wert für die Dicke der Wiederholeinheit um $(5,27 \pm 0,01)$ Å höher, als das bei der Einzelmessung bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM der Fall war. Da jedoch im Laufe der Arbeit sieben Ergebnisse für die lamellare Schichtdicke des entsprechenden Systems in 50 mM Magnesiumchloridlösung ermittelt wurden, resultiert eine gemittelte lamellare Schichtdicke bei 50 mM, welche den einmalig gemessenen Wert bei 35 mM übersteigt. Da beim gleichen System die maximale Dicke der Wiederholeinheit bei 35 mM vorlag, ist davon auszugehen, dass bei 35 mM ein größerer Quellfaktor erhalten wird, dieses System jedoch vergleichsweise schwach gequollen ist. Eine mögliche Erklärung für die sich unterscheidenden Werte könnte beispielswei-

se ein leicht veränderter Chol-Gehalt in der Membran oder unterschiedliche Wasseranteile des abgewogenen Magnesiumchlorids sein.

Nach diesen Kommentaren wird im Folgenden auf den Verlauf der Messdaten in den Abbildungen 8.23 und 8.24 eingegangen. Bei gleichbleibender Magnesiumchloridkonzentration und einem zunehmenden Chol-Gehalt, nimmt bei gequollenen Systemen die Dicke der Wiederholeinheit ab. Diese Ergebnisse ergänzen in doppelter Hinsicht die Ergebnisse von Magarkar *et al.* Sie untersuchten die Bindungsaffinität von Natriumionen an zwitterionische Membranen in Abhängigkeit von dem Chol-Gehalt. Demnach sinkt in Anwesenheit von Chol die Affinität von Lipiden, Natriumionen in die Membran einzulagern. Zum einen besitzt das Chol-Molekül eine geringere Affinität, Natriumionen zu binden als Lipide mit einer PC-Kopfgruppe und zum anderen senkt die Anwesenheit von Chol-Molekülen die Anzahl an möglichen Bindungsstellen benachbarter PC-Kopfgruppen.^[125] Die Einlagerung von Chol senkt demnach die Einlagerungsaffinität von Ionen in den Kopfgruppenbereich. Kohli *et al.* berichten von einer Abnahme der Einlagerungsaffinität für Kalziumionen durch Chol.^[148] In dieser Arbeit hingegen werden die Ergebnisse der Literatur für Natrium- und Kalziumionen um Magnesiumionen erweitert.

Die Bilagenabstände steigen weiter, wenn anstelle von Magnesiumchlorid auf Kalziumchlorid zurückgegriffen wird, wie am Messwert für 30 % Chol und 50 mM Salzlösung in Abbildung 8.23 abgelesen werden kann. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit den Quellexperimenten von nicht-substratgebundenen DPPC-Systemen^[127] und der Assoziationskonstante bei 26,0 °C für Kalziumionen und Magnesiumionen an eine DMPC-Bilage.^[157] Dementsprechend ist auch das ζ -Potential von DMPC-Vesikeln in Kalziumchloridlösungen betragsmäßig höher als in Magnesiumchloridlösungen.^[156]

Wird anstelle von einer Kalziumchloridlösung auf PBS zurückgegriffen, so ergaben die Positionen der Bragg-Peaks bei XRR-Messungen, dass die Bilagenabstände in etwa den Abständen in Wasser entsprechen. Dieses Ergebnis lässt sich mithilfe von ζ -Potentialmessungen erklären. Laut Makino *et al.* nimmt das ζ -Potential von DMPC-Vesikeln in Abhängigkeit von der Ionenstärke einer PBS-Lösung leicht zu.^[162] Das ermittelte ζ -Potential in Magnesiumchlorid- und Kalziumchloridlösungen entsprechender Ionenstärken sind jedoch deutlich stärker positiv.^{[156][162]} Es wäre somit denkbar, dass durch die ansteigende Ionenstärke in der Lösung die elektrostatische Repulsion der Bilagen zueinander in einem ähnlichen Maße abgeschwächt wird, wie sie durch die Einlagerung von beispielsweise Natriumionen in den Kopfgruppenbereich zunimmt.

Zudem ist in den Abbildungen 8.23 und 8.24 zu sehen, dass bei einem Chol-Anteil von 50 % in einer Magnesiumchloridlösung im Bereich von 0 - 100 mM keine Quellung erhalten wird. Während die Dicke der Wiederholeinheit für Filme bestehend aus 100 % DMPC bis zu einer Magnesiumchloridkonzentration von 6 mM zunimmt, fällt sie danach durch eine weitere Zugabe von Magnesiumchlorid wieder ab. Die deutlich

8. Auswirkungen von Salzlösungen

höheren Bilagenabstände bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 6 mM im Vergleich zu 17 mM lassen sich dadurch erklären, dass bei einer Konzentration von 6 mM bereits ein Großteil der Bindungsstellen innerhalb der Membran mit bivalenten Ionen besetzt ist, wobei die Ionenstärke innerhalb der Lösung noch vergleichsweise schwach ist, sodass die Bilagen sich stark voneinander abstoßen.

Eine Erhöhung der Magnesiumchloridkonzentration auf 17 mM und mehr führt dazu, dass die Anzahl an eingelagerten Ionen nur noch vergleichsweise schwach zunimmt, wobei gleichzeitig die Ionenstärke und somit die Abschirmung der Bilagen zueinander zunimmt. Folglich reduziert sich der Abstand der Bilagen. Durch die Präsenz von Chol in den Bilagen und der damit verbundenen geringeren Affinität der Kopfgruppen, Ionen einzulagern, besetzen diese erst bei deutlich höheren Konzentrationen die Bindungsstellen, sodass die Quellung erst bei deutlich höheren Magnesiumchloridkonzentrationen einsetzt. Diese tritt nicht nur erst bei höheren Konzentrationen auf, sondern fällt zudem auch schwächer aus. Mit dieser Arbeit kann die Publikation von Magarkar *et al.*^[125] in doppelter Hinsicht dergestalt ergänzt werden, dass sich durch die Einlagerung von Chol in die Systeme nicht nur die Bilagenabstände bei derselben Magnesiumchloridkonzentration reduzieren, sondern auch, dass die maximalen Bilagenabstände für ein System mit einem höheren Chol-Gehalt erst für höhere Magnesiumchloridkonzentrationen erreicht werden.

Während bei NR-Messungen der Kontrast zwischen den Membrankomponenten und Ionen bzw. den NP nur gering ist, liegt bei XRR-Messungen ein erheblich höherer SLD-Unterschied vor. Um die Einlagerung von Ionen quantifizieren zu können, wurden daher XRR-Messungen zurate gezogen. Bei dem verwendeten Modell wurde davon ausgegangen, dass durch die Einlagerung von Ionen die Größe des Kettengruppen- und Kopfgruppenbereichs näherungsweise gleich bleibt. Bei der Anpassung der SLD des Kettengruppenbereichs, der Kopfgruppen und der Zwischenschicht resultierten für die Kopfgruppe und die Zwischenschicht damit eine Zunahme der SLD, wohingegen im Kettengruppenbereich kein Anstieg zu verzeichnen war.

Aus der Zunahme der SLD im Kopfgruppenbereich konnte auf die Anzahl an Ionen pro Kopfgruppe geschlossen werden. Diese betrug für 50 mM Magnesiumchloridlösung ($0,86 \pm 0,29$) und für 50 mM Kalziumchloridlösung ($0,89 \pm 0,19$). Während für Bilagensysteme bestehend aus reinem DMPC die obere Grenze für das Verhältnis von eingelagerten Ionen pro Kopfgruppe eins beträgt, sollte für Systeme mit Chol das Verhältnis geringer ausfallen. Zudem sollte, aufgrund der höheren Bilagenabstände, die Anzahl an Kalziumionen pro Kopfgruppe im Vergleich zu eingelagerten Magnesiumionen größer ausfallen. Die ermittelte Anzahl an Ionen pro Kopfgruppe ist überraschend groß, wobei die anhand der SLD abgeleitete Ionenkonzentration in den Zwischenschichten in einem unrealistisch hohen Bereich liegt. Eine erhöhte Ionenkonzentration angrenzend an den geladenen Kopfgruppenbereich ist nicht überraschend, da im Bereich

der eingelagerten bivalenten Ionen im Kopfgruppenbereich eine Abschirmung durch Ionen aus der Lösung erwartet wird. Jedoch ist bei solch einer hohen gemittelten Ionenstärke davon auszugehen, dass der resultierende osmotische Druck keinen stabilen Zustand zuließe und stattdessen die Bilagen deutlich stärker auseinander drücken und das System zerstören würde. Ausschlaggebend für den erhaltenen hohen osmotischen Druck ist, dass vor der NP-Zugabe die SLD im Bereich der Kopfgruppen und Zwischenschichten bestimmt werden musste, um etwaige Änderungen durch die NP-Zugabe feststellen zu können. Bei den Überlegungen wurde davon ausgegangen, dass die SLD-Abweichung zwischen Lösungsmittel und Zwischenschicht ausschließlich auf die Einlagerung von Ionen zurückzuführen sei. Es wäre auch denkbar, dass das verwendete Modell die Realität nicht exakt beschreibt und dass etwaige Abweichungen ein Stück weit durch eine höhere SLD im Bereich der Zwischenschichten kompensiert werden können. Die erhaltene und abgeleitete SLD im Zwischenschichtbereich sollte daher nicht überinterpretiert werden, sondern lediglich als Grundlage für die Quantifizierung der Veränderungen des Systems durch die AuNP-Zugabe verstanden werden. Auf dieser Grundlage sind die daraus abgeleiteten Ergebnisse nicht belastbar, wurden zur Abschätzung jedoch dennoch herangezogen.

8.4.2 Oligolipidbilageninteraktion in Salzlösungen mit NP

Die NR-Messungen zeigen, dass Oligolipidbilagensysteme mit 70 % DMPC 30 % Chol bei Exposition mit großen AuNP stabil sind, Oligolipidbilagensysteme bestehend aus reinem DMPC jedoch nicht.

Kleine AuNP können hingegen in Oligolipidbilagen mit Chol eingelagert werden. Während dieser Prozess bei schwach negativ geladenen Systemen im schweren Wasser nur sehr langsam vonstatten geht, erfolgt die Einlagerung in durch Salzzugabe gequollene Systeme deutlich schneller. Hinsichtlich der begrenzten Messzeit mit Neutronen wurden daher gequollene Systeme verwendet, um die Einlagerung von NP auf geeigneten Zeitskalen zu studieren. Durch die Verwendung von schwerem Wasser können hohe Kontraste zwischen den Bilagen und dem Lösungsmittel bei NR-Messungen geschaffen werden. Es ist jedoch nicht möglich, einen sehr hohen Kontrast zwischen Ionen bzw. NP und den restlichen Komponenten zu generieren, um den Anlagerungsort selbiger mit NR-Messungen zu bestimmen.

Um den Einlagerungsort der Ionen und NP in den Oligolipidbilagensystemen feststellen zu können, wird auf XRR-Messungen zurückgegriffen, da hierbei der Kontrast zwischen den Ionen bzw. NP und den übrigen Komponenten des Oligolipidbilagensystems vergleichsweise sehr hoch ist. Bei der Auswertung der Daten wurde festgestellt, dass die angepasste Ketten-SLD in Wasser, in Salzlösung und nach der Zugabe von AuNP sehr gering ist, was darauf zurückgeführt wurde, dass sich weder die Ionen noch die

8. Auswirkungen von Salzlösungen

NP im Kettengruppenbereich einlagern. Bei den Messungen in Salzlösung wird hingegen eine Zunahme der SLD im Kopfgruppenbereich sowie in den Zwischenschichten beobachtet. Dies wird auf eine Einlagerung der Ionen im Kopfgruppenbereich zurückgeführt. Bei anschließender AuNP-Zugabe nehmen die SLD der Kopfgruppen und Zwischenschichten zu. Dies wird damit erklärt, dass die eingelagerten AuNP größer sind als die Kopfgruppen, sodass dort angelagerte NP auch in die Zwischenschicht ragen. Aus den SLD-Zunahmen der Zwischenschichten und der Kopfgruppen konnte mit dieser Annahme zudem auf die Größe der eingelagerten AuNP geschlossen werden. Dabei ergab sich ein Durchmesser von 16 bis 26 Å. Die XRR-Anpassungen sind dabei im Bereich der Abbruchkante nicht perfekt, was die Anpassungsgüte limitiert. Dennoch wird eine Erhöhung der SLD im Bereich der Kopfgruppen und Zwischenschichten - nicht aber im Kettengruppenbereich - nachgewiesen. Es wird daher davon ausgegangen, dass sich die AuNP im Kopfgruppenbereich einlagern, wobei die AuNP aufgrund ihrer Größe in die Zwischenschichten hineinragen.

Neben den Ergebnissen, die mittels NR, XRR und AFM abgeleitet werden, konnte mit SE die Stabilität vieler Systeme vor den NR-Messzeiten überprüft werden. Dabei wurde entweder die Stabilität zwitterionischer Membranen bei NP-Exposition oder die Stabilität von Membranen mit geladenen Lipiden gegenüber Wasser untersucht. Mithilfe von QCMD-Messungen wurde festgestellt, dass die Einlagerung von AuNP bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 50 mM deutlich stärker ausfällt, als das in Wasser der Fall ist. Dies ist auch naheliegend, da bei einer höheren Ionenstärke die positiv funktionalisierten NP besser gegeneinander abgeschirmt werden und somit mehr NP pro Fläche angelagert werden können.

9 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden der Einfluss einiger Faktoren auf die Nanotoxizität untersucht. Hierfür wurde ein einfaches Modellsystem kreiert, charakterisiert und im Folgenden die Interaktion des Systems mit NP untersucht. Um das System und die Umgebung, in der die Lipid-NP-Interaktion untersucht wurde, stärker an biologische Systeme anzunähern, wurden weitere Membranbestandteile hinzugefügt und das wässrige Milieu um Salze erweitert.

Dabei wurde zunächst von einem substratgebundenen Oligolipidbilagensystem bestehend aus DMPC ausgegangen. Dies bietet den Vorteil, dass im wässrigen Milieu viele Bilagen frei beweglich mit Wasserkontakt ober- und unterhalb der Bilagen vorliegen, sodass die Umgebung deutlich vergleichbarer mit nativen Zellen ist, als das bei einer substratgebundenen Bilage der Fall wäre. Die weitere Annäherung an biologische Systeme erfolgte durch die Erweiterung der Membran um weitere Membranlipide, insbesondere durch die Einlagerung von Chol, und die Verwendung biologisch relevanter Ionenstärken. Die dafür verwendeten Modellsysteme bestanden aus mehreren Bilagen, deren Eigenschaften als näherungsweise gleich angenommen wurden. Die Unterschiede bestanden zunächst lediglich in den Dicken der Wasserzwichenschichtdicken. Diese wurden bei fast allen Wasserzwichenschichten als gleich groß angenommen, wobei die einzigen Ausnahmen die innerste und äußerste Wasserzwichenschichten bildeten. Dieses Modell wurde in manchen Fällen modifiziert, beispielsweise sobald in unterschiedlichen Regionen des Films verschiedene starke Quellungen auftraten oder wenn der Anlagerungsort von Ionen und NP untersucht wurde.

Generell konnten viele sich komplementär ergänzende Messmethoden verwendet werden, um ein differenziertes Bild von diversen Modellmembransystemen in unterschiedlichen Umgebungen zu erhalten. Diese werden im Folgenden zusammengefasst.

Die Dicke der durch Rotationsbeschichtung erhaltenen Systeme nimmt mit der Stoffmengenkonzentration an Lipid in der Lösung zu und mit höherer Drehzahl ab. Bei höherer Drehzahl ist der Dickegradient des substratgebundenen Oligolipidbilagensystems von der Substratmitte zum Substratrand geringer, als das bei niedrigen Drehzahlen der Fall ist. Der Lochanteil ist allerdings für DMPC-Oligolipidbilagensysteme bei geringeren Drehzahlen kleiner.

Neben dem fundamentalen Bestandteil DMPC wurden noch weitere Komponenten in die Systeme eingelagert, wie beispielsweise Chol, um die Membran von Eukaryoten zu modellieren. Die bei den Reflexionsmessungen angenommenen, vergleichsweise hohen, Lochanteile und die Verwendung inkohärenter Summen wurden mithilfe von AFM-Messungen abgesichert. Durch die Einlagerung von Chol in das System nimmt der Lochanteil mit zunehmender Drehzahl ab, wobei der Lochanteil im Gesamtfilm kleiner, die mittlere Querschnittsfläche der einzelnen Löcher hingegen größer wird. Zudem

9. Zusammenfassung und Ausblick

bilden sich durch die Anwesenheit von Chol vergleichsweise breite Plateaus über weite Bereiche des Oligolipidbilagensystems aus, in welchem der Film über eine einheitliche Bilagenanzahl verfügt. Bei den untersuchten Systemen nimmt durch die Einlagerung von Chol die Länge des Kettenbereichs zu und die des Kopfgruppenbereichs ab. Bei Messungen an Luft wurden durch die Einlagerung von 30 % Chol in die DMPC-Filme geringere Bilagendicken beobachtet als für reines DMPC. In Wasser hingegen nimmt die Wiederholeinheitendicke zunächst bei geringen Chol-Anteilen zu, um bei einem größer werdenden Chol-Gehalt wieder abzunehmen.

Die Erklärung für diese Phänomene liegt in der geringeren Hydrophilie der Kopfgruppenbereiche von Systemen mit Chol. Demnach werden an Luft weniger Wassermoleküle eingelagert und somit eine geringere Bilagendicke festgestellt. Die Bilagen ohne Chol in Wasser hingegen stoßen sich aufgrund der höheren Hydrophilie mit einer stärkeren Hydratationskraft voneinander ab, sodass die Bilagenabstände in Wasser - trotz geringerer elektrostatischer Repulsion - größer sind, als das bei Systemen mit Chol der Fall ist.

Um neben eukaryotischen Zellmembranen auch die Zellmembran von Bakterien zu modellieren, werden geladene Lipide - wie DMPG - in die Membranen eingebaut. Allerdings sind Membranen mit DMPG in Wasser nicht stabil, sodass zur Stabilisierung nicht nativ vorkommendes Chol hinzugegeben wird.

Durch das Erwärmen des DMPC-Oligolipidbilagensystems auf Temperaturen oberhalb des Phasenübergangs werden etwaige Löcher auf einen verschwindend geringen Anteil reduziert. Gleichzeitig nimmt die Bilagendicke mit steigender Temperatur kontinuierlich ab. Bei einer Steigerung der Umgebungstemperatur auf Werte oberhalb der Phasenübergangstemperatur lösen sich in Wasser über mehrere Stunden fortwährend Bilagen vom Substrat ab. Bei der Interaktion mit AuNP sind DMPC-Systeme unterhalb der Phasenübergangstemperatur bedeutend instabiler und werden schneller abgetragen als dies unterhalb der Phasenübergangstemperatur der Fall ist. Zudem wurde zur Bestimmung der Gesamtschichtdicke des Systems mithilfe von einminütigen NR-Messungen eine Vorgehensweise dargelegt, die es ermöglicht, auch ohne die Anwesenheit von Kiessig-Oszillationen auf die Gesamtschichtdicke zu schließen. Die prä-sentierete Methode deckt sich im überprüfaren Bereich mit den Gesamtschichtdicken, die anhand der Kiessig-Oszillationen bestimmt wurden. Bei Einlagerung von 30 % Chol ist kein scharfer Phasenübergang zu beobachten und die Systeme sind auch bei deutlich höheren Temperaturen als der Phasenübergangstemperatur von DMPC über viele Stunden reproduzierbar stabil. Auch bei der Interaktion mit 500 Å großen NP sind die Systeme mit 30 % Chol im Gegensatz zu ihren Pendanten ohne Chol stabil.

Durch die Zugabe von Magnesiumchlorid zu DMPC-Systemen erhöht sich die Phasenübergangstemperatur des Systems, wobei die Einlagerung der Ionen in die Membranen auch anhand der starken Zunahme der Wiederholeinheitendicke erkannt werden

kann. Bei starker Quellung reduzierte sich die Bilagenanzahl der Systeme und nahm bei schwächerer Quellung wieder zu. Grund hierfür ist vermutlich die Bildung reversibler Vesikel.

Systeme mit Chol quellen in Salzlösungen weniger stark und die maximale Quellung findet bei höheren Salzkonzentrationen statt, da die Affinität der Membranen Salzionen einzulagern abnimmt. Zudem erhöht die Anwesenheit von Chol die Stabilität des Oligolipidbilagensystems, was sich unter anderem auch darin niederschlägt, dass ab einem Chol-Gehalt von 30 % keine Variation der Bilagenanzahlen bei unterschiedlichen Salzkonzentrationen beobachten lässt. Bei einem Chol-Anteil von 50 % ist keine bedeutende Veränderung der Wiederholeinheitendicke mehr bei einer Variation der Magnesiumchloridkonzentration zu beobachten.

Beim Vergleich verschiedener Salze übt Natriumchlorid einen unbedeutend schwachen Einfluss auf die Bilagenabstände des Oligolipidbilagensystems aus, wohingegen Magnesiumchlorid und insbesondere Kalziumchlorid einen starken Einfluss auf die Bilagenabstände nehmen. Grund hierfür ist, dass die Kopfgruppen eine höhere Einlagerungsaffinität für Magnesium- und Kalziumionen besitzen als das für Natriumionen. Ein weiterer Grund liegt in der doppelt so hohen Ladung der Magnesium- und Kalziumionen im Vergleich zu Natriumionen.

Die substratgebundenen Systeme mit Chol sind bei Kontakt mit NP deutlich stabiler, als es für die Chol-freien DMPC-Systeme der Fall ist. Trotz einer Verringerung des Lochanteils nimmt mit steigender Temperatur auch die Stabilität der DMPC-Systeme beim Kontakt mit AuNP ab. Dies schlägt sich darin nieder, dass das Oligolipidbilagensystem binnen Minuten in Anwesenheit von AuNP vom Substrat abgelöst wird. Bei der Einlagerung von 30 % Chol ist das Oligolipidbilagensystem auch bei der Phasenübergangstemperatur von DMPC und der mehrstündigen Exposition von AuNP stabil.

Bei einem Chol-Gehalt von 30 % und einem geringen Anteil an DMPG wird in Wasser eine starke Beeinflussung der Bilagenabstände durch die Einlagerung von AuNP beobachtet, wobei der Prozess lange dauert und die Ergebnisse auf eine Einlagerung von AuNP im Kopfgruppenbereich hindeuteten. In Magnesiumchloridlösungen wird der Gleichgewichtszustand bei NP-Interaktion schneller erreicht als das in Wasser der Fall ist. Durch die Zugabe von AuNP nimmt die Wiederholeinheitendicke weiter zu, wohingegen durch die Exposition von TiO₂-NP die Wiederholeinheitendicke geringfügig abnimmt. Obgleich sich die XRR-SLD der AuNP bedeutend von den SLD der anderen Komponenten abhebt, kann nicht zweifelsfrei belegt werden, dass sich die AuNP im Kopfgruppenbereich anlagern. Die durchschnittliche Größe eingelagerter AuNP ist dabei kleiner als der am häufigsten auftretende hydrodynamische Durchmesser der AuNP-Verteilung in Lösung. Im Falle von deutlich größeren AuNP resultierte nur eine sehr viel schwächere Beeinflussung der Oligolipidbilagensysteme durch die AuNP-Zugabe.

9. Zusammenfassung und Ausblick

Die Abhängigkeit der Stabilität substratgebundener Modellsysteme von ihrem Chol-Gehalt legt die Vermutung nahe, dass eukaryotische Zellen mit einem höheren Anteil an Chol weniger anfällig für eine Beschädigung durch NP-Exposition sind als eukaryotische Zellen mit einem geringen Chol-Gehalt oder gar prokaryotische Zellen - wobei ein DMPC-Oligolipidbilagensystem in vielerlei Hinsicht nur ein äußerst rudimentäres Modell mit begrenzter Aussagekraft für Prokaryoten darstellt. Für genauere Aussagen muss die Komplexität des Membranmodells weiter erhöht werden, da viele weitere Komponenten der Zelle Einfluss auf die Interaktion nehmen können. Neben den Lipiden liegt dabei ein Augenmerk auf peripheren Membranproteinen, da diese in direktem Kontakt mit den NP stehen. Es ist daher von besonderem Interesse, welchen Einfluss in diesem Fall die NP-Exposition hat. Hierbei bietet sich vor allem die parallele Durchführung von IR-Messungen mit dem von Busch *et al.* beschriebenen Aufbau an,^[71] um etwaige Änderungen in der Sekundärstruktur der Proteine zu beobachten.

Um zweifelsfrei den Einlagerungsort der NP zu belegen, eignen sich aufgrund des hohen SLD-Unterschiedes allen voran XRR-Messungen, wobei auch NR-Messungen mit durch Deuterierung angepassten Streulängenkontrasten eingesetzt werden können. Eine genaue Analyse nicht-spekularer Streuung sollte zusätzliche Möglichkeiten bieten, um auf die Lage der NP in den Modellmembransystemen zu schließen. Hierfür müsste der Lochanteil in den Membranen gesenkt werden, um überlagernde, nicht-spekulare Streuung von Defekten in der Struktur zu minimieren. Es ist jedoch nicht vorhersagbar, ob eine Modellmembranstruktur ohne Löcher die NP in die untersten Schichten vordringen lässt. Experimente und weitere Optimierungen können hier Abhilfe schaffen. Dies könnte für Filme ohne Chol durch das Erhitzen des Systems nach der Vakuumtrocknung auf 30,0 °C für einen Tag und im Fall von 30 % Chol durch die Wahl der Drehzahl von 8.000 Umdrehungen pro Minute beim Rotationsbeschichten erreicht werden.

Literatur

- [1] Donauer, J.; Schimmelpfeng, J. Nanopartikel in Konsumgütern. *Biologie in unserer Zeit* **2012**, *42*, 396–404.
- [2] Rompelberg, C.; Heringa, M. B.; van Donkersgoed, G.; Drijvers, J.; Roos, A.; Westenbrink, S.; Peters, R.; van Bommel, G.; Brand, W.; Oomen, A. G. Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from food products, food supplements and toothpaste by the Dutch population. *Nanotoxicology* **2016**, *10*, 1404–1414.
- [3] Jeong, E. H.; Jung, G.; Hong, C. A.; Lee, H. Gold nanoparticle (AuNP)-based drug delivery and molecular imaging for biomedical applications. *Archives of pharmacal research* **2014**, *37*, 53–59.
- [4] Correia, M.; Uusimäki, T.; Philippe, A.; Loeschner, K. Challenges in determining the size distribution of nanoparticles in consumer products by asymmetric flow field-flow fractionation coupled to inductively coupled plasma-mass spectrometry: the example of Al₂O₃, TiO₂, and SiO₂ nanoparticles in toothpaste. *Separations* **2018**, *5*, 56.
- [5] Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; jr., G. J. G.; Stryer, L. *Biochemie*; Stryer; Springer Spektrum: Heidelberg, 2018; Vol. 8.
- [6] Clifton, L. A.; Campbell, R. A.; Sebastiani, F.; Campos-Terán, J.; Gonzalez-Martinez, J. F.; Björklund, S.; Sotres, J.; Cárdenas, M. Design and use of model membranes to study biomolecular interactions using complementary surface-sensitive techniques. *Advances in Colloid and Interface Science* **2020**, *277*, 102118.
- [7] Qiu, C.; Blanchard, G. J. Phospholipid vesicle stability and temporal variations in acyl chain organization. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2013**, *110*, 383–390.
- [8] Fragneto, G.; Delhom, R.; Joly, L.; Scoppola, E. Neutrons and model membranes: Moving towards complexity. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2018**, *38*, 108–121.
- [9] Demtroeder, W. *Experimentalphysik 2 : Elektrizität und Optik*, 7th ed.; Springer-Link : Buecher; Springer Spektrum: Berlin, Heidelberg, 2017.
- [10] Boerner, H.; Brown, J.; Carlile, C.; Cubitt, R.; Currat, R.; Dianoux, A.; Farago, B.; Hewat, A.; Kulda, J.; Lelièvre-Berna, E. Neutron Data Booklet. *OCP Science* **2003**, *Second Edition*.

- [11] Daillant, J.; Gibaud, A. *X-ray and neutron reflectivity: principles and applications*; Springer: Berlin, Heidelberg, 2008; Vol. 770.
- [12] Penfold, J.; Thomas, R. The application of the specular reflection of neutrons to the study of surfaces and interfaces. *Journal of Physics: Condensed Matter* **1990**, *2*, 1369–1412.
- [13] Parratt, L. G. Surface studies of solids by total reflection of X-rays. *Physical review* **1954**, *95*, 359–369.
- [14] Schalke, M.; Lösche, M. Structural models of lipid surface monolayers from X-ray and neutron reflectivity measurements. *Advances in Colloid and Interface Science* **2000**, *88*, 243–274.
- [15] Salditt, T. Thermal fluctuations and stability of solid-supported lipid membranes. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2005**, *17*, R287.
- [16] Penfold, J.; Thomas, R. K. Neutron reflectivity and small angle neutron scattering: An introduction and perspective on recent progress. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2014**, *19*, 198–206.
- [17] Fragneto, G. Neutrons and model membranes. *The European Physical Journal Special Topics* **2012**, *213*, 327–342.
- [18] Russell, T. X-ray and neutron reflectivity for the investigation of polymers. *Materials science reports* **1990**, *5*, 171–271.
- [19] Kienzle, P. Neutron activation and scattering calculator. <https://www.ncnr.nist.gov/resources/activation/>, Zugriffsdatum: 22.07.2022.
- [20] Mennicke, U.; Salditt, T. Preparation of Solid-Supported Lipid Bilayers by Spin-Coating. *Langmuir* **2002**, *18*, 8172–8177.
- [21] Kiessig, H. Interferenz von Röntgenstrahlen an dünnen Schichten. *Annalen der Physik* **1931**, *402*, 769–788.
- [22] Kowarik, S.; Gerlach, A.; Hinderhofer, A.; Milita, S.; Borgatti, F.; Zontone, F.; Suzuki, T.; Biscarini, F.; Schreiber, F. Structure, morphology, and growth dynamics of perfluoro-pentacene thin films. *physica status solidi - Rapid Research Letters* **2008**, *2*, 120–122.
- [23] Garoff, S.; Sirota, E.; Sinha, S.; Stanley, H. The effects of substrate roughness on ultrathin water films. *The Journal of chemical physics* **1989**, *90*, 7505–7515.

- [24] Campbell, R. A.; Saaka, Y.; Shao, Y.; Gerelli, Y.; Cubitt, R.; Nazaruk, E.; Matyszevska, D.; Lawrence, M. J. Structure of surfactant and phospholipid monolayers at the air/water interface modeled from neutron reflectivity data. *Journal of Colloid and Interface Science* **2018**, *531*, 98–108.
- [25] Tasaki, S. Effects of interface roughness in a multilayer system on neutron reflectivity. *Journal of applied physics* **1992**, *71*, 2375–2379.
- [26] Dalgliesh, R. Application of off-specular scattering of X-rays and neutrons to the study of soft matter. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2002**, *7*, 244–248.
- [27] Hayter, J. B.; Mook, H. Discrete thin-film multilayer design for X-ray and neutron supermirrors. *Journal of Applied Crystallography* **1989**, *22*, 35–41.
- [28] Castel, A.; Gutfreund, P.; Cabane, B.; Rharbi, Y. Stability of Fluid Ultrathin Polymer Films in Contact with Solvent-Loaded Gels for Cultural Heritage. *Langmuir* **2020**, *36*, 12607–12619.
- [29] Strobl, M.; Steitz, R.; Kreuzer, M.; Rose, M.; Herrlich, H.; Mezei, F.; Grunze, M.; Dahint, R. BioRef: A versatile time-of-flight reflectometer for soft matter applications at Helmholtz–Zentrum Berlin. *Review of Scientific Instruments* **2011**, *82*, 055101.
- [30] Trapp, M.; Steitz, R.; Kreuzer, M.; Strobl, M.; Rose, M.; Dahint, R. BioRef II- Neutron reflectometry with relaxed resolution for fast, kinetic measurements at HZB. *Review of Scientific Instruments* **2016**, *87*, 105112.
- [31] Campbell, R. A.; Wacklin, H. P.; Sutton, I.; Cubitt, R.; Fragneto, G. FIGARO: The new horizontal neutron reflectometer at the ILL. *The European Physical Journal Plus* **2011**, *126*, 107.
- [32] Saerbeck, T.; Cubitt, R.; Wildes, A.; Manzin, G.; Andersen, K. H.; Gutfreund, P. Recent upgrades of the neutron reflectometer D17 at ILL. *Journal of Applied Crystallography* **2018**, *51*, 249–256.
- [33] Paul, A.; Krist, T.; Teichert, A.; Steitz, R. Specular and off-specular scattering with polarization and polarization analysis on reflectometer V6 at BER II, HZB. *Physica B: Condensed Matter* **2011**, *406*, 1598–1606.
- [34] Mezei, F.; Golub, R.; Klose, F.; Toews, H. Focussed beam reflectometer for solid and liquid surfaces. *Physica B: Condensed Matter* **1995**, *213-214*, 898–900.
- [35] Silvi, L. Diskussion mit dem Instrumentenbetreuer von V6 Luca Silvi aufbauend auf den geometrischen Gegebenheiten, 2021.

- [36] Ghosh, S. K.; Salgin, B.; Pontoni, D.; Reusch, T.; Keil, P.; Vogel, D.; Rohwerder, M.; Reichert, H.; Salditt, T. Structure and Volta Potential of Lipid Multilayers: Effect of X-ray Irradiation. *Langmuir* **2013**, *29*, 815–824.
- [37] MacCrone, R.; Herman, H. *Treatise on Materials Science and Technology*; Academic Press: New York, 1977.
- [38] Briscoe, W. H.; Speranza, F.; Li, P.; Konovalov, O.; Bouchenoire, L.; van Stam, J.; Klein, J.; Jacobs, R. M.; Thomas, R. K. Synchrotron XRR study of soft nanofilms at the mica-water interface. *Soft Matter* **2012**, *8*, 5055–5068.
- [39] Deslattes, R. D.; Kessler Jr, E. G.; Indelicato, P.; De Billy, L.; Lindroth, E.; Anton, J. X-ray transition energies: new approach to a comprehensive evaluation. *Reviews of Modern Physics* **2003**, *75*, 35–99.
- [40] Skoda, M. W. A. Recent developments in the application of X-ray and neutron reflectivity to soft-matter systems. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2019**, *42*, 41–54.
- [41] Haller, W. Ellipsometrie-Eine Methode zur Charakterisierung dünner Filme. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1981**, *85*, 847–851.
- [42] Co., J. A. W. *Complete EASE Software Manual - Data Acquisition and Analysis Software for J.A. Woollam Co. Spectroscopic Ellipsometers*; J. A. Woollam Co., Inc.: Lincoln, 2014.
- [43] Pascu, R.; Dinescu, M. Spectroscopic ellipsometry. *Romanian Reports in Physics* **2012**, *64*, 135–142.
- [44] Hayfield, P. C. S. Ellipsometrie. *Materials and Corrosion* **1968**, *19*, 950–956.
- [45] Binnig, G.; Quate, C. F.; Gerber, C. Atomic force microscope. *Physical review letters* **1986**, *56*, 930–934.
- [46] Bauch, J.; Rosenkranz, R. *Physikalische Werkstoffdiagnostik: Ein Kompendium wichtiger Analytikmethoden für Ingenieure und Physiker*; Springer-Verlag: Berlin, 2017.
- [47] Dufrêne, Y. F.; Lee, G. U. Advances in the characterization of supported lipid films with the atomic force microscope. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **2000**, *1509*, 14–41.
- [48] Clark, N. A.; Lunacek, J. H.; Benedek, G. B. A study of Brownian motion using light scattering. *American Journal of Physics* **1970**, *38*, 575–585.

- [49] Berne, B. J.; Pecora, R. *Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics*; Courier Corporation: Mineola, 2000.
- [50] Frisken, B. J. Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. *Applied optics* **2001**, *40*, 4087–4091.
- [51] Domingues, M. M.; Santiago, P. S.; Castanho, M. A.; Santos, N. C. What can light scattering spectroscopy do for membrane-active peptide studies? *Journal of peptide science* **2008**, *14*, 394–400.
- [52] Stetefeld, J.; McKenna, S. A.; Patel, T. R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical Reviews* **2016**, *8*, 409–427.
- [53] Bhattacharjee, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release* **2016**, *235*, 337–351.
- [54] Kaszuba, M.; Corbett, J.; Watson, F. M.; Jones, A. High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. *Philosophical transactions of the royal society a: mathematical, physical and engineering sciences* **2010**, *368*, 4439–4451.
- [55] McLaughlin, S. The electrostatic properties of membranes. *Annual review of biophysics and biophysical chemistry* **1989**, *18*, 113–136.
- [56] Doane, T. L.; Chuang, C.-H.; Hill, R. J.; Burda, C. Nanoparticle ζ -Potentials. *Accounts of Chemical Research* **2012**, *45*, 317–326.
- [57] Wedler, G. *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*; VCH Verlagsgesellschaft mbH: Weinheim, 1987; Vol. 3. Auflage.
- [58] Attard, P.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W. Beyond Poisson–Boltzmann: Images and correlations in the electric double layer. II. Symmetric electrolyte. *The Journal of chemical physics* **1988**, *89*, 4358–4367.
- [59] Li, D. *Electrokinetics in microfluidics*; Elsevier: Oxford, 2004; Vol. 2.
- [60] O’sullivan, C.; Guilbault, G. Commercial quartz crystal microbalances—theory and applications. *Biosensors and bioelectronics* **1999**, *14*, 663–670.
- [61] Sauerbrey, G. Verwendung von Schwingquarzen zur Waegung duenner Schichten und zur Mikrowaegung. *Zeitschrift für physik* **1959**, *155*, 206–222.
- [62] Easley, A. D.; Ma, T.; Eneh, C. I.; Yun, J.; Thakur, R. M.; Lutkenhaus, J. L. A practical guide to quartz crystal microbalance with dissipation monitoring of thin polymer films. *Journal of Polymer Science* **2022**, *60*, 1090–1107.

- [63] Brewer, S. H.; Glomm, W. R.; Johnson, M. C.; Knag, M. K.; Franzen, S. Probing BSA Binding to Citrate-Coated Gold Nanoparticles and Surfaces. *Langmuir* **2005**, *21*, 9303–9307.
- [64] Rodahl, M.; Hook, F.; Fredriksson, C.; Keller, C. A.; Krozer, A.; Brzezinski, P.; Voinova, M.; Kasemo, B. Simultaneous frequency and dissipation factor QCM measurements of biomolecular adsorption and cell adhesion. *Faraday discussions* **1997**, *107*, 229–246.
- [65] Reviakine, I.; Johannsmann, D.; Richter, R. P. Hearing What You Cannot See and Visualizing What You Hear: Interpreting Quartz Crystal Microbalance Data from Solvated Interfaces. *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 8838–8848.
- [66] Cho, N.-J.; Frank, C. W.; Kasemo, B.; Höök, F. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring of supported lipid bilayers on various substrates. *Nature protocols* **2010**, *5*, 1096–1106.
- [67] Voinova, M. V.; Rodahl, M.; Jonson, M.; Kasemo, B. Viscoelastic acoustic response of layered polymer films at fluid-solid interfaces: continuum mechanics approach. *Physica Scripta* **1999**, *59*, 391–396.
- [68] Ferry, J. D. *Viscoelastic properties of polymers*; John Wiley and Sons, 1980.
- [69] Halstenberg, S.; Heimburg, T.; Hianik, T.; Kaatzke, U.; Krivanek, R. Cholesterol-Induced Variations in the Volume and Enthalpy Fluctuations of Lipid Bilayers. *Biophysical Journal* **1998**, *75*, 264–271.
- [70] Schwoerer, F.; Trapp, M.; Xu, X.; Soltwedel, O.; Dzubiella, J.; Steitz, R.; Dahint, R. Drastic Swelling of Lipid Oligobilayers by Polyelectrolytes: A Potential Molecular Model for the Internal Structure of Lubricating Films in Mammalian Joints. *Langmuir* **2018**, *34*, 1287–1299.
- [71] Busch, C.; Nagy, B.; Stoecklin, A.; Gutfreund, P.; Dahint, R.; Ederth, T. A mobile set-up for simultaneous and in situ neutron reflectivity, infrared spectroscopy, and ellipsometry studies. *Review of Scientific Instruments* **2022**, *93*, 114102–1–12.
- [72] Schwoerer, F. Charakterisierung von Lipid-Oligolagen nach Zugabe von Hyaluronsäure und polymeren Ersatzstoffen zur Aufklärung möglicher Wirkmechanismen in der Viskosupplementation. Thesis, 2017; Dissertation, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg.
- [73] Kern, W. Cleaning solution based on hydrogen peroxide for use in silicon semiconductor technology. *RCA review* **1970**, *31*, 187–205.

- [74] Onyiriuka, E.; Moore, C.; Fehlner, F.; Binkowski, N.; Salamida, D.; King, T.; Couillard, J. Effect of RCA cleaning on the surface chemistry of glass and polysilicon films as studied by ToF-SIMS and XPS. *Surface and Interface Analysis* **1998**, *26*, 270–277.
- [75] Nelson, A. R.; Prescott, S. W. refnx: neutron and X-ray reflectometry analysis in Python. *Journal of applied crystallography* **2019**, *52*, 193–200.
- [76] Jellison, G.; Chisholm, M.; Gorbatskiy, S. Optical functions of chemical vapor deposited thin-film silicon determined by spectroscopic ellipsometry. *Applied physics letters* **1993**, *62*, 3348–3350.
- [77] Demtroeder, W. *Laserspektroskopie 1 : Grundlagen*, 6th ed.; Springer eBook Collection; Springer: Berlin, Heidelberg, 2011.
- [78] Maulucci, G.; De Spirito, M.; Arcovito, G.; Boffi, F.; Castellano, A. C.; Briganti, G. Particle size distribution in DMPC vesicles solutions undergoing different sonication times. *Biophysical journal* **2005**, *88*, 3545–3550.
- [79] Mason, P.; Nagle, J.; Epand, R.; Katsaras, J. Anomalous swelling in phospholipid bilayers is not coupled to the formation of a ripple phase. *Physical Review E* **2001**, *63*, 030902.
- [80] Williams, P. F.; Powell, G. L.; LaBerge, M. Sliding Friction Analysis of Phosphatidylcholine as a Boundary Lubricant for Articular Cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* **1993**, *207*, 59–66.
- [81] Hidalgo, A.; Cruz, A.; Pérez-Gil, J. Pulmonary surfactant and nanocarriers: Toxicity versus combined nanomedical applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **2017**, *1859*, 1740–1748.
- [82] Ladbrooke, B.; Chapman, D. Thermal analysis of lipids, proteins and biological membranes a review and summary of some recent studies. *Chemistry and Physics of Lipids* **1969**, *3*, 304–356.
- [83] Caffrey, M.; Moynihan, D.; Hogan, J. A database of lipid-phase transition temperatures and enthalpy changes. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* **1991**, *31*, 275–284.
- [84] Janiak, M. J.; Small, D. M.; Shipley, G. G. Nature of the thermal pretransition of synthetic phospholipids: dimyristoyl- and dipalmitoyllecithin. *Biochemistry* **1976**, *15*, 4575–4580.

- [85] Repáková, J.; Holopainen, J. M.; Morrow, M. R.; McDonald, M. C.; Čapková, P.; Vattulainen, I. Influence of DPH on the structure and dynamics of a DPPC bilayer. *Biophysical journal* **2005**, *88*, 3398–3410.
- [86] Tristram-Nagle, S.; Liu, Y.; Legleiter, J.; Nagle, J. F. Structure of Gel Phase DMPC Determined by X-Ray Diffraction. *Biophysical Journal* **2002**, *83*, 3324–3335.
- [87] Subczynski, W. K.; Pasenkiewicz-Gierula, M.; Widomska, J.; Mainali, L.; Raguź, M. High Cholesterol/Low Cholesterol: Effects in Biological Membranes: A Review. *Cell Biochemistry and Biophysics* **2017**, *75*, 369–385.
- [88] Yeagle, P. L. Cholesterol and the cell membrane. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Biomembranes* **1985**, *822*, 267–287.
- [89] Greenwood, A. I.; Tristram-Nagle, S.; Nagle, J. F. Partial molecular volumes of lipids and cholesterol. *Chemistry and Physics of Lipids* **2006**, *143*, 1–10.
- [90] Kamiński, D. M.; Czernel, G.; Murphy, B.; Runge, B.; Magnussen, O. M.; Gagoś, M. Effect of cholesterol and ergosterol on the antibiotic amphotericin B interactions with dipalmitoylphosphatidylcholine monolayers: X-ray reflectivity study. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **2014**, *1838*, 2947–2953.
- [91] Pan, J.; Mills, T. T.; Tristram-Nagle, S.; Nagle, J. F. Cholesterol perturbs lipid bilayers nonuniversally. *Phys Rev Lett* **2008**, *100*, 198103.
- [92] Giri, R. P.; Chakrabarti, A.; Mukhopadhyay, M. K. Cholesterol-Induced Structural Changes in Saturated Phospholipid Model Membranes Revealed through X-ray Scattering Technique. *The Journal of Physical Chemistry B* **2017**, *121*, 4081–4090.
- [93] McIntosh, T. J. The effect of cholesterol on the structure of phosphatidylcholine bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **1978**, *513*, 43–58.
- [94] Hung, W.-C.; Lee, M.-T.; Chen, F.-Y.; Huang, H. W. The Condensing Effect of Cholesterol in Lipid Bilayers. *Biophysical Journal* **2007**, *92*, 3960–3967.
- [95] Almeida, P. F.; Vaz, W. L.; Thompson, T. E. Lateral diffusion in the liquid phases of dimyristoylphosphatidylcholine/cholesterol lipid bilayers: a free volume analysis. *Biochemistry* **1992**, *31*, 6739–6747.
- [96] de Meyer, F. J. M.; Benjamini, A.; Rodgers, J. M.; Misteli, Y.; Smit, B. Molecular Simulation of the DMPC-Cholesterol Phase Diagram. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 10451–10461.

- [97] Mainali, L.; Raguz, M.; Subczynski, W. K. Formation of Cholesterol Bilayer Domains Precedes Formation of Cholesterol Crystals in Cholesterol/Dimyristoylphosphatidylcholine Membranes: EPR and DSC Studies. *The Journal of Physical Chemistry B* **2013**, *117*, 8994–9003.
- [98] Huang, J. Exploration of molecular interactions in cholesterol superlattices: effect of multibody interactions. *Biophysical journal* **2002**, *83*, 1014–1025.
- [99] Huang, J.; Feigenson, G. W. A microscopic interaction model of maximum solubility of cholesterol in lipid bilayers. *Biophysical journal* **1999**, *76*, 2142–2157.
- [100] Böhlke, J. K.; Laeter, J. R. d.; Bièvre, P. D.; Hidaka, H.; Peiser, H. S.; Rosman, K. J. R.; Taylor, P. D. P. Isotopic Compositions of the Elements, 2001. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **2005**, *34*, 57–67.
- [101] Henke, B. L.; Gullikson, E. M.; Davis, J. C. X-ray interactions: photoabsorption, scattering, transmission, and reflection at E= 50-30,000 eV, Z= 1-92. *Atomic data and nuclear data tables* **1993**, *54*, 181–342.
- [102] Kienzle, P. Extensible periodic table (Version 1.5.2). 2008-2019; <https://periodictable.readthedocs.io>, Zugriffsdatum: 22.07.2022.
- [103] Anderson, I. S.; Brown, P. J.; Carpenter, J. M.; Lander, G.; Pynn, R.; Rowe, J. M.; Schärpf, O.; Sears, V. F.; Willis, B. T. M. In *International Tables for Crystallography Volume C: Mathematical, physical and chemical tables*; Prince, E., Ed.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2004.
- [104] Prince, E. E. *International Tables for Crystallography Volume C: Mathematical, physical and chemical tables*; Sears, V. F.: Scattering lengths for neutrons; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Boston, London, 2006.
- [105] Shleien, B.; Slaback, L. A.; Birky, B. K. *Handbook of health physics and radiological health*; Williams and Wilkins Baltimore, 1998.
- [106] IAEA, Handbook on Nuclear Activation Data. *IAEA Technical Reports Series* **1987**, *273*, 29.
- [107] Kannenberg, E. L.; Poralla, K. Hopanoid biosynthesis and function in bacteria. *Naturwissenschaften* **1999**, *86*, 168–176.
- [108] Ourisson, G.; Rohmer, M. Hopanoids. 2. Biohopanoids: a novel class of bacterial lipids. *Accounts of Chemical Research* **1992**, *25*, 403–408.

- [109] Shireen, T.; Basu, A.; Sarkar, M.; Mukhopadhyay, K. Lipid composition is an important determinant of antimicrobial activity of alpha-melanocyte stimulating hormone. *Biophysical Chemistry* **2015**, *196*, 33–39.
- [110] Epanand, R. M.; Epanand, R. F. Bacterial membrane lipids in the action of antimicrobial agents. *Journal of Peptide Science* **2011**, *17*, 298–305.
- [111] Romantsov, T.; Guan, Z.; Wood, J. M. Cardiolipin and the osmotic stress responses of bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **2009**, *1788*, 2092–2100.
- [112] Platre, M. P.; Jaillais, Y. Anionic lipids and the maintenance of membrane electrostatics in eukaryotes. *Plant signaling and behavior* **2017**, *12*, e1282022.
- [113] Jones, E. M.; Dubey, M.; Camp, P. J.; Vernon, B. C.; Biernat, J.; Mandelkow, E.; Majewski, J.; Chi, E. Y. Interaction of tau protein with model lipid membranes induces tau structural compaction and membrane disruption. *Biochemistry* **2012**, *51*, 2539–2550.
- [114] Gurtovenko, A. A.; Patra, M.; Karttunen, M.; Vattulainen, I. Cationic DMPC/DMTAP Lipid Bilayers: Molecular Dynamics Study. *Biophysical Journal* **2004**, *86*, 3461–3472.
- [115] Tatur, S.; Maccarini, M.; Barker, R.; Nelson, A.; Fragneto, G. Effect of Functionalized Gold Nanoparticles on Floating Lipid Bilayers. *Langmuir* **2013**, *29*, 6606–6614.
- [116] Hostetler, M. J.; Wingate, J. E.; Zhong, C.-J.; Harris, J. E.; Vachet, R. W.; Clark, M. R.; Londono, J. D.; Green, S. J.; Stokes, J. J.; Wignall, G. D.; Glish, G. L.; Porter, M. D.; Evans, N. D.; Murray, R. W. Alkanethiolate Gold Cluster Molecules with Core Diameters from 1,5 to 5,2 nm - Core and Monolayer Properties as a Function of Core Size. *Langmuir* **1998**, *14*, 17–30.
- [117] Tien, J.; Terfort, A.; Whitesides, G. M. Microfabrication through Electrostatic Self-Assembly. *Langmuir* **1997**, *13*, 5349–5355.
- [118] Ghosh, H. N.; Asbury, J. B.; Lian, T. Direct Observation of Ultrafast Electron Injection from Coumarin 343 to TiO₂ Nanoparticles by Femtosecond Infrared Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 6482–6486.
- [119] Fragneto, G.; Charitat, T.; Graner, F.; Mecke, K.; Perino-Gallice, L.; Bellet-Amalric, E. A fluid floating bilayer. *Europhysics Letters (EPL)* **2001**, *53*, 100–106.
- [120] Demtroeder, W. *Experimentalphysik 1 : Mechanik und Waerme*, 8th ed.; Springer-Lehrbuch; Springer Spektrum: Berlin , Heidelberg, 2018.

- [121] Maestro, A.; Gutfreund, P. In situ determination of the structure and composition of Langmuir monolayers at the air/water interface by neutron and X-ray reflectivity and ellipsometry. *Advances in Colloid and Interface Science* **2021**, *293*, 102434.
- [122] Keller, C. A.; Glasmästar, K.; Zhdanov, V. P.; Kasemo, B. Formation of Supported Membranes from Vesicles. *Physical Review Letters* **2000**, *84*, 5443–5446.
- [123] Sirota, E. B.; Smith, G. S.; Safinya, C. R.; Plano, R. J.; Clark, N. A. X-Ray Scattering Studies of Aligned, Stacked Surfactant Membranes. *Science* **1988**, *242*, 1406–1409.
- [124] Waldi, R. *Statistische Datenanalyse : Grundlagen und Methoden für Physiker*; SpringerLink : Buecher; Springer Spektrum: Berlin, Heidelberg, 2015.
- [125] Magarkar, A.; Dhawan, V.; Kallinteri, P.; Viitala, T.; Elmowafy, M.; Róg, T.; Bunker, A. Cholesterol level affects surface charge of lipid membranes in saline solution. *Scientific Reports* **2014**, *4*, 5005–5009.
- [126] Hobiger, G. *Kohlendioxid in Wasser mit Alkalinität*; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2015.
- [127] Inoko, Y.; Yamaguchi, T.; Furuya, K.; Mitsui, T. Effects of cations on dipalmitoyl phosphatidylcholine/cholesterol/water systems. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **1975**, *413*, 24–32.
- [128] Vist, M. R.; Davis, J. H. Phase equilibria of cholesterol/dipalmitoylphosphatidylcholine mixtures: deuterium nuclear magnetic resonance and differential scanning calorimetry. *Biochemistry* **1990**, *29*, 451–464.
- [129] Lis, L. J.; McAlister, M.; Fuller, N.; Rand, R. P.; Parsegian, V. A. Interactions between neutral phospholipid bilayer membranes. *Biophysical Journal* **1982**, *37*, 657–665.
- [130] Ladbrooke, B. D.; Williams, R. M.; Chapman, D. Studies on lecithin-cholesterol-water interactions by differential scanning calorimetry and X-ray diffraction. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **1968**, *150*, 333–340.
- [131] Rand, R. P. Interacting Phospholipid Bilayers: Measured Forces and Induced Structural Changes. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering* **1981**, *10*, 277–314.
- [132] Yongabi, D.; Jookan, S.; Givanoudi, S.; Khorshid, M.; Deschaume, O.; Bartic, C.; Losada-Pérez, P.; Wübbenhorst, M.; Wagner, P. Ionic strength controls long-term

- cell-surface interactions – A QCM-D study of *S. cerevisiae* adhesion, retention and detachment. *Journal of Colloid and Interface Science* **2021**, *585*, 583–595.
- [133] Cowley, A. C.; Fuller, N. L.; Rand, R. P.; Parsegian, V. A. Measurement of repulsive forces between charged phospholipid bilayers. *Biochemistry* **1978**, *17*, 3163–3168.
- [134] Ferraris, S.; Cazzola, M.; Peretti, V.; Stella, B.; Spriano, S. Zeta Potential Measurements on Solid Surfaces for in Vitro Biomaterials Testing: Surface Charge, Reactivity Upon Contact With Fluids and Protein Absorption. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2018**, *6*, 1–7.
- [135] Kuehn, N.; Jacobasch, H.; Lunkenheimer, K. Zum Zusammenhang zwischen dem Kontaktwinkel zwischen Wasser und festen Polymeren und ihrem Zeta-Potential gegenüber waessrigen Loesungen. *Acta Polymerica* **1986**, *37*, 394–396.
- [136] Werner, C.; König, U.; Augsburg, A.; Arnhold, C.; Körber, H.; Zimmermann, R.; Jacobasch, H.-J. Electrokinetic surface characterization of biomedical polymers—a survey. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **1999**, *159*, 519–529.
- [137] Rezaei Gomari, S.; Amrouche, F.; Santos, R. G.; Greenwell, H. C.; Cubillas, P. A New Framework to Quantify the Wetting Behaviour of Carbonate Rock Surfaces Based on the Relationship between Zeta Potential and Contact Angle. *Energies* **2020**, *13*, 993.
- [138] Petrinić, I.; Bukšek, H.; Luxbacher, T.; Pušić, T.; Bischof, S. Influence of the structure of polymer fiber composites on the analysis of the zeta potential. *Journal of Applied Polymer Science* **2018**, *135*, 46227.
- [139] Petelska, A. D.; Figaszewski, Z. A. Effect of pH on the Interfacial Tension of Lipid Bilayer Membrane. *Biophysical Journal* **2000**, *78*, 812–817.
- [140] Sturtevant, J. M. The effect of sodium chloride and calcium chloride on the main phase transition of dimyristoylphosphatidylcholine. *Chemistry and Physics of Lipids* **1998**, *95*, 163–168.
- [141] Kucerka, N.; Nieh, M.-P.; Katsaras, J. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* **2011**, *1808*, 2761–2771.
- [142] Odhner, H.; Jacobs, D. Refractive index of liquid D₂O for visible wavelengths. *Journal of Chemical and Engineering Data* **2012**, *57*, 166–168.

- [143] Mizgerd, J. P.; Kobzik, L.; Warner, A. E.; Brain, J. D. Effects of sodium concentration on human neutrophil bactericidal functions. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* **1995**, *269*, L388–L393.
- [144] Jauch, K.-W.; Mutschler, W.; Hoffmann, J. N.; Kanz, K.-G. *Chirurgie Basisweiterbildung: In 100 Schritten durch den Common Trunk*; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2012.
- [145] Moritz, M. L.; Ayus, J. C. Prevention of hospital-acquired hyponatremia: a case for using isotonic saline. *Pediatrics* **2003**, *111*, 227–230.
- [146] Le, C. T. M.; Hourri, A.; Balage, N.; Smith, B. J.; Mechler, A. Interaction of Small Ionic Species With Phospholipid Membranes: The Role of Metal Coordination. *Frontiers in Materials* **2019**, *5*, 1–8.
- [147] Szcześ, A. Effects of DPPC/Cholesterol liposomes on the properties of freshly precipitated calcium carbonate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2013**, *101*, 44–48.
- [148] Kohli, A. G.; Walsh, C. L.; Szoka, F. C. Synthesis and characterization of betaine-like diacyl lipids: zwitterionic lipids with the cationic amine at the bilayer interface. *Chemistry and Physics of Lipids* **2012**, *165*, 252–259.
- [149] Vogel, M. Röntgenbeugung an hochorientierten Phospholipidmembranen. Thesis, 2000; Dissertation, Universität Potsdam.
- [150] Iraolagoitia, X. L. R.; Martini, M. F. Ca²⁺ adsorption to lipid membranes and the effect of cholesterol in their composition. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2010**, *76*, 215–220.
- [151] Parra-Ortiz, E.; Malekkhaiat Haeffner, S.; Saerbeck, T.; Skoda, M. W.; Browning, K. L.; Malmsten, M. Oxidation of polyunsaturated lipid membranes by photocatalytic titanium dioxide nanoparticles: role of pH and salinity. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2020**, *12*, 32446–32460.
- [152] Benedetto, A.; Bingham, R. J.; Ballone, P. Structure and dynamics of POPC bilayers in water solutions of room temperature ionic liquids. *The Journal of Chemical Physics* **2015**, *142*, 124706.
- [153] Gershfeld, N. L. Equilibrium Studies of Lecithin-Cholesterol Interactions: I. Stoichiometry of Lecithin-Cholesterol Complexes in Bulk Systems. *Biophysical Journal* **1978**, *22*, 469–488.
- [154] Riedel, E.; Janiak, C. *Anorganische Chemie*; De Gruyter: Berlin, Boston, 2015; Vol. 9. Auflage.

- [155] Sambrook, J. A laboratory manual. *Molecular cloning* **2001**, 1.
- [156] De, S. K.; Kanwa, N.; Ahamed, M.; Chakraborty, A. Spectroscopic evidence for hydration and dehydration of lipid bilayers upon interaction with metal ions: a new physical insight. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2018**, 20, 14796–14807.
- [157] Marra, J.; Israelachvili, J. Direct measurements of forces between phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine bilayers in aqueous electrolyte solutions. *Biochemistry* **1985**, 24, 4608–4618.
- [158] Lis, L.; Lis, W.; Parsegian, V.; Rand, R. Adsorption of divalent cations to a variety of phosphatidylcholine bilayers. *Biochemistry* **1981**, 20, 1771–1777.
- [159] Mennicke, U.; Constantin, D.; Salditt, T. Structure and interaction potentials in solid-supported lipid membranes studied by X-ray reflectivity at varied osmotic pressure. *The European Physical Journal E* **2006**, 20, 221–230.
- [160] Scheid, H.; Schwarz, W. *Elemente der Geometrie*, 5th ed.; SpringerLink : Buecher; Springer Spektrum: Berlin, Heidelberg, 2017.
- [161] Wolfram|Alpha, https://www.wolframalpha.com/input?i=0%3D%281%2F2*65*%284%2F3*pi*x%5E3-1%2F3*pi*%282*x-10.81%29%5E2*%28x%2B10.81%29%29%29%2F%281%2F3*pi*10.81*%282*x-10.81%29%5E2*%28x%2B10.81%29%29-%281%2F120%29%2F%281%2F310%29, Zugriffsdatum: 03.08.2022.
- [162] Makino, K.; Yamada, T.; Kimura, M.; Oka, T.; Ohshima, H.; Kondo, T. Temperature- and ionic strength-induced conformational changes in the lipid head group region of liposomes as suggested by zeta potential data. *Biophysical Chemistry* **1991**, 41, 175–183.
- [163] Shikhman, V. *Trigonometrische Funktionen*; Studienbuecher Wirtschaftsmathematik; Springer Fachmedien Wiesbaden, 2019.
- [164] Post, J. J. In *Anleitung zur Planung und Auswertung von Feldversuchen mit Hilfe der Varianzanalyse*; Post, J. J., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 1952.

Danksagung

Tanja Ramona Schmitt: Danke für die Unterstützung an meine Stimme der Vernunft.

Reiner Dahint: Danke für das Gewähren eines Unterschlupfs in einer kalten Winter-
nacht in Grenoble, politische Diskussionen und eine Betreuung mit der notwendigen
Freiheit, durch die ich mich in den Jahren im Arbeitskreis frei entfalten konnte.

Mitarbeiter APC: Danke für die große Expertise und Professionalität, die stets dazu
führten, dass bei auftretenden Herausforderungen die angebotenen Lösungen die Er-
wartungen in der Regel noch übertrafen.

Philipp Gutfreund: Danke für die stets schnelle Beantwortung unzähliger Fragen, die
Ergänzung der Daten durch die Auswertung nicht-spekularer Daten sowie für das Ent-
gegennehmen jeglicher Anrufe tagsüber und mitten in der Nacht.

Luca Silvi: Danke für die Beantwortung meiner vieler Fragen, ebenfalls das Entge-
gennehmen jedes Anrufs mitten in der Nacht und der anregenden Diskussion zu den
geometrischen Überlegungen, welche zur Vereinfachung meiner Notationen führten.

Team Tanaka: Danke für den freundschaftlichen Umgang und die stets helfenden Hän-
de an: **Sven Mehlhose** für das Entgegennehmen jedes Anrufs, wenn mal wieder ein
Treiber bei den XRR-Messungen nicht wollte, und der Hilfe bei den AFM-Messungen.

Julian Czajor, der auch die Einführung in den Titanmikrospitzen sonicator S3000 und
Malvern Zetasizer Nano ZS vornahm und auch jede Rückfrage umgehend beantwor-
tete. **Stefan Kaufmann**, der mich am MicroCal VP-DSC einwies und generell für al-
le biologische Fragen ein Ohr hatte. **Wasim Abuillan**, der mir sämtliche Fragen hin-
sichtlich des Systems und der XRR-Messungen zuvorkommend beantwortete. **Felix
Weissenfeld** für die Einführung in die Herstellung der GUVs und die Gespräche wäh-
rend der Aufenthalte in den Laboratorien des AK Tanakas. Auch den anderen Mitarbei-
ter*innen des AK Tanakas **Philipp Linke**, **Esther Kimmle**, **Judith Thoma**, **Bahareh
Pour**, **Zahra Hajian Foroushani**, **Danny Egic** und **Natalie Munding** gebührt ein Dank,
die zusammen mit den bereits aufgeführten für die fast schon euphorische Stimmung
in den Gängen und Laboratorien sorgten. Die lauten heeeeeey-Rufe quer durch die
Gänge und Laboratorien werden mir fehlen.

Verwaltungsteam: **Benjamin Scherke** (heeeey), **Swetlana Duchnay**, **Karin Jordan**,
Isabella Haffelder und **Anja Ihli**. Ihre administrative Arbeit vereinfachten mir das Auf-
bauen einer Routine in diesen Themen stark.

Student*innen: Danke an alle Studierenden, die bei uns ein Forschungspraktikum,
ihre Bachelor- oder Masterarbeit absolvierten und dadurch neue Impulse in den Ar-
beitskreis einbrachten sowie es ermöglichten, dass der Laborbetrieb sehr aktiv blieb,
während Messzeiten, deren Vorbereitung, Auswertung oder einfach nur das Schreiben
dem eigentlich im Weg standen. Hierbei handelt es sich um **Felix Lullay**, **Garrett May**,
Lucca Neupert, **Leo Lutz**, **Philipp Theobald**, **Elisabeth Wolcke**, **Vincenz Kohler**,

Philippe de Bary, Friederike Schneider, Marlin Turan, Tim Wielandt und Oktay Apari.

Korrekturleser*innen Danke an all diejenigen, die diese Arbeit nochmals quergelesen haben, um rückzumelden, welche Worte in der Arbeit zu oft und welche nie fallen und wo ein Gedankensprung noch eines weiteren Satzes bedarf, um die Kausalität besser aufzuzeigen.

Der Dank hierfür geht an meine Freundin und Chemikerin **Tanja Schmitt**, der Geisteswissenschaftlerin und ehemaligen Mitbewohnerin **Janine Baumann** sowie **Lucas Korn**, der mit mir das Lehramtsstudium in Physik und Chemie in Heidelberg sowie das Referendariat am Seminar Freiburg absolvierte, und **Christoph Köhler**, Chemie- und Biologielehrer, der mit mir in Heidelberg Chemie Lehramt studierte.

Hans-Robert Volpp: Danke an den Vermittler, ohne den ich vermutlich nicht im Arbeitskreis Dahint gelandet wäre.

Christian Busch: Danke an den weiteren Doktoranden des Arbeitskreises, der zusammen mit Reiner Dahint zu zweit am ILL für eine Nacht messen musste, da sich mein Körper am dritten Tag ohne eine Schlafphase von über 90 Minuten jeglichen Weckergeräuschen widersetzte und einfach acht Stunden am Stück nicht zu wecken war. Zudem danke für das Nahelegen der Software Motofit sowie das Skizzieren deren Möglichkeiten, sodass ich in Folge dessen dieses Programm verwendete, um die NR- und XRR-Daten auszuwerten.

Team Zharnikov: Danke an Andika Asyuda, der mit seiner humorvollen Art ebenfalls für eine gute und angenehme Atmosphäre im Erdgeschoss von INF 253 sorgte. Auch für eine gute Zusammenarbeit im Erdgeschoss sorgten Saunak Das, Yangbiao Liu und Zhiyong Zhao.

Team Zaumseil: Danke für die formlose Hilfe, falls sehr kurzfristig ein Schraubdeckelglas in bestimmter Größe oder ein Layout für eine Präsentation benötigt wurde.

Verwandte und Freund*innen: Danke an meine Eltern, die es mit zwei solchen Prachtexemplaren als Zwillinge sicher nicht einfach hatten, an meinen Bruder, der die Entscheidung unterstützte während des bzw. nach dem Referendariat ein Promotionsstudium zu absolvieren, an meine Omas, bei denen ich während der Telefonate nie weiß, ob sie oder ich mehr lachen, und an alle anderen Verwandten. Meinen Freund*innen, die immer da sind, wenn beispielsweise mal wieder umgezogen wird und nicht böse sind, wenn ich aufgrund der Arbeit in der Versenkung verschwinde. Ein Dankeschön an **Dominic** und **Lisa Bohny**, die mich während der Promotion zu einem ihrer beiden Trauzeugen machten sowie **Alexander Espe-Zobeley** und **Freya Espe**, die mich während der Promotion zu einem der beiden Taufpaten ihrer Tochter **Lotta-Milou** machten. Danke an **Anne-Marie Hoffstädt** für die Fahrradtouren donnerstagabends, die einen guten Ausgleich zur Arbeit darstellten.

Anhang

A Geometrische Überlegung zur Kristallausleuchtung an V6

Der Zusammenhang, welcher für das Prozessieren der Daten entscheidend ist, wird dabei prinzipiell durch den Ausdruck in Gleichung A.1 beschrieben. Dabei entspricht die Reflektivität in Abhängigkeit von dem Probenwinkel $R(\theta_P)$ dem Verhältnis aus der gemessenen, reflektierten Neutronenintensität I_R und der in Transmission durch den Kristall gemessenen Neutronenintensität I_0 sowie einem Korrekturfaktor, der sich aus der geometrischen Überlegung in Abbildung A.1 ergibt. Der Korrekturfaktor ist abhängig vom Probenwinkel θ_P , Footprint f - welcher der Projektion des Neutronenstrahls auf die Kristallebene entspricht, der Breite des vollständig auf die Probe treffenden Neutronenstrahls b und der ausgeleuchteten Fläche des Kristalls $A_{a1}(\theta_P)$.

$$R(\theta_P) = \frac{I_R}{\frac{A_a(\theta_P)}{f(\theta_P) \cdot b} \cdot I_0} \quad (\text{A.1})$$

Die geometrischen Überlegungen unterscheiden sich je nach Probenwinkel, sodass zwischen drei Fällen unterschieden wird: überstrahlter Kristall, seitlich überstrahlter Kristall und Neutronenstrahl trifft vollständig auf die Probe. In Abbildung A.1 ist der überstrahlte Kristall dargestellt.

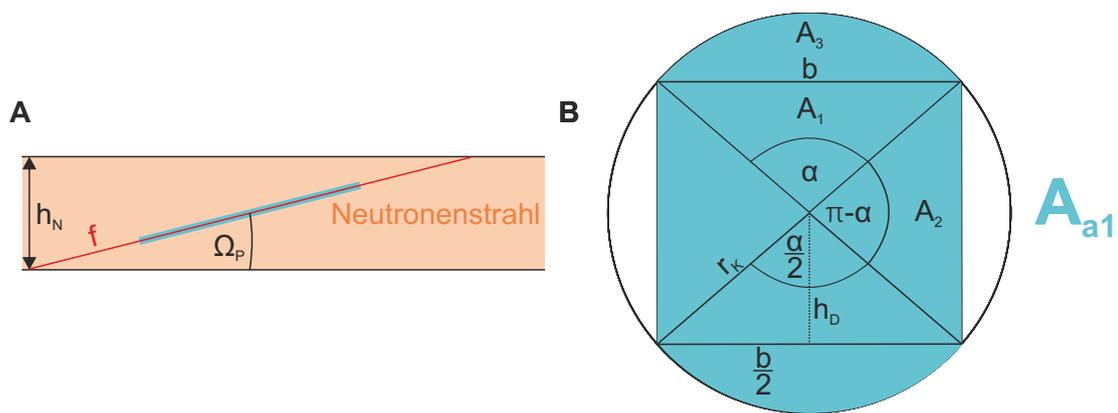


Abbildung A.1. Geometrie im Falle eines überstrahlten Kristalls. **A** Dargestellt ist die Orientierung des blau dargestellten Kristalls innerhalb des Neutronenstrahls. Dabei entspricht h_N der Höhe des einfallenden Neutronenstrahls, f dem Footprint und θ_P dem Probenwinkel.

B Es ist der Teil des Kristalls von oben zu sehen, welcher innerhalb des Dichtungsringes liegt, da dieser Teil für die geometrischen Überlegungen von Interesse ist. Die blaue Fläche entspricht der ausgeleuchteten Fläche A , welche sowohl vom Radius r_k des Kristalls und der Breite des Neutronenstrahls b abhängt. Von b hängt ebenfalls der Öffnungswinkel α ab.

Die für Gleichung A.1 wichtige Größe des Footprints f lässt sich mithilfe der geome-

A. Geometrische Überlegung zur Kristallausleuchtung an V6

trischen Überlegung in Abbildung A.1A ableiten. Der sich daraus ergebende Zusammenhang ist in Gleichung A.2 dargestellt und lässt sich durch eine Umformung in Gleichung A.3 überführen. Dabei entspricht h_N der Höhe des Neutronenstrahls und θ_P dem Probenwinkel.

$$\sin(\theta_P) = \frac{h_N}{f(\theta_P)} \quad (\text{A.2})$$

$$f(\theta_P) = \frac{h_N}{\sin(\theta_P)} \quad (\text{A.3})$$

In Gleichung A.1 bleibt der Ausdruck $A(\theta_P)$ für die ausgeleuchtete Fläche zunächst offen und wird im Folgenden diskutiert.

A.1 Überstrahlter Kristall

Für den Fall, dass der Probenwinkel θ_P noch so klein ist, dass der Kristall oberhalb und unterhalb überstrahlt wird, zeigt Abbildung A.1B, welche Fläche des Kristalls ausgeleuchtet wird. Das ist der Fall für $f \geq 2 \cdot R$ bzw. $\theta_P \leq \arcsin\left(\frac{h_N}{2 \cdot r_k}\right)$. Die ausgeleuchtete Fläche A_{a1} ist abhängig von der Breite des Neutronenstrahls b und dem Radius r_k des Kristalls bis zur Innenkante des Dichtungsringes. Die ausgeleuchtete Fläche A_{a1} ergibt sich aus den Teilflächen A_1 , A_2 und A_3 in Abbildung A.1B. Wie mithilfe von Abbildung A.1B zu erkennen ist, gilt für $\cos\left(\frac{\alpha}{2}\right)$ die in Gleichung A.4 beschriebene Beziehung. Wird Gleichung A.4 nach h_D umgestellt, ergibt sich der Zusammenhang in Gleichung A.5. Dabei ist der Winkel α von der Breite des Neutronenstrahls b und dem Radius des Kristalls r_k abhängig.

$$\cos\left(\frac{\alpha}{2}\right) = \frac{h_D}{r_k} \quad (\text{A.4})$$

$$h_D = r_k \cdot \cos\left(\frac{\alpha}{2}\right) \quad (\text{A.5})$$

Analog kann der Sinus gebildet werden, um den Zusammenhang zwischen α und b zu erhalten. Diese Schritte sind den Gleichungen A.6 und A.7 zu entnehmen.

$$\sin\left(\frac{\alpha}{2}\right) = \frac{b}{2 \cdot r_k} \quad (\text{A.6})$$

$$b = 2 \cdot r_k \cdot \sin\left(\frac{\alpha}{2}\right) \quad (\text{A.7})$$

Der Flächeninhalt des Dreiecks A_1 entspricht der Hälfte des Produkts aus der Grundfläche des Dreiecks - welche b entspricht - und der Höhe des Dreiecks h_D . Mit dieser Annahme kann Gleichung A.8 formuliert werden. Die Beziehungen aus den Gleichungen A.6 und A.7 werden beim Umformen von Gleichung A.8 auf A.9 verwendet. Mithilfe

A. Geometrische Überlegung zur Kristallausleuchtung an V6

der Doppelwinkelfunktion lässt sich Gleichung A.9 in A.10 überführen.^[163, S. 135]

$$A_1 = \frac{1}{2} \cdot b \cdot h_D \quad (\text{A.8})$$

$$= \frac{1}{2} \cdot 2 \cdot r_k \cdot \sin\left(\frac{\alpha}{2}\right) \cdot r_k \cdot \cos\left(\frac{\alpha}{2}\right) \quad (\text{A.9})$$

$$= \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot \sin(\alpha) \quad (\text{A.10})$$

Analog zu der soeben durchgeführten Überlegung in Gleichung A.10 lässt sich die Fläche A_2 mit einem Vergleich von Abbildung A.1B erhalten. Somit folgt der in Gleichung A.11 dargestellte Zusammenhang für A_2 . Bei der Umformung von Gleichung A.11 zu A.12 wurde berücksichtigt, dass $\sin(\pi - \alpha) = \sin(\alpha)$ gilt.

$$A_2 = \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot \sin(\pi - \alpha) \quad (\text{A.11})$$

$$= \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot \sin(\alpha) \quad (\text{A.12})$$

Zur Berechnung von A_{a1} steht A_3 aus. Bei einer Betrachtung der Abbildung A.1B wird ersichtlich, dass die Summe aus A_1 und A_3 gerade den Teilausschnitt des Kreises bildet, der durch α aufgespannt wird. Aus dieser Überlegung resultiert unmittelbar Gleichung A.13. Wird diese Gleichung nach A_3 umgestellt und für A_3 der in Gleichung A.10 erhaltene Term eingesetzt, ergibt sich der Flächeninhalt A_3 in Gleichung A.14.

$$A_1 + A_3 = \frac{\alpha}{2 \cdot \pi} \cdot \pi \cdot r_k^2 \quad (\text{A.13})$$

$$A_3 = \frac{\alpha}{2} \cdot r_k^2 - \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot \sin(\alpha) = \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot [\alpha - \sin(\alpha)] \quad (\text{A.14})$$

Aus den erhaltenen Teilflächen A_1 , A_2 und A_3 kann durch einen Vergleich mit Abbildung A.1B auf die ausgeleuchtete Fläche geschlossen werden, wie es Gleichung A.15 zu entnehmen ist. Im Schritt von Gleichung A.15 zu A.16 wurden die Ausdrücke für A_1 , A_2 und A_3 aus den Gleichungen A.10, A.12 und A.14 eingesetzt. Somit resultiert die in Gleichung A.17 formulierte Beziehung für A_{a1} .

$$A_{a1} = 2 \cdot \sum_{i=1}^3 A_i \quad (\text{A.15})$$

$$= 2 \cdot \left[\frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot \sin(\alpha) + \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot \sin(\alpha) + \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot (\alpha - \sin(\alpha)) \right] \quad (\text{A.16})$$

$$= r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha)] \quad (\text{A.17})$$

Folglich können Gleichung A.17 und A.3 in Gleichung A.1 eingesetzt werden, sodass sich im Bereich 1 von $f(\theta_P) \leq 2 \cdot r_k$ für $R(\theta_P)$ der in Gleichung A.18 zusammenge-

A. Geometrische Überlegung zur Kristallausleuchtung an V6

fassten Ausdruck ergibt.

$$R_1(\theta_P) = \frac{I_R}{\frac{r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha)]}{\frac{h_N}{\sin(\theta_P)} \cdot b} \cdot I_0} = \frac{I_R}{\frac{r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha)]}{h_N \cdot b} \cdot \sin(\theta_P) \cdot I_0} \quad (\text{A.18})$$

Für den Erhalt der Übersichtlichkeit wird α nicht resubstituiert. Es kann jedoch durch eine Umformung aus Gleichung A.6 erhalten werden. Dieser Schritt wurde in Gleichung A.19 vollzogen.

$$\alpha = 2 \cdot \arcsin\left(\frac{b}{2 \cdot r_k}\right) \quad (\text{A.19})$$

Wie aus Abbildung A.1 hervorgeht, nimmt die Ausleuchtung der Probenoberfläche mit Neutronen gemäß Gleichung A.17 solange zu, bis der Winkel θ_{P1} erreicht wurde, bei dem der Kristall genau so positioniert ist, dass die komplette blaue Fläche noch ausgeleuchtet wird.

A.2 Teilweise überstrahlter Kristall

Sobald $f(\theta_P) < 2 \cdot r_k$, wird A_a kleiner als das noch zuvor in Abbildung A.1B und in Gleichung A.17 der Fall war. Die durch den Footprint f resultierende, kleinere Fläche A_{a2} ist in Abbildung A.2 dargestellt.

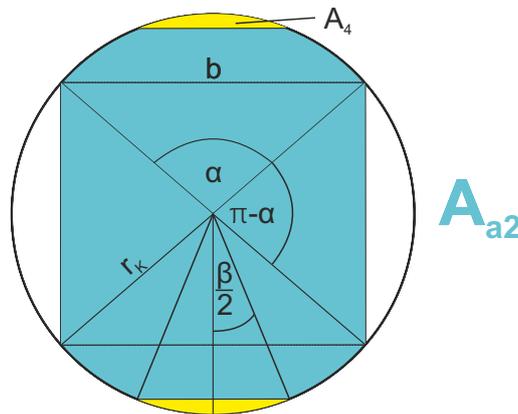


Abbildung A.2. Geometrie für die ausgeleuchtete Fläche des Kristalls im Falle, dass $\arcsin\left(\frac{h}{2 \cdot r_k}\right) < \theta_P \leq \arcsin\left(\frac{h}{[2 \cdot r_k \cdot \cos(\arcsin[b/(2 \cdot r_k)])]}\right)$ gilt. Dabei handelt es sich bei A_{a2} um den durch den Neutronenstrahl ausgeleuchteten Teil des Kristalls, während die Fläche A_4 nicht von Neutronen getroffen wird.

Die Fläche A_4 in Abbildung A.2 lässt sich analog zur Fläche A_3 im vorigen Abschnitt bestimmen. Der Unterschied ist lediglich, dass die Fläche vom Winkel $\beta(\theta_P)$ anstelle von α abhängt. Durch einen Vergleich mit Gleichung A.14 ergibt sich daher für A_4 der

A. Geometrische Überlegung zur Kristallausleuchtung an V6

in Gleichung A.20 beschriebene Zusammenhang.

$$A_4 = \frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot [\beta(\theta_P) - \sin(\beta(\theta_P))] \quad (\text{A.20})$$

Aus den Abbildungen A.1A und A.2 ergibt sich $\cos\left(\frac{\beta(\theta_P)}{2}\right)$. Die Relation von $\cos\left(\frac{\beta(\theta_P)}{2}\right)$ wird in Gleichung A.21 dargestellt. Der Winkel β kann schließlich Gleichung A.22 entnommen werden.

$$\cos\left(\frac{\beta(\theta_P)}{2}\right) = \frac{f(\theta_P)}{2 \cdot r_k} \quad (\text{A.21})$$

$$\beta(\theta_P) = 2 \cdot \arccos\left(\frac{f(\theta_P)}{2 \cdot r_k}\right) \quad (\text{A.22})$$

Die Fläche A_{a2} ist gemäß Abbildung A.2 um zweimal A_4 geringer als A_{a1} , sodass sich die für Gleichung A.1 benötigte Fläche A_{a2} in diesem Winkelbereich gemäß Gleichung A.23 berechnen lässt. Bei der Umformung von Gleichung A.23 zu A.24 wurden dabei die Ergebnisse aus den Gleichungen A.17 und A.20 verwendet. Zusammengefügt ergibt sich somit Gleichung A.25.

$$A_{a2} = A_{a1} - 2 \cdot A_4 \quad (\text{A.23})$$

$$= r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha)] - 2 \cdot \left[\frac{1}{2} \cdot r_k^2 \cdot (\beta(\theta_P) - \sin(\beta(\theta_P))) \right] \quad (\text{A.24})$$

$$= r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha) - \beta(\theta_P) + \sin(\beta(\theta_P))] \quad (\text{A.25})$$

Wird der Ausdruck für A_{a2} aus Gleichung A.25 in Gleichung A.1 eingesetzt, ergibt sich in diesem Winkelbereich die in Gleichung A.26 dargestellte Reflektivität $R(\theta_P)$.

$$R_2(\theta_P) = \frac{I_R}{\frac{r_k^2 \cdot [\alpha + \sin(\alpha) - \beta(\theta_P) + \sin(\beta(\theta_P))]}{h_N \cdot b} \cdot \sin(\theta_P) \cdot I_0} \quad (\text{A.26})$$

A.3 Vollständiges Auftreffen des Neutronenstrahls auf die Probe

Sobald $f \leq 2 \cdot h_D$, gilt für die ausgeleuchtete Fläche A_{a3} die in Abbildung A.3 und Gleichung A.27 dargestellte Beziehung.

$$A_{a3} = b \cdot f(\theta_P) \quad (\text{A.27})$$

Wird die in Gleichung A.27 beschriebene Beziehung in Gleichung A.1 eingesetzt, ergibt sich Gleichung A.28.

$$R_3(\theta_P) = \frac{I_R}{I_0} \quad (\text{A.28})$$

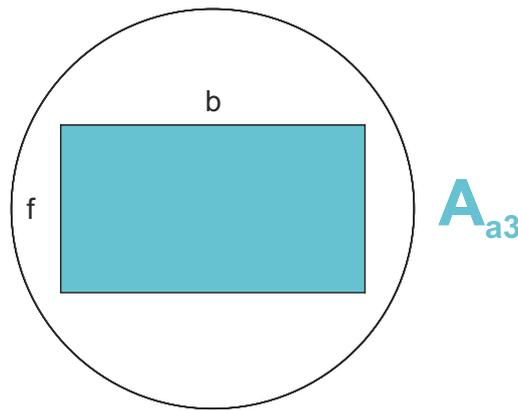


Abbildung A.3. Geometrie für die ausgeleuchtete Fläche des Kristalls im Falle, dass der Neutronenstrahl vollständig auf die Probe auftrifft.

Der Neutronenstrahl trifft vollständig auf den Bereich des Kristalls innerhalb des Dichtungsringes, sodass keine Korrektur, bedingt durch eine Überstrahlung, mehr notwendig ist.

Die dabei verwendeten Parameter sind $h = 0,5 \text{ mm}$, $b = 40,0 \text{ mm}$ und $r_k = 26,5 \text{ mm}$.^[35]

B Fehlerrechnung

Wie die Werte $A + \Delta A$ und $B + \Delta B$ miteinander verglichen werden, um festzustellen, ob sie signifikant voneinander abweichen ist in Gleichung B.1 dargestellt. Dabei wird der Parameter C berechnet, der die Abweichungen in Vielfachen der Standardabweichung angibt.^[120, S. 31] Die Bestimmung des Fehlers Δx des Mittelwerts \bar{x} mit N Messungen ist in Gleichung B.2 dargestellt. Dabei berücksichtigt der erste Summand die Fehler Δx_i , welche in die Mittelwertbildung eingegangen sind gemäß der Fehlerfortpflanzung.^[124, S. 81 f.] Der zweite Summand entspricht dem mittleren Fehler des Mittelwertes.^[164, S. 1 f.]

In den Gleichungen B.3 - B.8 sind die Fehler von in der Arbeit auftretenden Werten dargestellt.^[120, S. 31]

$$C [\sigma] = \frac{|A - B|}{\sqrt{(\Delta A)^2 + (\Delta B)^2}} \quad (\text{B.1})$$

$$\Delta x = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\Delta x_i}{N}\right)^2 + \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N \cdot (N - 1)}} \quad (\text{B.2})$$

$$\Delta d_{ges} = \sqrt{\left(\sum_i g_i N_i \Delta d_{Bilage}\right)^2 + (\Delta d_{W1})^2 + \left(\sum_i g_i (N_i - 3) \Delta d_{W2}\right)^2 + (\Delta d_{W3})^2} \quad (\text{B.3})$$

$$\Delta pH = \sqrt{(\Delta pH_0)^2 + \left(\Delta b \cdot \ln\left(\frac{A_2 - A_1}{A_2} - 1\right)\right)^2 + \left(b \cdot \frac{\Delta A_1}{A_1}\right)^2 + \left(b \cdot \frac{\Delta A_2}{A_2}\right)^2} \quad (\text{B.4})$$

$$\Delta \left. \frac{\partial \zeta}{\partial pH} \right|_{pH_0} = \sqrt{\left(\frac{\Delta A_1}{4 \cdot b}\right)^2 + \left(\frac{\Delta A_2}{4 \cdot b}\right)^2 + \left(\frac{(A_2 - A_1) \cdot \Delta b}{4 \cdot b^2}\right)^2} \quad (\text{B.5})$$

$$\Delta pH (\text{IEP}) = \sqrt{\left(\frac{\Delta \zeta_0}{m}\right)^2 + \left(\frac{\zeta_0 \cdot \Delta m}{m^2}\right)^2} \quad (\text{B.6})$$

$$\Delta N_I = \frac{V_K \cdot \Delta \rho_{SL \text{ Kopf}}^m}{\rho_{SL I} \cdot V_I} \quad (\text{B.7})$$

$$\Delta \frac{V_{AuNP}}{V_{LM}} = \sqrt{\left(\frac{\Delta \rho_{SL ges}}{\rho_{SL Au}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta \rho_{SL LM}}{\rho_{SL Au}}\right)^2} \quad (\text{B.8})$$

C AFM-Messungen der Systeme an Luft

An dieser Stelle werden die in Kapitel 5.2 präsentierten AFM-Messungen der vakuumgetrockneten DMPC-Oligolipidbilagensysteme an Luft und die Aspekte der Änderung der Oberflächenbeschaffenheit durch die Vakuumtrocknung in Unterkapitel C.1, die Auswirkungen der Heizplattentrocknung in Abschnitt C.2 sowie die Auswirkungen unterschiedlicher Rotationsprogramme auf Filme ohne und mit Chol im Abschnitt C.3, der Vergleich zu DPPC-Systemen in Unterkapitel C.4 und abschließend die Lochanteile im Film in Abschnitt C.5 beleuchtet. Sind dabei die Zeitpunkte der Trocknungen nicht angegeben, erfolgten diese an demselben Tag wie die Rotationsbeschichtung.

C.1 Vakuumtrocknung

C.1.1 100 % DMPC

Um den optimalen Zeitpunkt zur Trocknung der Oligolipidbilagen zu finden, wurden die DMPC-Oligolipidbilagensysteme zu unterschiedlichen Zeitpunkten vakuumgetrocknet. Im Fall von Abbildung C.1 wurde direkt nach der Herstellung und folgender AFM-Messung die Vakuumtrocknung durchgeführt.

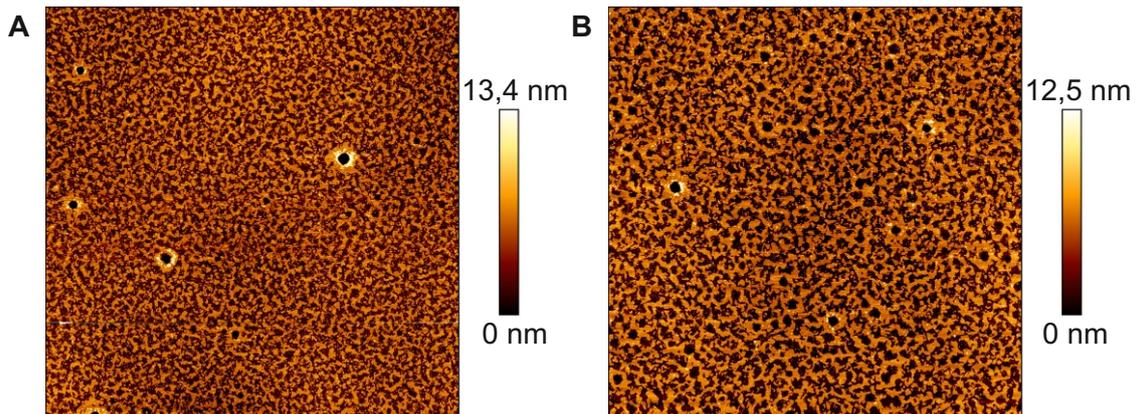


Abbildung C.1. Dargestellt sind die Topographien eines DMPC-Oligolipidbilagensystems **A** vor und **B** nach der Vakuumtrocknung.

Im Fall von Abbildung C.2 wurden vier Tage zwischen der Herstellung und der Vakuumtrocknung gewartet.

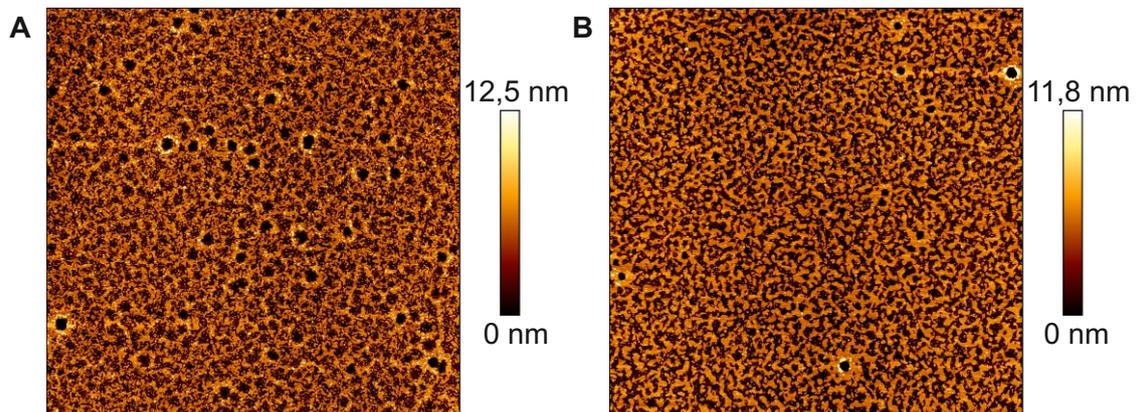


Abbildung C.2. Dargestellt sind die Topographien eines DMPC-Oligolipidbilagensystems **A** vor und **B** nach der Vakuumtrocknung, wobei zwischen der Herstellung und der Vakuumtrocknung vier Tage lagen.

Die Unterschiede zwischen den beiden erhaltenen Strukturen in den Abbildungen C.1**B** und C.2**B** sind in diesem Fall gering.

C.1.2 70 % DMPC 30 % Chol

Zunächst sind zwei ungetrocknete Systeme in Abbildung C.3 dargestellt.

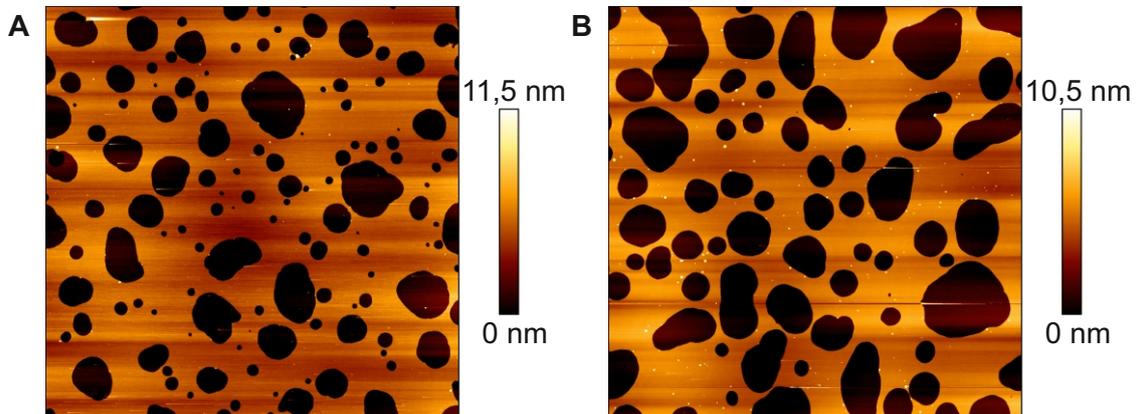


Abbildung C.3. *Abgebildet sind die Topographien zweier ungetrockneter 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme.*

Die in Abbildung C.3 dargestellten Filme wurden zu unterschiedlichen Zeiten nach ihrer Herstellung zwei Tage vakuumgetrocknet. Die anschließend vorliegende Topographien der Filme sind Abbildung C.4 zu entnehmen.

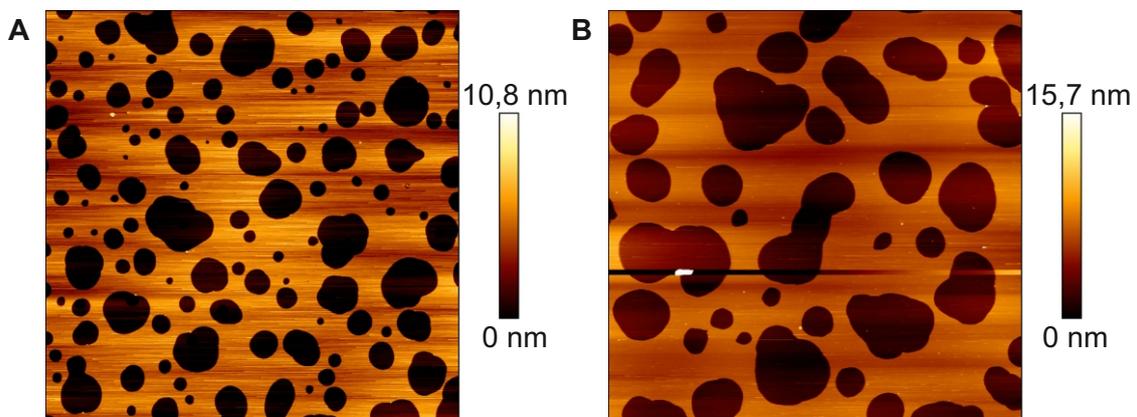


Abbildung C.4. *Abgebildet sind die Topographien zweier 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensysteme, die zwei Tage lang vakuumgetrocknet wurden. Die Trocknung erfolgte bei A nach der Herstellung, wobei im Fall von B vier Tage zwischen der Herstellung und Trocknung verstrichen sind.*

Die erhaltenen Strukturen unterscheiden sich grundlegend von denjenigen, die für die Filme ohne Chol erhalten wurden. Die unmittelbar erfolgende Vakuumtrocknung führt dazu, dass die erhaltenen Löcher in den Strukturen kleiner sind als wenn die Trocknung erst nach vier Tagen erfolgt.

C.2 Heizplattentrocknung

C.2.1 100 % DMPC

Wie anhand von Abbildung C.5 zu erkennen ist, ergeben sich durch die Heizplattentrocknung elementare strukturelle Änderungen, wie sie in diesem Maße bei der Vakuumtrocknung in den Abbildungen C.1 und C.2 nicht zu erkennen waren.

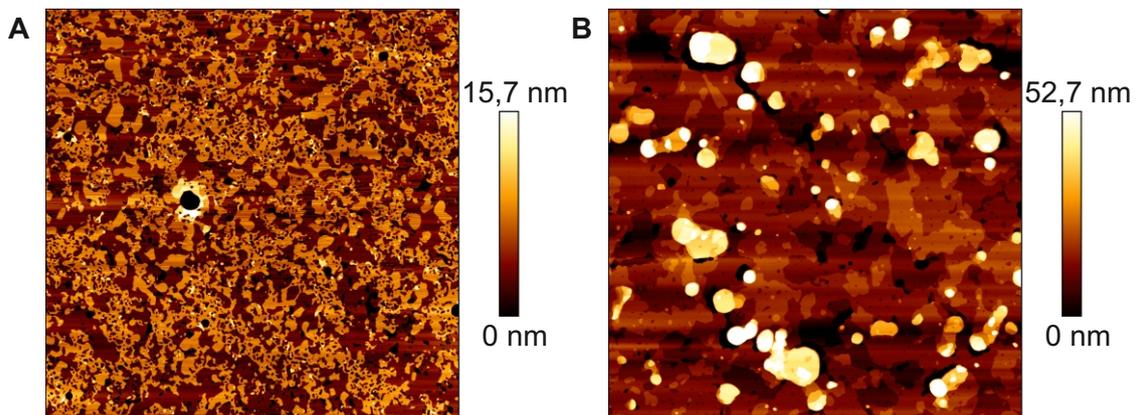


Abbildung C.5. Dargestellt sind die Topographien eines DMPC-Oligolipidbilagensystems **A** vor und **B** nach der Heizplattentrocknung bei 65° .

C.2.2 70 % DMPC 30 % Chol

Gemäß Abbildung C.6 nimmt der Lochanteil durch die Heizplattentrocknung ebenfalls zu, wobei die Lochgröße nur schwach und nicht in dem Maße wie bei Abbildung C.5 zunimmt.

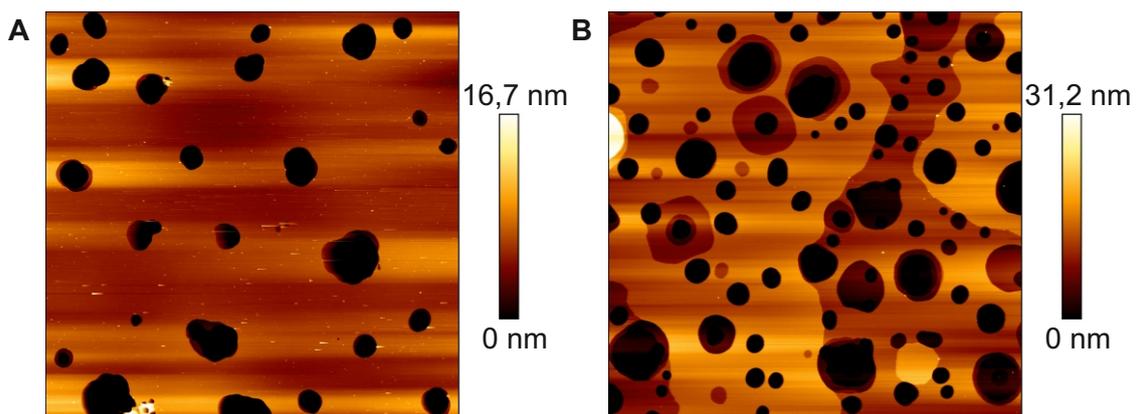


Abbildung C.6. Zu sehen ist die Topographie eines 70 % DMPC 30 %-Oligolipidbilagensystem **A** vor und **B** 6 Stunden nach der Heizplattentrocknung bei 65° .

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass der Chol-Anteil, der Zeitpunkt sowie die Art der Trocknung Einfluss auf die Struktur der DMPC-Oligolipidbilagensysteme nehmen.

C.3 Drehgeschwindigkeitsvariation bei der Rotationsbeschichtung

Neben den am häufigsten Beschichtungsprogrammen 1 und 2 sind in Tabelle C.1 auch alle weiteren noch verwendeten Programme dargestellt. Dabei wird die Drehzahl in einem breiten Bereich variiert, um deren Einfluss auf die Struktur zu evaluieren. Hierbei sind vor allem die beiden Grenzfälle mit großer und geringer Drehzahl von Interesse.

Tabelle C.1. Aufgelistet sind die Programme für die Rotationsbeschichtung, welche für die Arbeit verwendet wurden.

Beschichtungsprogramm	1	2	3	4	5	6
Umdrehungen pro Minute	500	500	-	-	-	-
Dauer [s]	1	1	-	-	-	-
Umdrehungen pro Minute	4.000	3.000	1.000	3.000	6.000	8.000
Dauer [s]	38	38	39	39	39	39

C.3.1 100 % DMPC

Die Topographien von DMPC-Oligolipidbilagensystemen mit unterschiedlichen Rotationsgeschwindigkeiten sind in den Abbildungen C.7 bis C.9 dargestellt. Dabei nimmt die Rotationsgeschwindigkeit von 1.000 über 6.000 bis 8.000 rpm zu, wobei die Rotationsdauer jeweils 39 Sekunden beträgt - wie Tabelle C.1 entnommen werden kann.

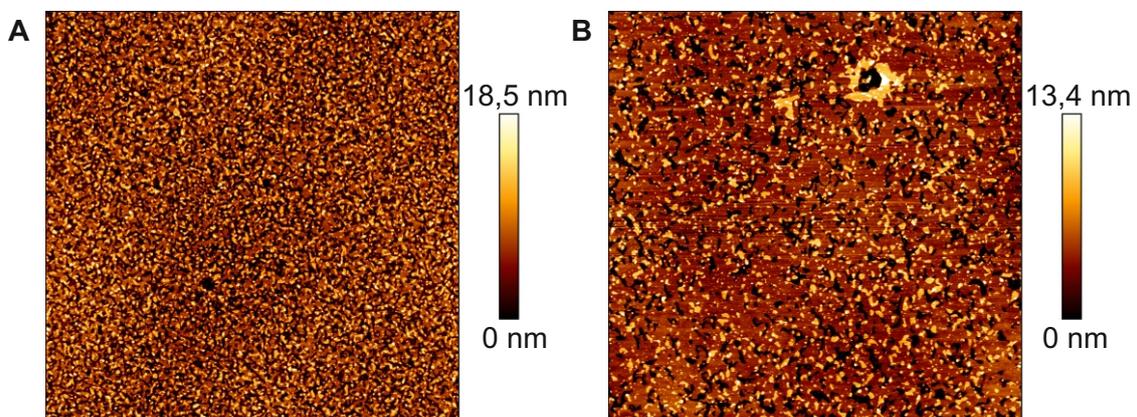


Abbildung C.7. Zu sehen sind die Topographien eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 1.000 rpm aufgebracht wurde. **A** vor der zweitägigen Vakuumtrocknung **B** danach.

C. AFM-Messungen der Systeme an Luft

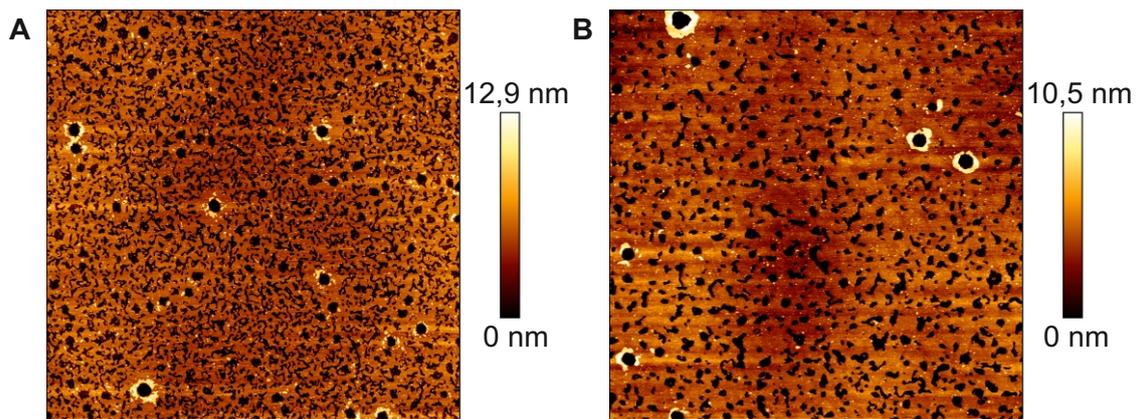


Abbildung C.8. *Abgebildet sind die Topographien eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 6.000 rpm aufgebracht wurde. **A** vor der zweitägigen Vakuumtrocknung **B** danach.*

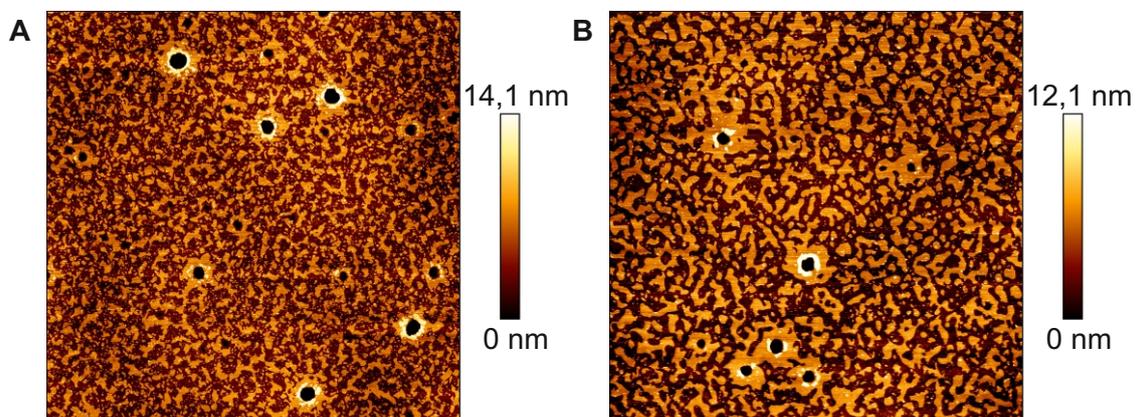


Abbildung C.9. *Dargestellt sind die Topographien eines DMPC-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 8.000 rpm aufgebracht wurde. **A** vor der zweitägigen Vakuumtrocknung **B** danach.*

Bei DMPC-Oligolipidbilagen nimmt mit höherer Drehzahl der Lochanteil zu. Bei denselben Drehzahlen wird im Folgenden das System mit einem Chol-Gehalt von 30 % untersucht werden.

C.3.2 70 % DMPC 30 % Chol

Die zu Unterkapitel C.3.1 analogen Messungen sind für Filme mit einem Chol-Anteil von 30 % in den Abbildungen C.10 bis C.12 dargestellt.

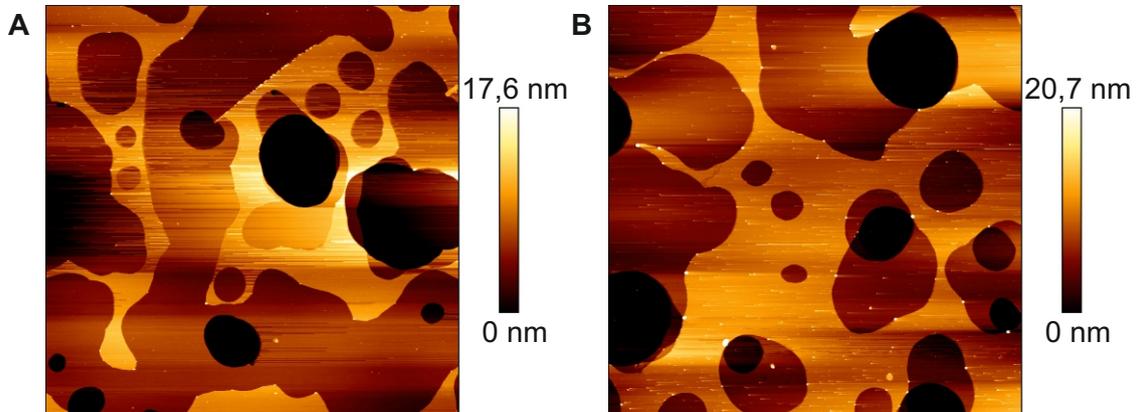


Abbildung C.10. Zu sehen sind die Topographien eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 1.000 rpm aufgebracht wurde. **A** zeigt dabei die Topographie des Oligolipidbilagensystems vor der zweitägigen Vakuumtrocknung. **B** ist die Topographie danach zu entnehmen.

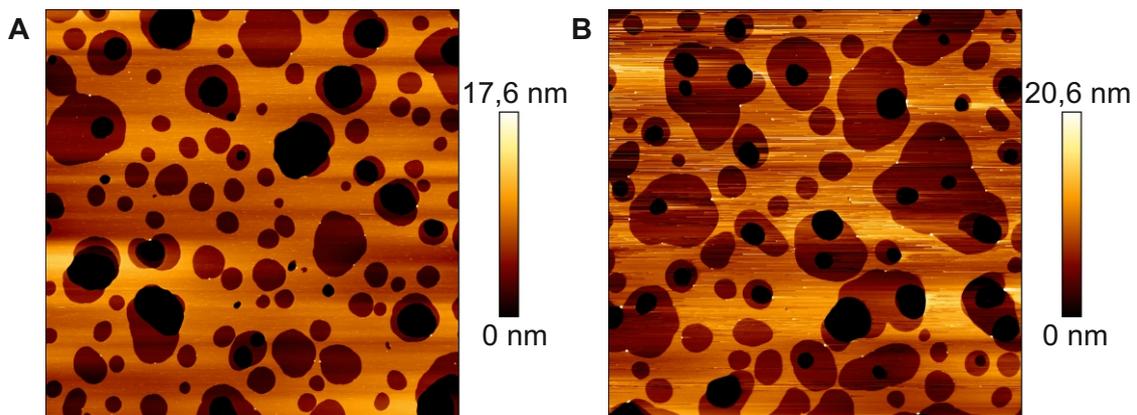


Abbildung C.11. Dargestellt sind die Topographien eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 6.000 rpm aufgebracht wurde. **A** visualisiert dabei die Topographie des Oligolipidbilagensystems vor der zweitägigen Vakuumtrocknung. **B** ist die Topographie danach dargestellt.

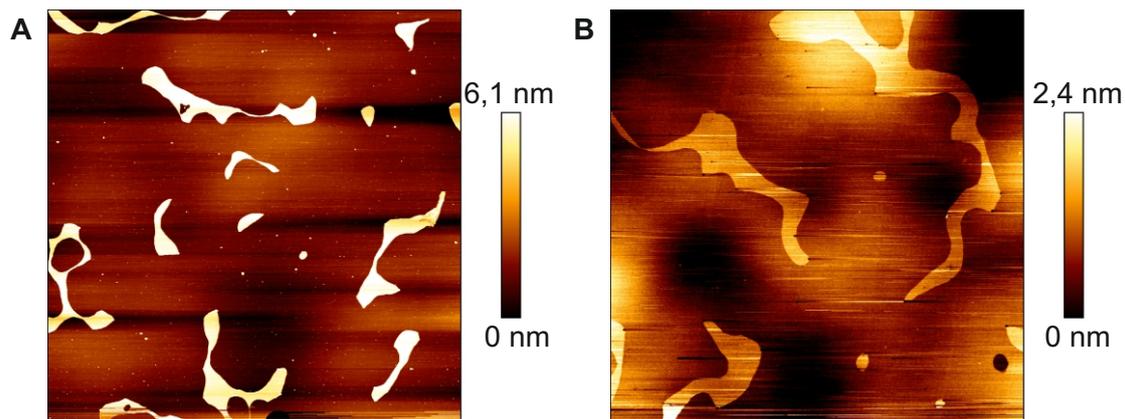


Abbildung C.12. Dargestellt sind die Topographien eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems, das mit einer Drehzahl von 8.000 rpm aufgebracht wurde. **A** zeigt dabei die Topographie des Oligolipidbilagensystems vor der zweitägigen Vakuumtrocknung. **B** ist die Topographie danach zu entnehmen.

Wie bereits bei den anderen Filmen mit 30 % Chol nimmt bei den Filmen, die bei Rotationsgeschwindigkeiten bei Drehzahlen bis einschließlich 6.000 rpm erzeugt wurden, durch die Vakuumtrocknung der Lochanteil gut erkennbar zu. Dies ist bei dem bei 8.000 rpm erzeugten Film hingegen nicht der Fall. Dort sind keine Löcher zu erkennen - weder vor noch nach der Messung. Im Gegensatz zu den Systemen ohne Chol nimmt lässt sich mithilfe einer Rotationsgeschwindigkeit von 8.000 rpm ein 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystem ohne Löcher erhalten.

C.4 DPPC-Systeme

Neben den DMPC-Oligolipidbilagensystemen sind im Folgenden AFM-Aufnahmen von DPPC-Systemen in der Abbildung C.13 ohne Chol und in Abbildung C.14 mit 30 % Chol dargestellt.

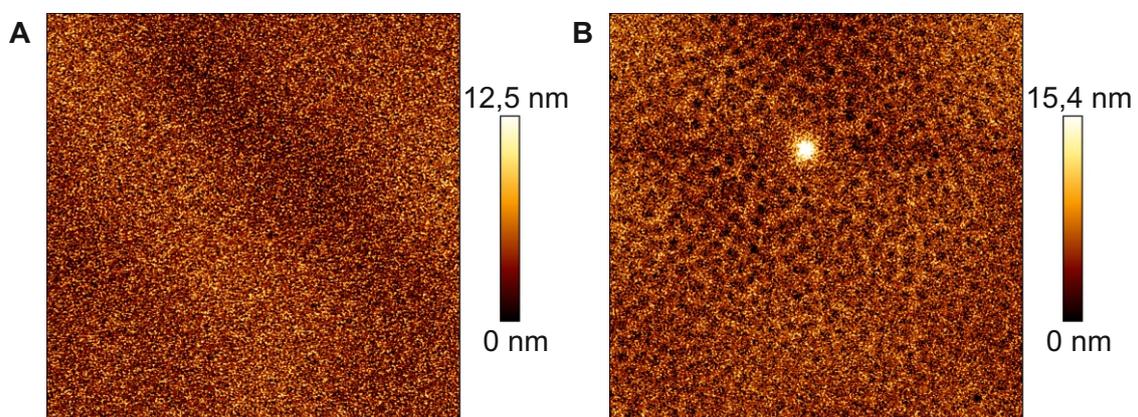


Abbildung C.13. Dargestellt sind die Topographien eines DPPC-Oligolipidbilagensystems. **A** zeigt dabei die Topographie des Oligolipidbilagensystems vor der zweitägigen Vakuumtrocknung. **B** ist die Topographie danach zu entnehmen.

Die in der Abbildung C.13B erhaltene Topographie ähnelt dem Resultat für DMPC in Abbildung C.1B.

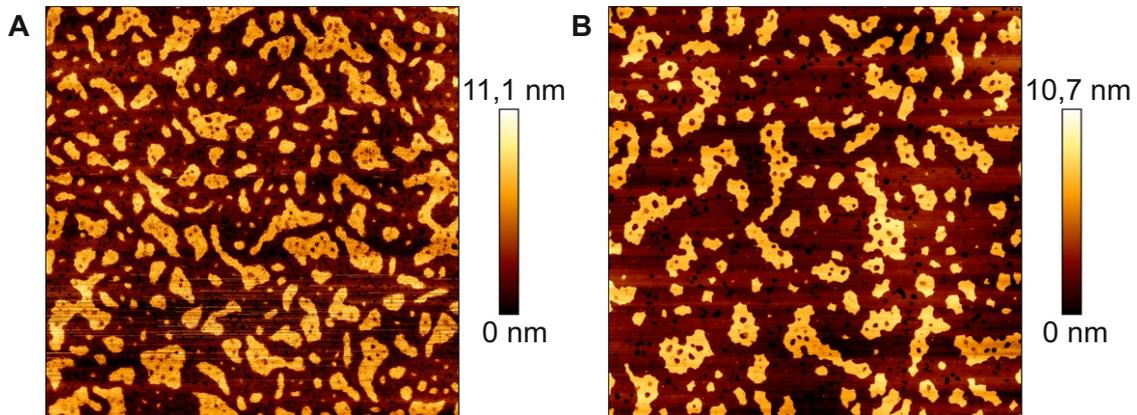


Abbildung C.14. *Abgebildet ist die Topographie eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems. Dabei gibt A die Topographie vor und B nach einer zweitägigen Vakuumtrocknung an.*

Wie auch bereits im Fall von DMPC in Abbildung C.4 führt die Einlagerung von Chol in das Oligolipidbilagensystem zur Ausbildung von Plateaus. Im Gegensatz zu den DMPC-Systemen ist der Lochanteil bei DPPC-Systemen bei einer Anwesenheit von 30 % Chol bedeutend geringer. Um den Lochanteil soll es verstärkt im nächsten Abschnitt C.5 gehen.

C.5 Lochanteile der Filme

Im Falle der DMPC-Systeme ist die Quantifizierung der Lochanteile von besonderem Interesse, da der Lochanteil bei den SLD der NR-Messungen und XRR-Messungen von großer Bedeutung ist und daher mit den anderen Messmethoden abgeglichen wird. Hierfür werden zwei unterschiedliche Methoden herangezogen. Bei der ersten Methode werden an unterschiedlichen Stellen der Messung Höhenprofile herangezogen und mithilfe des Integrals auf den Lipid- bzw. Lochanteil geschlossen. Diese Methode bietet den Vorteil, dass sie einfach durchführbar ist.

Bei der zweiten Methode wird mithilfe des Bildbearbeitungsprogramms Gwyddion die Fläche der Löcher in Abhängigkeit eines festgelegten Hörschwelienwertes markiert. Dabei wird angenommen, dass die Flächen der Löcher durch Kreise angenähert werden können, sodass Kreisflächen resultieren. Durch deren Aufsummierung wird die Gesamtfläche der Löcher erhalten. Obgleich die Näherung, dass alle Bereiche des Films, in denen kein Lipid vorliegt, kreisförmig sind, nicht in allen Fällen eine gute Näherung darstellt, hat diese Methode einen entscheidenden Vorteil: Es ist möglich die Größenverteilung der Löcher zu ermitteln.

Bei beiden Methoden bleibt zu bedenken, dass lediglich Fehlstellen von oben, die sich

bis in die oberste Filmschicht auswirken, und deren Tiefe detektiert werden. Es ist somit möglich in einer festgelegten Höhe des Oligolipidbilagensystems mit gewissen Kriterien auf einen Lochanteil zu schließen. Bei der äußersten Bilage treten oft Bereiche auf, die eine oder zwei Bilagen weniger haben als andere, sodass in diesem Bereich der mittels AFM bestimmte Lochanteil den durchschnittlichen Lochanteil im Film vermutlich überschätzt. Bei einer Betrachtung der tieferliegenden Schichten werden hingegen nur Löcher berücksichtigt, welche tief in den Film vordringen.

Für vakuumgetrocknete DMPC-Filme resultieren mit AFM-Messungen Lochanteile im Oberflächenbereich von circa 48 % anhand des Höhenprofils und 56 % mithilfe des Bildbearbeitungsprogramms Gwyddion. Für Systeme mit Chol werden Lochanteile von 35 % anhand des Höhenprofils und knapp 42 % mittels Gwyddion erhalten. Unter der Annahme, dass viele Löcher zwar an der Oberfläche vorhanden sind, jedoch nicht bis zum Substrat reichen und etwaige tieferliegende Fehlstellen einen geringeren Anteil ausmachen, ist davon auszugehen, dass die auf diese Weise bestimmten Lochanteile vermutlich eine obere Grenze darstellen. Durch die Auswertung mit Gwyddion kann zusätzlich die mittlere Lochfläche angegeben werden, welche für DMPC bei $0,24 \mu\text{m}^2$ und mit 30 % Chol bei $0,80 \mu\text{m}^2$ liegt. Durch Chol sinkt somit zwar der Lochanteil, aber die mittlere Lochgröße nimmt zu.

Hinsichtlich der untersuchten Drehgeschwindigkeiten zeigt sich, dass mit sehr hohen Drehgeschwindigkeiten von 8.000 rpm ein Oligolipidbilagensystem ohne Löcher erhalten lässt. In dieser Arbeit wird somit mithilfe von AFM- und NR-Messungen gezeigt, dass durch das Aufheizen von DMPC-Oligolipidbilagensystemen auf Temperaturen oberhalb der Phasenübergangstemperatur die Löcher verschwinden, während bei 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystemen durch hohe Drehgeschwindigkeiten vergleichbare Resultate erzielt werden.

D NR- und XRR-Messungen in Wasser bei 20,0 °C

In den Abbildungen D.1 - D.5 sind NR-Messungen und XRR-Messungen von DMPC- und DMPC-Chol-Oligolipidbilagensystemen mit variierenden Chol-Anteilen dargestellt. In Abbildung D.6 ist eine NR-Messung eines geladenen Oligolipidbilagensystems dargestellt. Die Parameter der Anpassungen in den Abbildungen D.4 und D.6 sind in den Tabellen D.1 und D.2 dargestellt.

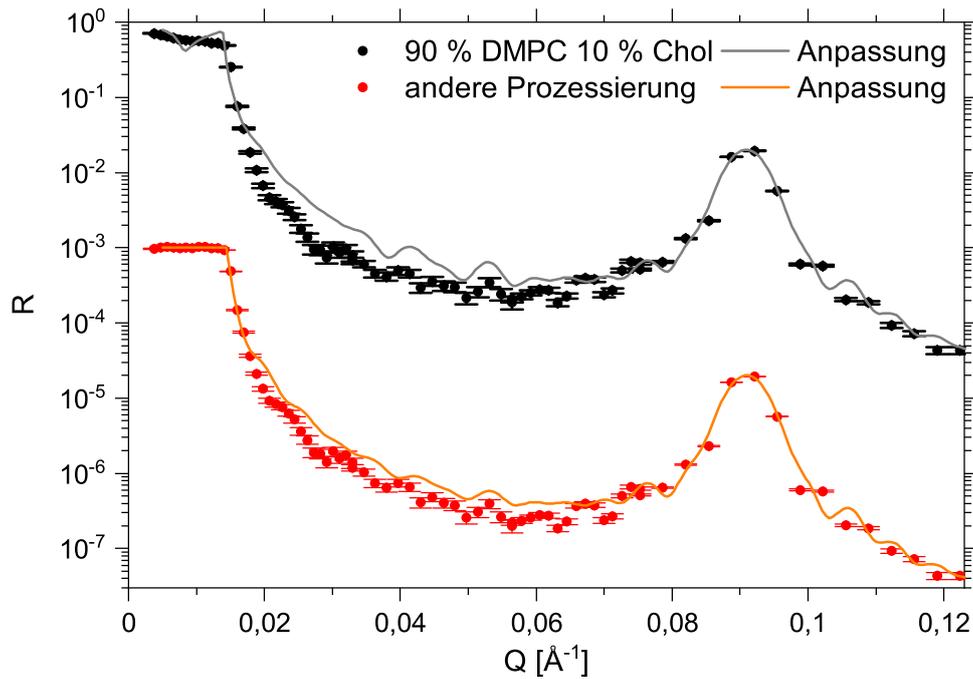


Abbildung D.1. Die NR-Rohdaten für das 90 % DMPC 10 % Chol-System 2019/11 wurden unterschiedlich prozessiert und einander gegenübergestellt. Einmal ist die gewöhnliche Prozessierung dargestellt, die sich aus den geometrischen Überlegungen in Kapitel 2.1.9 ergeben, im anderen Fall wurden die Daten dergestalt prozessiert, dass sich im Bereich der Totalreflexion eine Reflektivität von eins ergibt. Der Versatz der beiden Spektren beträgt ausnahmsweise drei Zehnerpotenzen.

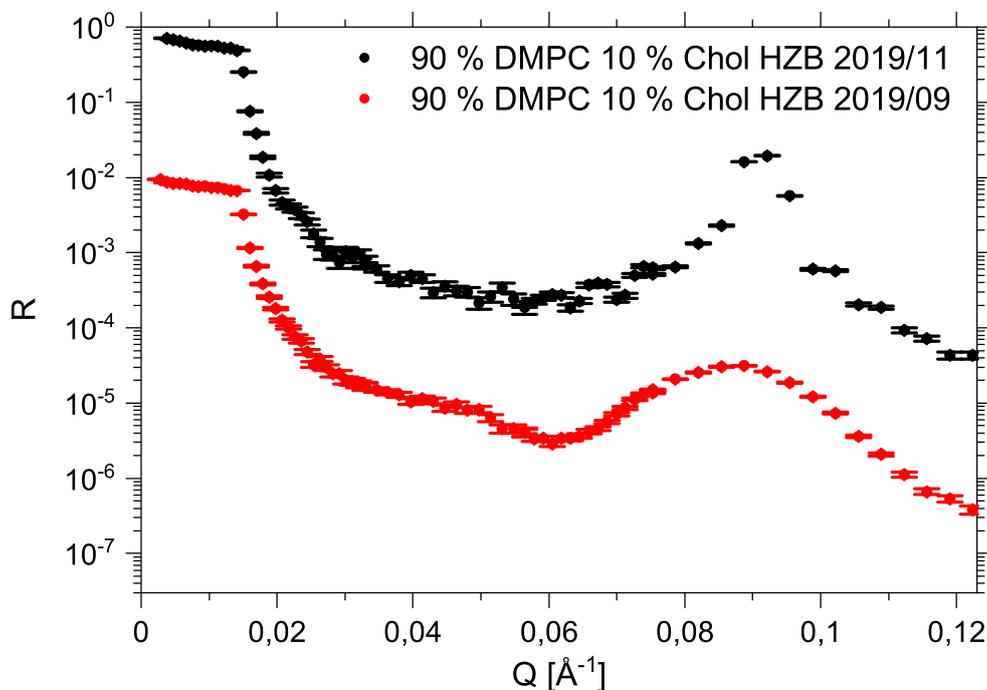


Abbildung D.2. Gezeigt sind die NR-Daten für beide am HZB vermessene DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit einem Chol-Gehalt von 10 % bei 20,0 °C.

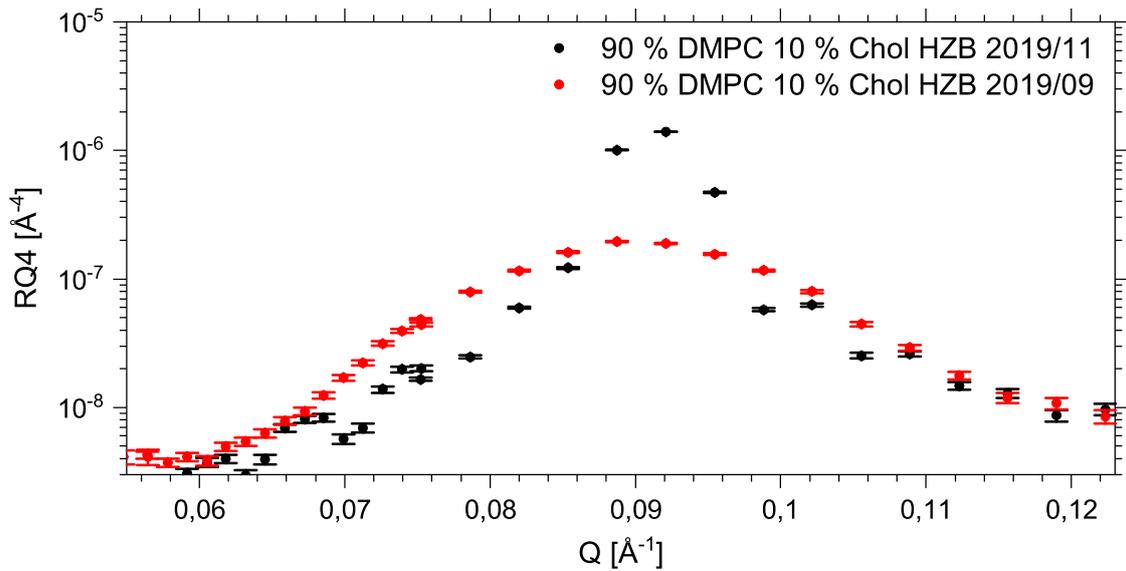


Abbildung D.3. NR-Daten für beide am HZB vermessene DMPC-Oligolipidbilagensysteme mit einem Chol-Gehalt von 10 % bei 20,0 °C in RQ^4 -Darstellung, sodass die Lage der Maxima besser zu erkennen ist als das in Abbildung D.2 der Fall ist.

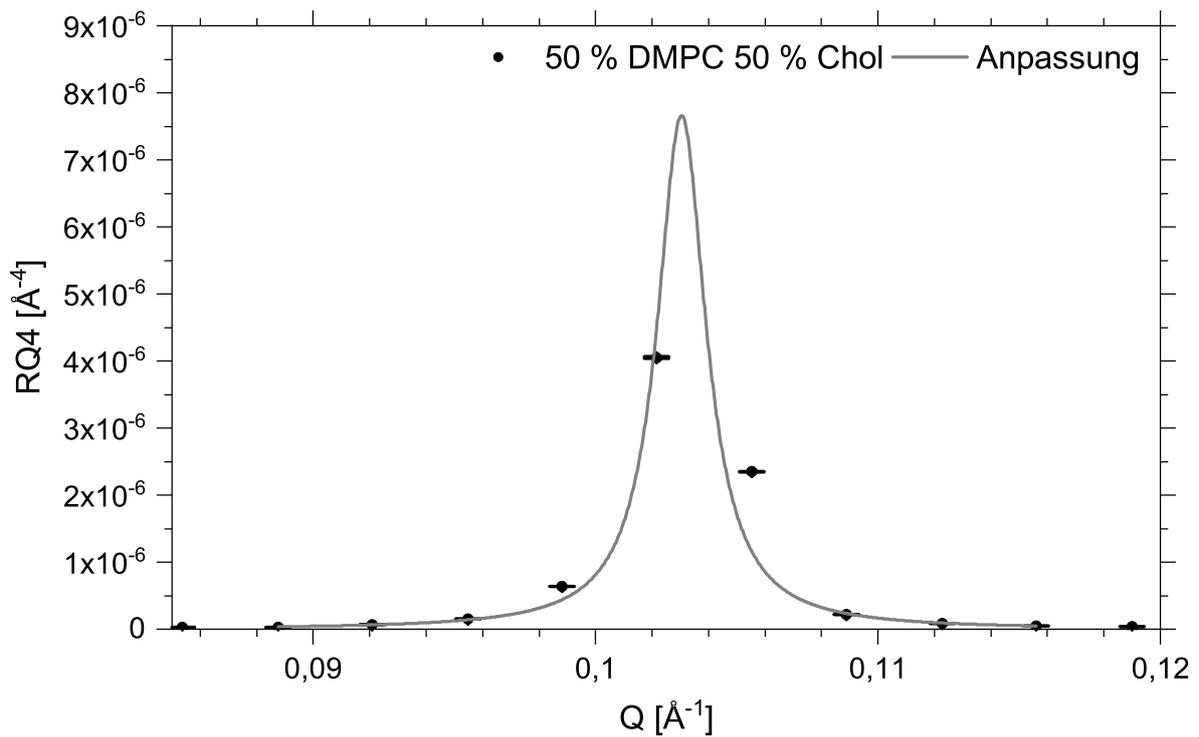


Abbildung D.4. RQ^4 gegen Q -Darstellung des 50 % DMPC 50 % Chol-Systems in Wasser bei 20,0 °C, dessen R gegen Q -Darstellung Abbildung 6.6 zu entnehmen ist. Zur Bestimmung der Lage des Bragg-Peaks ist es notwendig eine symmetrische Funktion zu verwenden. Es wurde dabei die Lorentzfunktion gewählt, deren Parameter Tabelle D.1 zu entnehmen sind.

Tabelle D.1. Parameter der RQ^4 -Anpassung des 50 % DMPC 50 % Chol Oligolipidbilagensystems in Wasser. Dabei gibt Q_c die Lage des Bragg-Peaks, A die Fläche und w die Breite der Anpassung an.

Modell	Lorentz
Gleichung	$RQ^4 = \frac{2 \cdot A}{\pi} \cdot \frac{w}{4 \cdot (Q - Q_c)^2 + w^2}$
Q_c [\AA^{-1}]	$0,1030 \pm 3 \cdot 10^{-4}$
w [\AA^{-1}]	$(2,1 \pm 1,7) \cdot 10^{-3}$
A [\AA^{-5}]	$(2,5 \pm 1,9) \cdot 10^{-8}$
χ^2	56.000

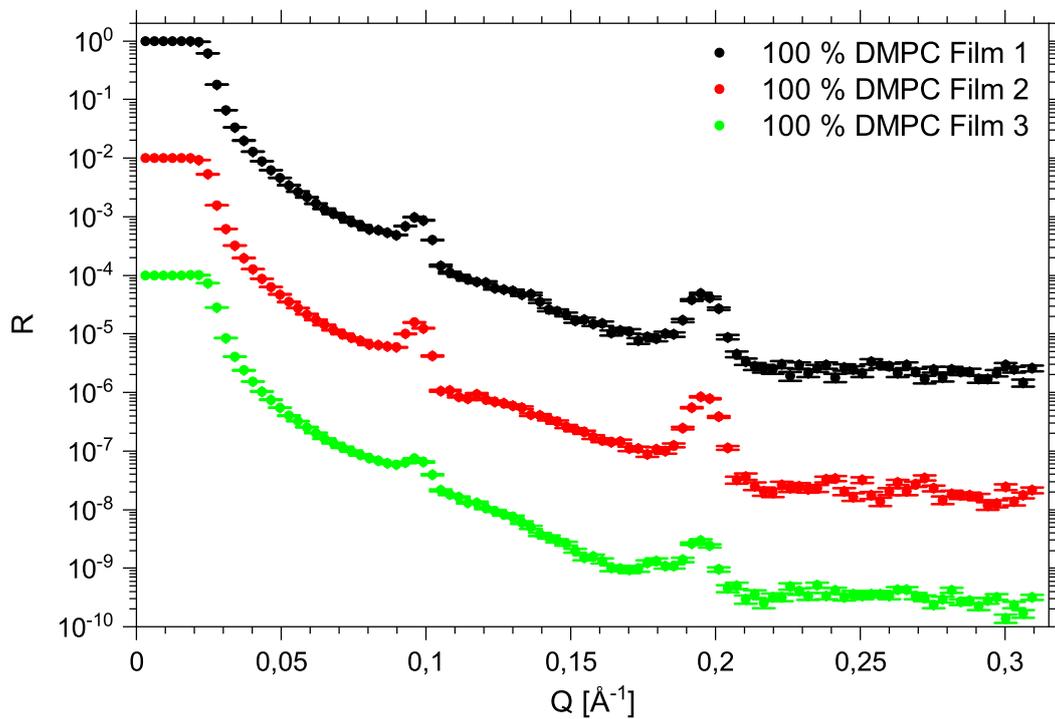


Abbildung D.5. XRR-Daten der DMPC-Oligolipidbilagensysteme in Wasser bei 20,0 °C.

RQ⁴ gegen Q-Darstellung der NR-Messungen geladener Oligolipidbilagensysteme

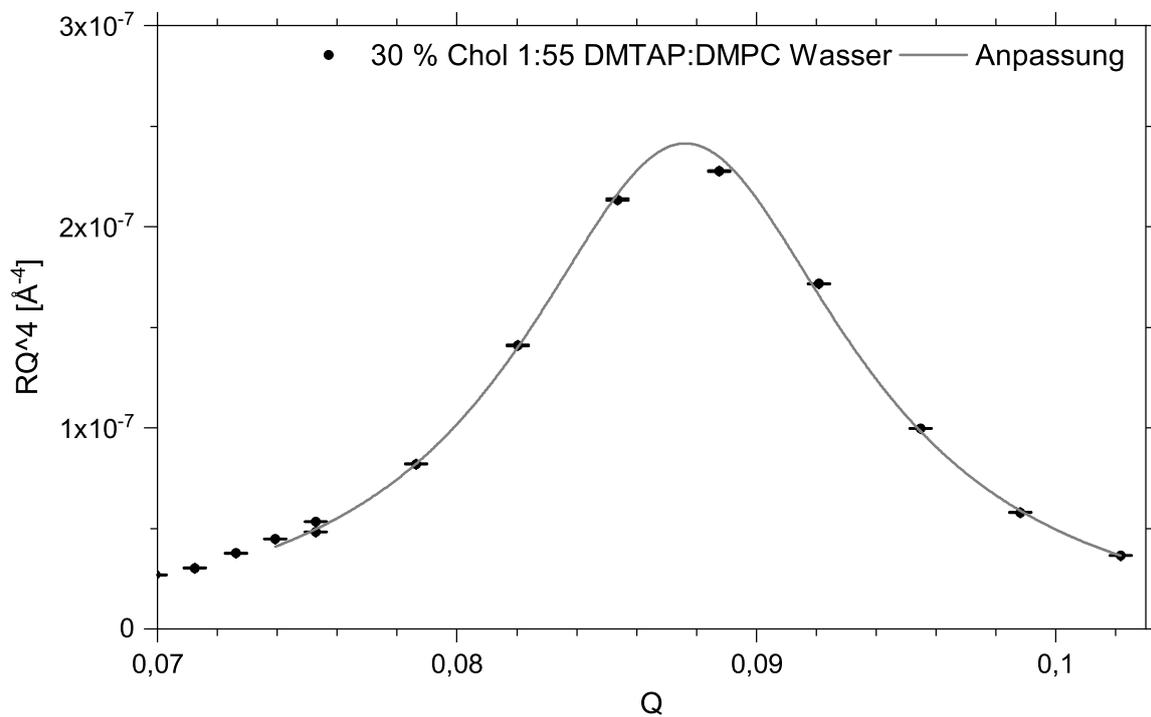


Abbildung D.6. RQ^4 gegen Q -Darstellung des 30 % Chol 1:55 DMTAP:DMPC-Systems in Wasser bei 20,0 °C, dessen R gegen Q -Darstellung Abbildung 6.16 zu entnehmen ist.

Tabelle D.2. Parameter der RQ^4 -Darstellung des 1:55 DMTAP:DMPC 30 % Chol Oligolipidbilagensystems in Wasser.

Modell	Lorentz
Gleichung	$RQ^4 = \frac{2 \cdot A}{\pi} \cdot \frac{w}{4 \cdot (Q - Q_c)^2 + w^2}$
$Q_c [\text{Å}^{-1}]$	$0,08763 \pm 7 \cdot 10^{-5}$
$w [\text{Å}^{-1}]$	$(1,35 \pm 0,05) \cdot 10^{-2}$
$A [\text{Å}^{-5}]$	$(5,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-9}$
χ^2	511

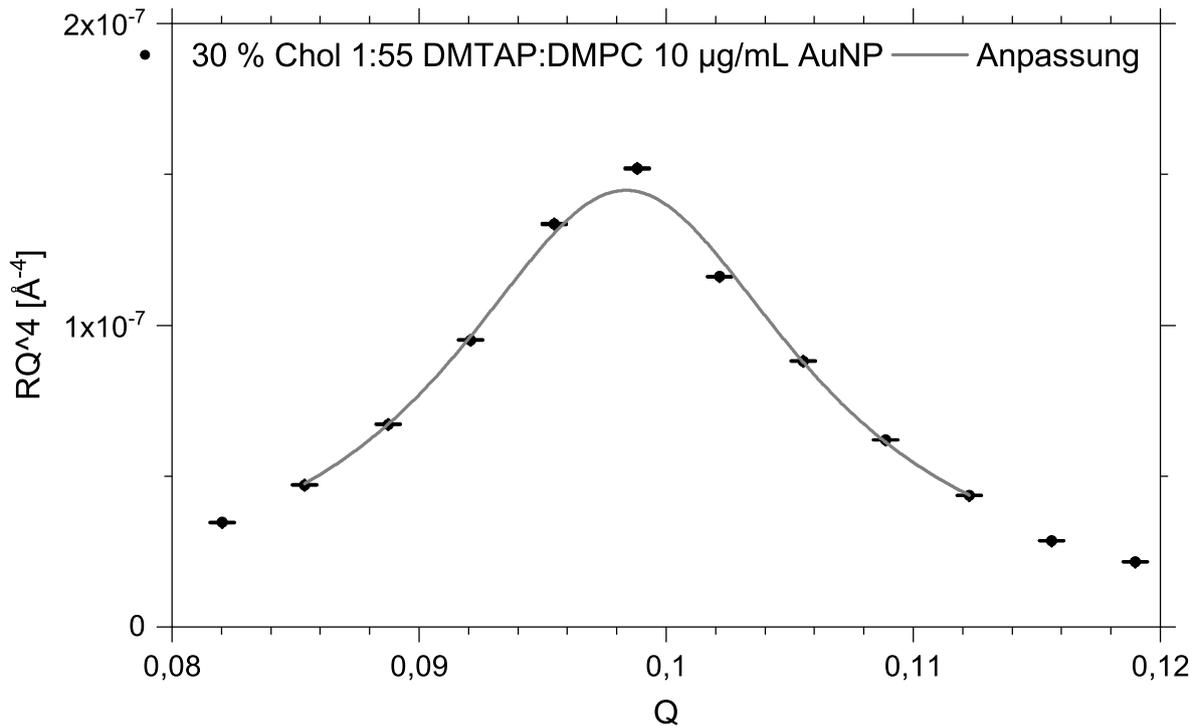


Abbildung D.7. RQ^4 gegen Q -Darstellung des 30 % Chol 1:55 DMTAP:DMPC-Systems in Wasser mit $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP bei 20,0 °C, dessen R gegen Q -Darstellung Abbildung 6.16 zu entnehmen ist.

Tabelle D.3. Parameter der RQ^4 -Darstellung des 1:55 DMTAP:DMPC 30 % Chol Oligolipidbilagensystems in Wasser.

Modell	Lorentz
Gleichung	$RQ^4 = \frac{2 \cdot A}{\pi} \cdot \frac{w}{4 \cdot (Q - Q_c)^2 + w^2}$
$Q_c [\text{Å}^{-1}]$	$0,0984 \pm 1 \cdot 10^{-4}$
$w [\text{Å}^{-1}]$	$(1,7 \pm 0,1) \cdot 10^{-2}$
$A [\text{Å}^{-5}]$	$(3,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-9}$
χ^2	1.390

Abschätzung der Ionenstärke der AuNP-Lösungen

Die Ionenstärke wird bei einer Massenkonzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ abgeschätzt, da es sich hierbei in aller Regel um die Einstiegskonzentration der NP bei NR-Messungen und XRR-Messungen handelt. Zur Abschätzung der entsprechenden Ionenstärke wird die Charakterisierung der AuNP von Tatur *et al.* verwendet, an deren Publikation sich Christian Busch orientierte, um die in dieser Arbeit verwendeten AuNP zu synthetisieren.^[115] Die Abschätzung erfolgt zunächst für AuNP, die 100 Å groß sind. Danach wird dieselbe Überlegung für die Größen 50 Å und 25 Å angestellt.

Unter der Annahme, dass die Masse der Liganden im Vergleich zu der Masse des

D. NR- und XRR-Messungen in Wasser bei 20,0 °C

Kerns vernachlässigbar ist, wird in Gleichung D.1 die Masse eines AuNP abgeschätzt.

$$m_{1 \text{ AuNP}} \approx \rho_{\text{Au}} \cdot V_{\text{Au}} = 19.320 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \cdot \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (5 \cdot 10^{-9} \text{ m})^3 \approx 1,0 \cdot 10^{-11} \mu\text{g} \quad (\text{D.1})$$

Die Massenkonzentration beträgt $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, sodass anhand der Masse eines AuNP die Massenkonzentration in die Stoffmengenkonzentration überführt werden kann. Dabei wird berücksichtigt, dass $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ gemäß Gleichung D.1 bedeutet, dass pro mL Lösung circa $1,0 \cdot 10^{12}$ NP vorliegen bzw. $1,0 \cdot 10^{15}$ NP pro L. Die Stoffmengenkonzentration ergibt sich somit gemäß Gleichung D.2.

$$c_{\text{AuNP}} \approx \frac{1,0 \cdot 10^{15} \frac{\text{Teilchen}}{\text{L}}}{6,022 \cdot 10^{23} \frac{\text{Teilchen}}{\text{mol}}} \approx 1,7 \cdot 10^{-9} \frac{\text{mol}}{\text{L}} \quad (\text{D.2})$$

Zur Bestimmung der Ionenstärke fehlt nur noch die Wertigkeit z der AuNP. Gemäß Tatur *et al.* liegen pro Atom an der Goldoberfläche 0,41 Ammoniumgruppen vor.^[115] Mithilfe des Atomradius von Gold kann somit die Anzahl an Goldatomen $N_{\text{Au Atome}}$ pro Oberfläche und daraus die Anzahl an Ladungen pro AuNP gemäß Gleichung D.3 bestimmt werden, die der Wertigkeit z entspricht.^[154, S. 179]

$$z \approx N_{\text{Au Atome}} \cdot 0,41 = \frac{4\pi r_{\text{AuNP}}^2}{\pi r_{\text{Au-Atom}}^2} \cdot 0,41 \approx 2,0 \cdot 10^3 \quad (\text{D.3})$$

Die Ionenstärke ergibt sich gemäß Gleichung D.4, wobei die Beziehungen aus den Gleichungen D.2 und D.3 verwendet werden.^[57, S. 204]

$$I = \frac{1}{2} \cdot c_{\text{AuNP}} \cdot z^2 \approx 39 \frac{\text{mmol}}{\text{L}} \quad (\text{D.4})$$

Bei AuNP der Größe 50 Å führt die Halbierung der Größe dazu, dass das Volumen der AuNP nur noch einem Achtel entspricht, sodass bei derselben Massenkonzentration die Stoffmengenkonzentration um den Faktor acht zunimmt, welche linear in die Ionenstärke einfließt. Die Wertigkeit hingegen geht quadratisch in die Ionenstärke ein und hängt selbst, über die Anzahl an Oberflächenatome, auch quadratisch vom Radius der AuNP ab. Eine Halbierung der Größe führt somit dazu, dass der durch die Wertigkeit bedingte Anteil nur noch $\frac{1}{16}$ beträgt. Da sich der durch die Konzentration bedingte Term verachtfacht und der durch die Wertigkeit bedingte Term auf $\frac{1}{16}$ reduziert, führt eine Halbierung der Größe auch zu einer Halbierung der Ionenstärke. Sie beträgt nur noch $19 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$.

Analog zu dieser Überlegung liegt die Ionenstärke für AuNP einer Größe von 25 Å bei einer Massenkonzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei $10 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$. Bei dieser sehr groben Abschätzung der Ionenstärke wurden Werte erhalten, bei denen für DMPC-Oligolipidbilagensysteme gemäß Abbildung 8.23 für Ionenstärken, die durch Magnesiumchlorid bedingt

wurden, bereits Abschirmungseffekte zu erkennen sind. Zudem stand bei diesen Messungen in Magnesiumchloridlösung die erhöhte Einlagerung von Magnesiumionen bei höheren Magnesiumchloridkonzentrationen in direkter Konkurrenz zur Abschirmung, sodass bei diesen Messungen die erhöhte Abschirmung sogar der dominante Effekt war. Bei der Zugabe von AuNP in Wasser, bei der keine Anzeichen für eine Einlagerung der AuNP in die Membranen erkennbar waren, bedingt die AuNP-Zugabe hingegen ausschließlich eine Abschirmung. Es bleibt somit festzuhalten, dass bereits die erste AuNP-Zugabe, die zu einer AuNP-Konzentration von $10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ bei $10 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$ führt, Abschirmungseffekte hervorrufen kann.

E SE-Messungen in Wasser mit Temperaturvariation

In Abbildung E.1 sind mittels SE-Messungen bestimmte Gesamtschichtdicken von Oligolipidbilagensystemen mit 30 % DMPC, 30 % Chol, 20 % Gramicidin und 20 % geladenem Lipid dargestellt. In den Abbildungen E.2 - E.4 sind SE-Messungen an DMPC-Oligolipidbilagensystemen dargestellt, bei denen mit der Zeit die Temperatur erhöht wurde, um die Temperaturstabilität der Systeme zu ergründen.

Der erste Film, dargestellt in Abbildung E.2, wurde zunächst in 0,5 °C-Schritten von 21,0 auf 23,5 °C erhitzt. Dabei nahm mit der Zeit die Gesamtschichtdicke ab. Nach über 80 Stunden erreichte die Gesamtschichtdicke die Hälfte des Startwertes bei 23,0 °C.

Der zweite Film, visualisiert in Abbildung E.3, wurde von 20,0 °C auf 21,5 °C in 0,5 °C-Schritten erhitzt. Nach circa 25 Stunden erreichte die Gesamtschichtdicke die Hälfte des Startwertes.

Der dritte Film, dargestellt in Abbildung E.4, wurde von 17,0 über die Zwischenstufen 20,0 °C und 23,0 °C auf 25,0 °C erhitzt. Die ersten 25 Stunden wurde der Film bei 17,0 °C und 20,0 °C gehalten. Dabei entsprach die gemessene Gesamtschichtdicke noch immer in etwa dem Startwert im wässrigen Milieu. Anschließend wurde die Temperatur von 20,0 °C auf 23,0 °C erhöht. Nach weiteren sechs Stunden wurde die Temperatur auf 25,0 °C erhöht. Bei über 16 Stunden mit dieser Temperatur entsprach die Gesamtschichtdicke noch immer knapp 80 % des ursprünglichen Wertes in Wasser.

In Abbildung E.5 ist ein 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystem dargestellt, welches von 20,0 °C über eine Zwischenstufe von 25,0 °C auf 35,0 °C erhitzt wurde. Dessen Gesamtschichtdicke bleibt nach dem Erreichen des Gleichgewichtszustands nach dem Befüllen in guter Näherung konstant - auch bei unterschiedlichen Temperaturen.

E. SE-Messungen in Wasser mit Temperaturvariation

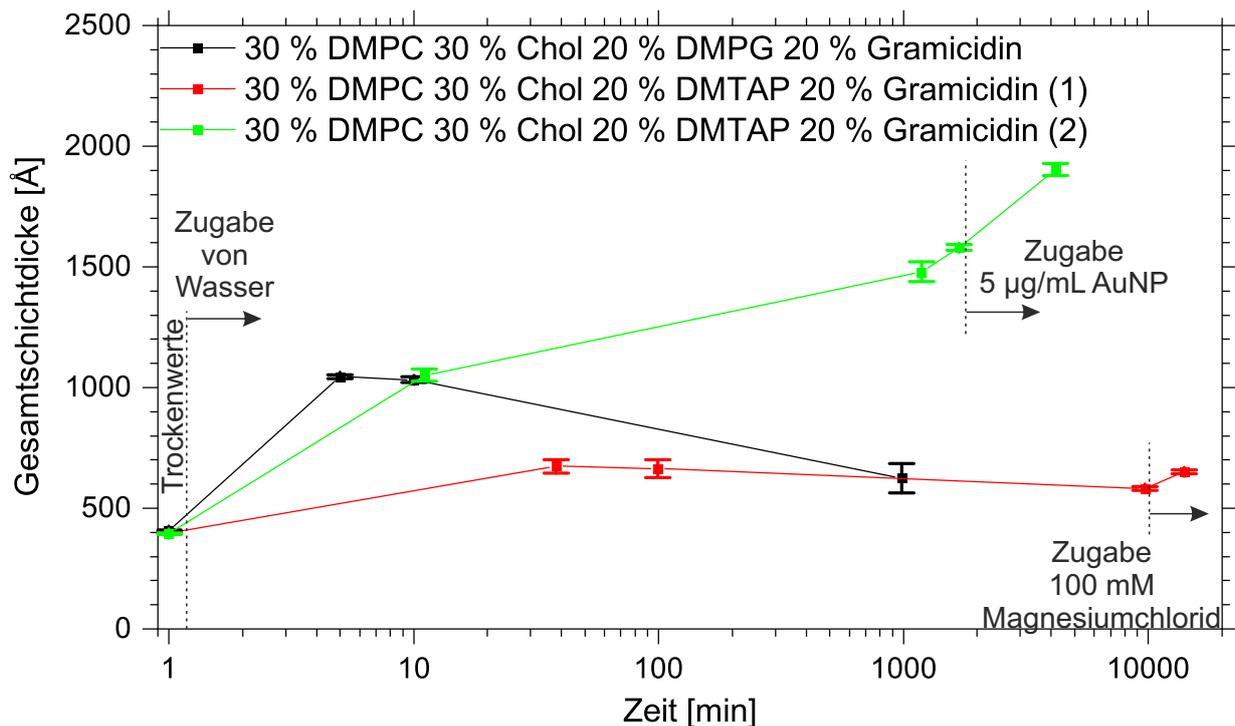


Abbildung E.1. Mittels SE bestimmte Gesamtschichtdicke Oligolipidbilagensysteme mit 30 % DMPC 30 % Chol 20 % geladenes Lipid in Form von DMPG oder DMTAP und 20 % Gramicidin. Nach der Charakterisierung an Luft wurde Wasser zugegeben und die Gesamtschichtdicke mehrmals gemessen. Es wird davon ausgegangen, dass im thermodynamischen Gleichgewicht die Gesamtschichtdicke stabil bleibt und der erhaltene Fehler vergleichsweise gering ist. Dies ist in für den Film (1) mit DMTAP der Fall. Der Quellfaktor in Wasser beträgt unmittelbar vor der Magnesiumchloridzugabe ($1,46 \pm 0,02$) und liegt damit statistisch signifikant höher als für die DMPC-Oligolipidbilagensysteme wie in Kapitel 6.3 beschrieben. Für alle drei Systeme war die Gesamtschichtdicke nach 1.000 min noch immer größer als der Wert an Luft, sodass die Stabilität bedeutend größer ist als für Systeme ohne Gramicidin. Wie zu erkennen ist, war Film (2) mit DMTAP auch nach über neun Tagen noch stabil.

In E.6 ist zu erkennen, dass durch die Zugabe der in Tabelle 6.10 dargestellten AuNP 3 die Intensität des Bragg-Peaks und Kiessig-Oszillationen abnehmen. In Abbildung E.7 sind die Anpassungen der Parameter Ψ und Δ für ein DMPC-Oligolipidbilagensystem in Wasser bei 18 °C dargestellt, welches simultan mittels IR und NR charakterisiert wurde. Die Parameter Ψ und Δ in Abhängigkeit der Zeit nach der AuNP 3-Zugabe sowie deren Anpassungen sind in den Abbildungen E.8 und E.9 dargestellt, während die Fehler der angepassten Winkel in Abhängigkeit der Wellenlänge vor und zwei Stunden nach der AuNP-Zugabe in Abbildung E.10 dargestellt sind.

E. SE-Messungen in Wasser mit Temperaturvariation

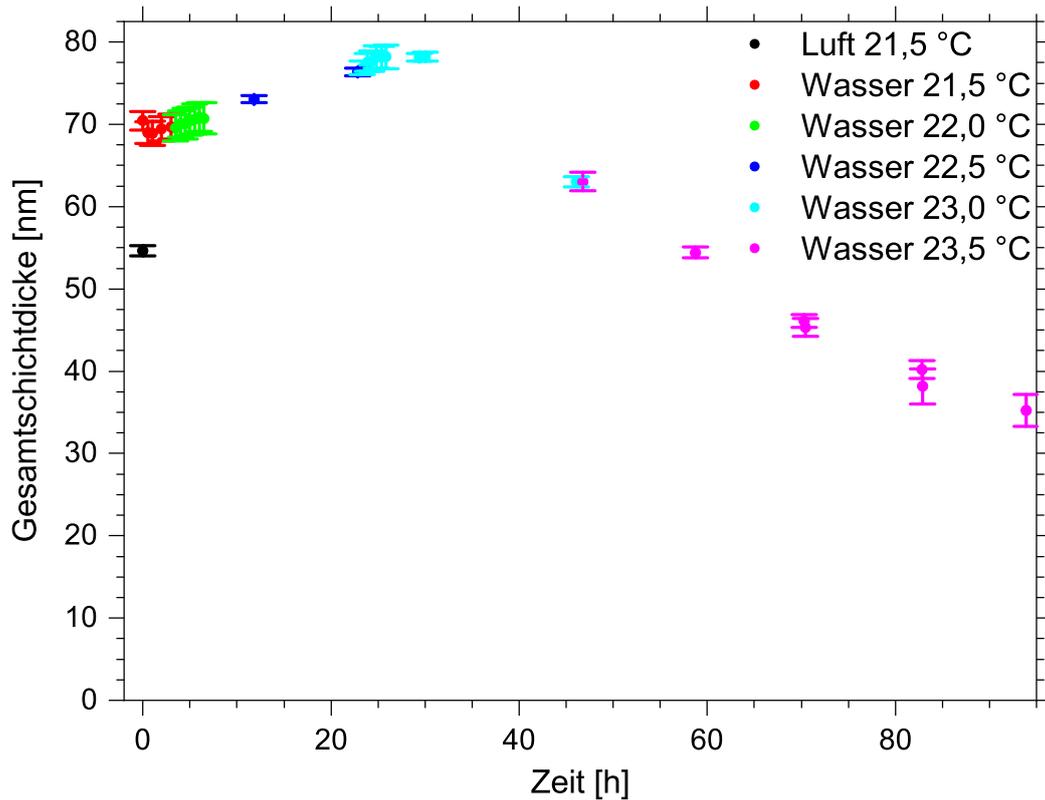


Abbildung E.2. Mittels SE bestimmte Gesamtschichtdicken des DMPC-Oligolipidbilagensystems 1 in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.

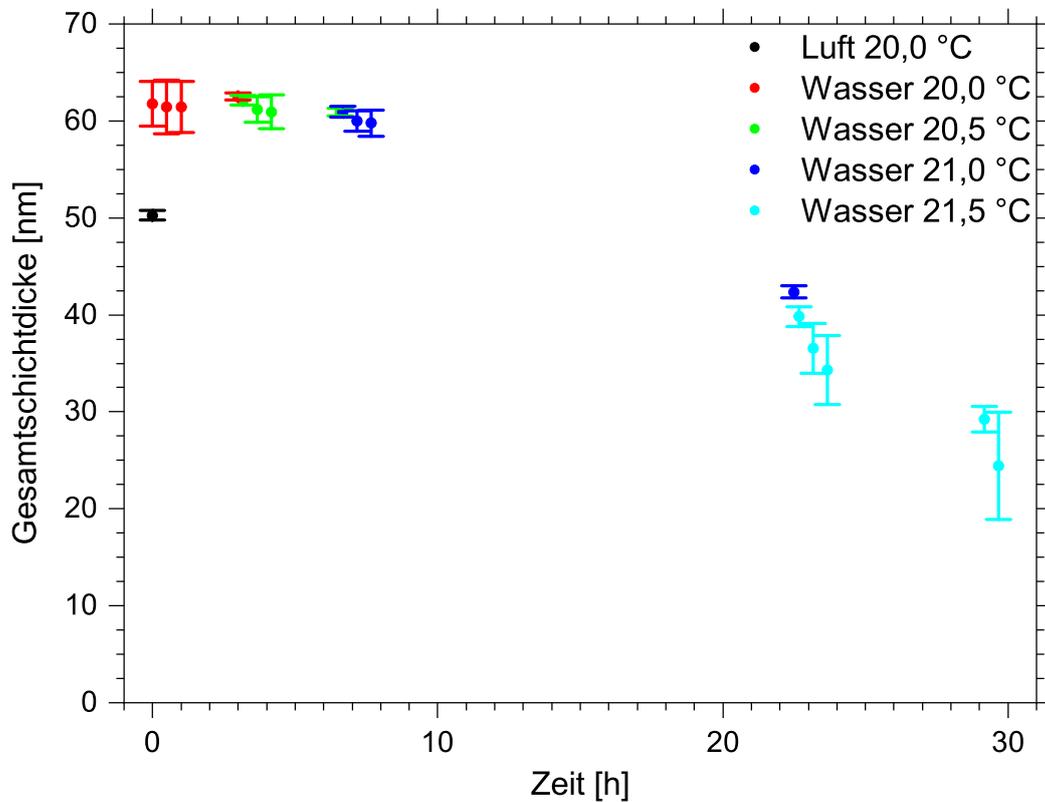


Abbildung E.3. Anhand von SE bestimmte Gesamtschichtdicken des DMPC-Oligolipidbilagensystems 2 in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.

E. SE-Messungen in Wasser mit Temperaturvariation

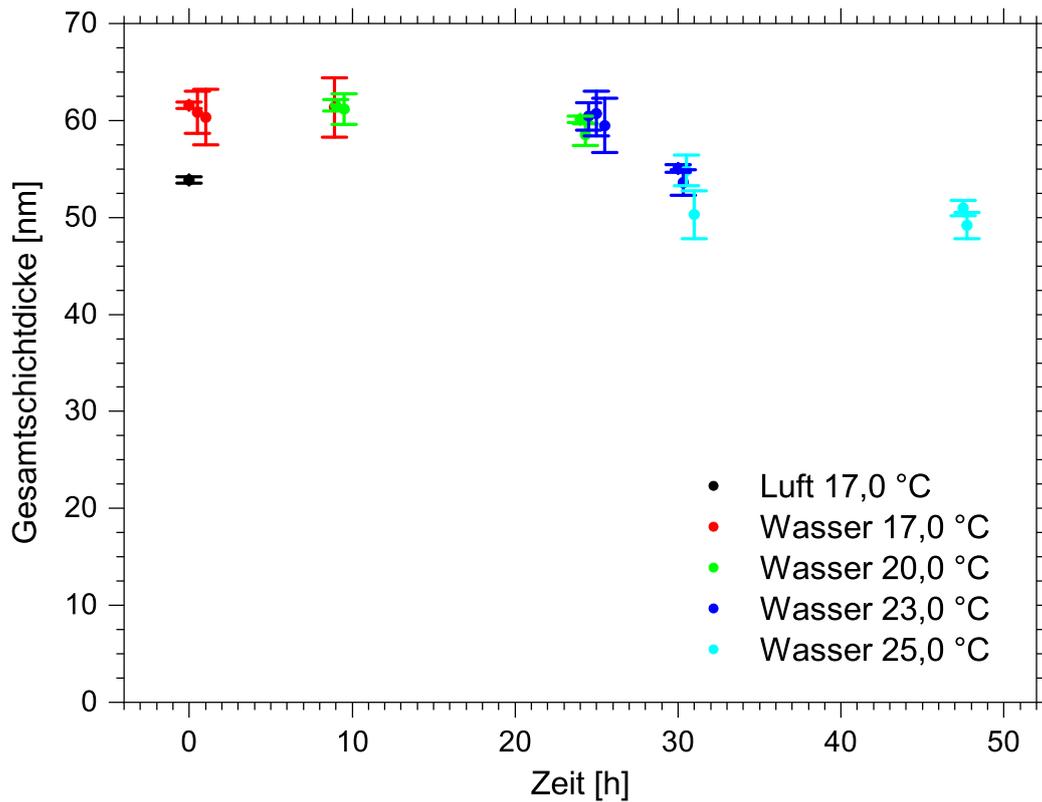


Abbildung E.4. Durch SE bestimmte Gesamtschichtdicken des DMPC-Oligolipidbilagensystems 3 in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.

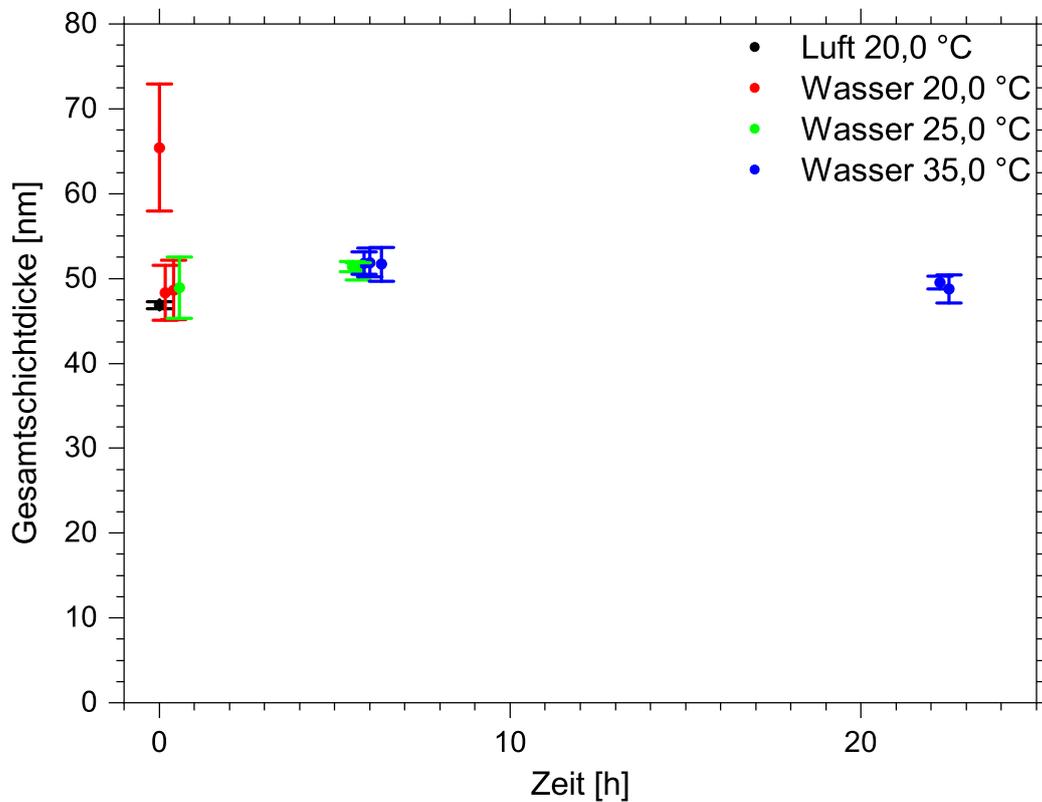


Abbildung E.5. Mithilfe von SE bestimmte Gesamtschichtdicken des 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Abhängigkeit von der Temperatur und Zeit.

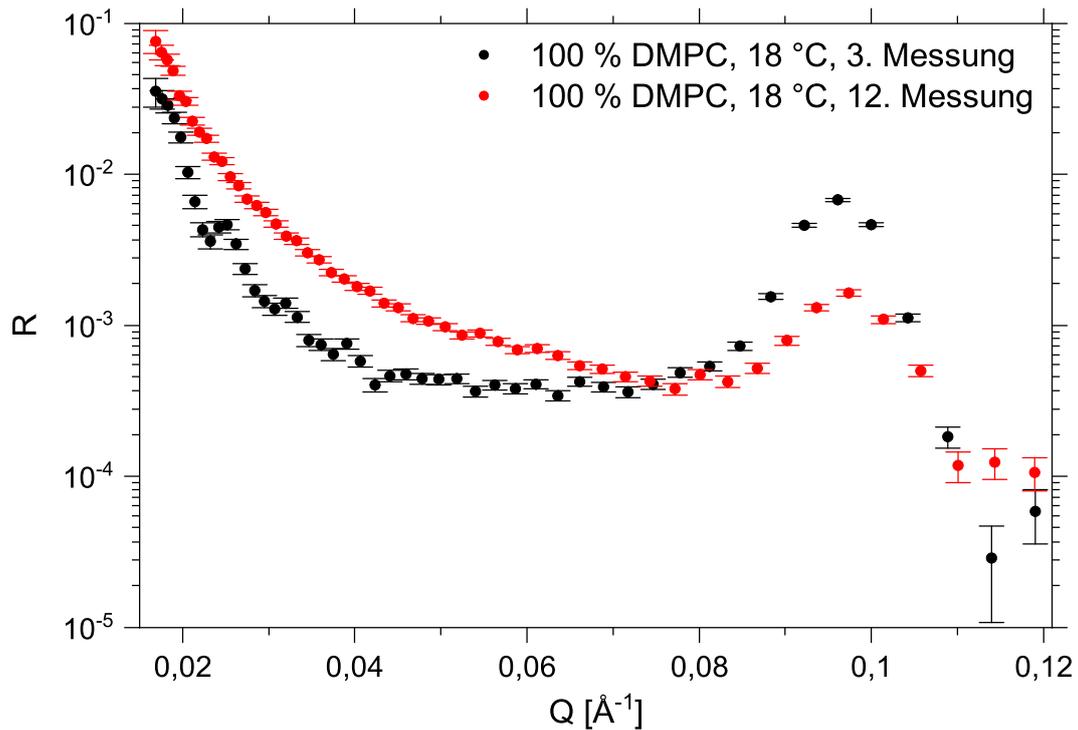


Abbildung E.6. Mithilfe von NR-Messungen bestimmte Reflexionsprofile der dritten und zwölften Kinetikmessung nach AuNP-Zugabe eines DMPC-Oligolipidbilagensystems bei 18 °C.

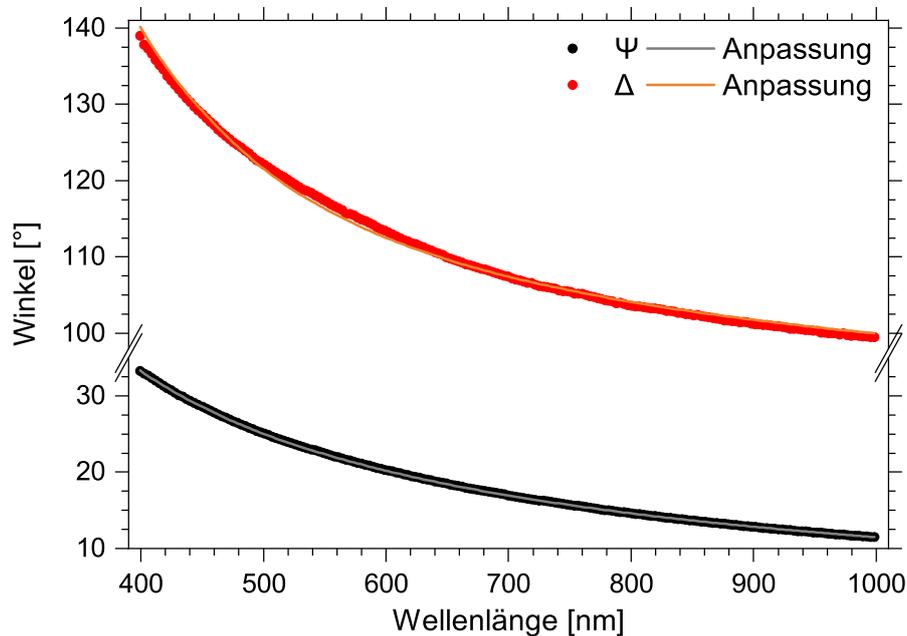


Abbildung E.7. Anpassung der SE-Parameter Ψ und Δ für den DMPC-Film bei 18,0 °C in schwerem Wasser. Die Gesamtschichtdicke wurde der NR-Anpassung in Tabelle 7.2 entnommen und darauf aufbauend die Cauchy-Parameter A und B bestimmt wie sie in Tabelle 7.4 dargestellt sind.

E. SE-Messungen in Wasser mit Temperaturvariation

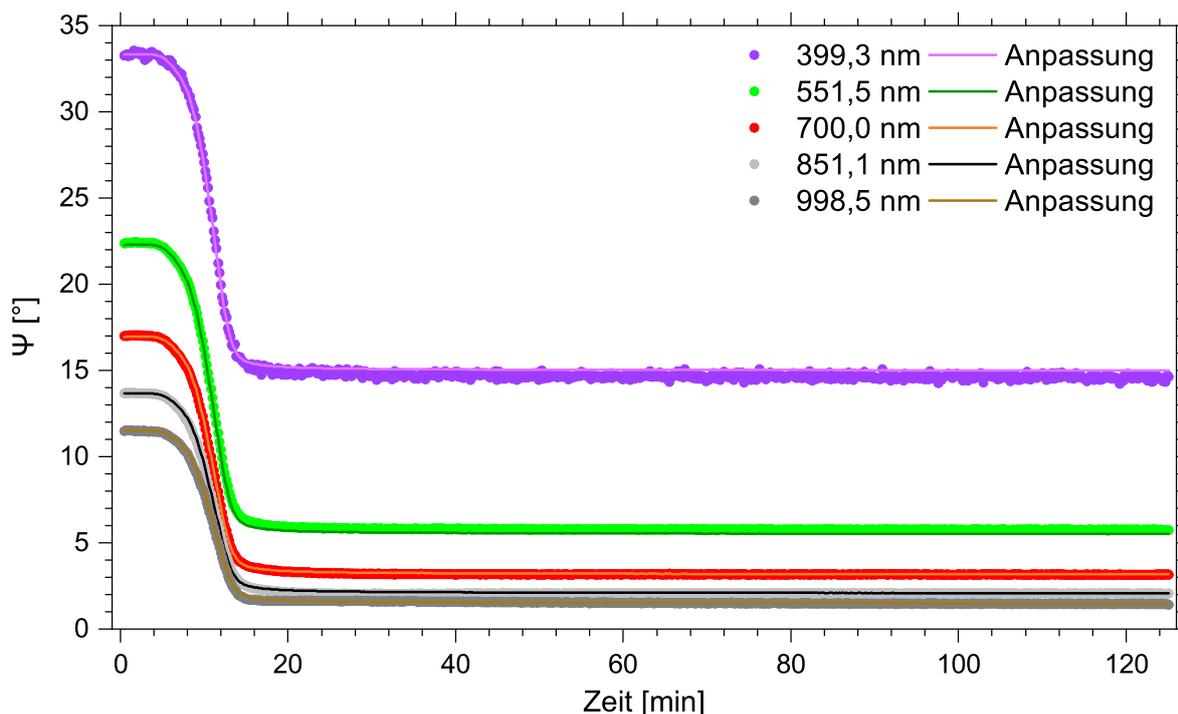


Abbildung E.8. Gemessene $\Psi(t)$ -Werte des DMPC-Systems bei 18,0 °C. Mithilfe der in Tabelle 7.4 dargestellten Cauchy-Parameter bei 18,0 °C wurde die Gesamtschichtdicke anhand der dargestellten $\Psi(t)$ -Werte und den in Abbildung E.9 dargestellten $\Delta(t)$ -Werten angepasst. Es resultiert die in Abbildung 7.11 dargestellte, via SE ermittelte Gesamtschichtdicke.

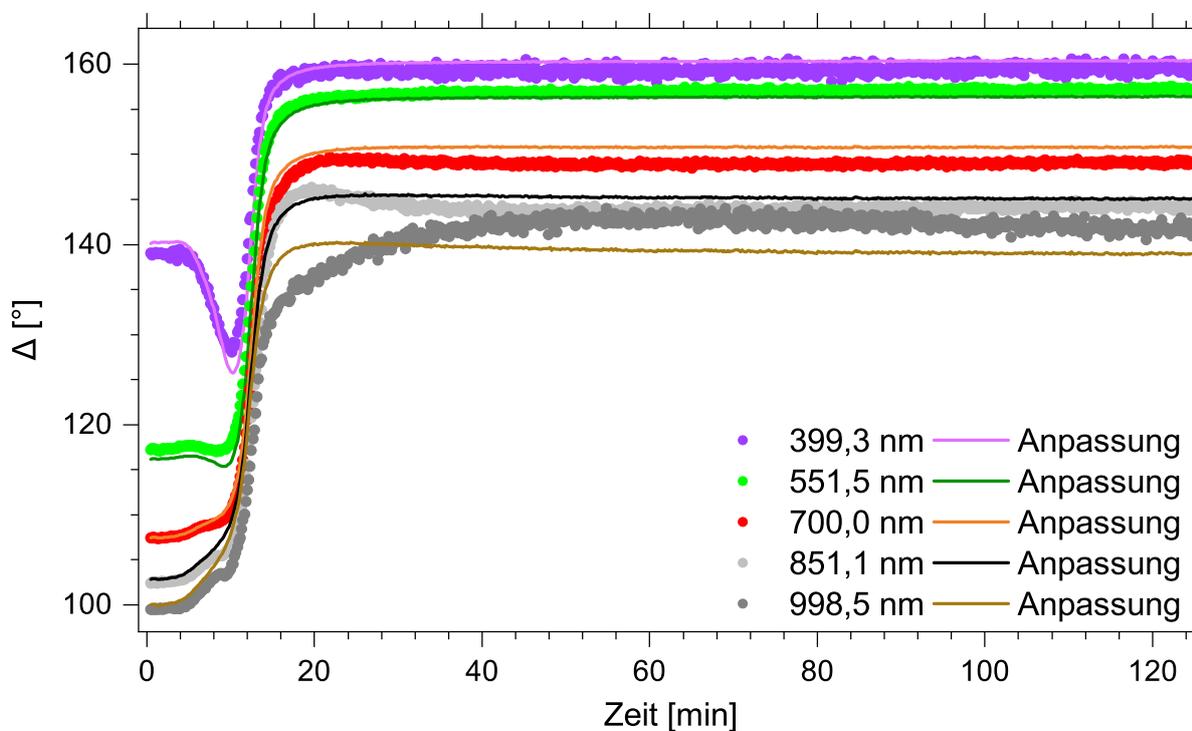


Abbildung E.9. Analog zu Abbildung E.8 ist an dieser Stelle $\Delta(t)$ anstelle von $\Psi(t)$ dargestellt. Die Abweichungen zwischen Messdaten und Anpassungen sind in dieser Abbildung bedeutend größer als in Abbildung E.8. Besonders für die Messwerte, die bei der größten Wellenlänge aufgenommen wurden, resultieren starke Abweichungen.

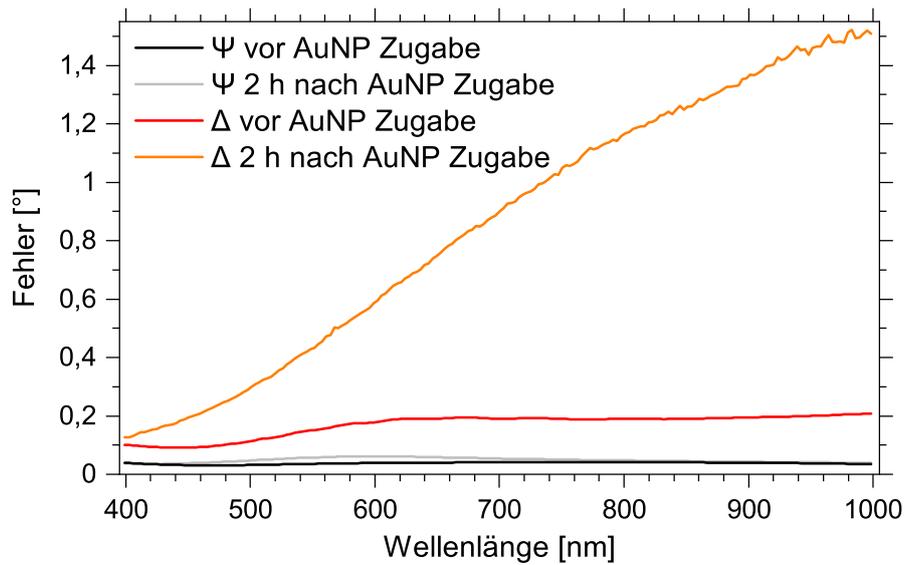


Abbildung E.10. Es ist der Fehler der angepassten Winkel Ψ und Δ des DMPC-Systems vor und zwei Stunden nach der AuNP-Zugabe in Abhängigkeit von der Wellenlänge bei 18,0 °C dargestellt. Der Fehler der Winkel Δ ist für alle Wellenlängen größer als der Fehler $\Delta\Psi$. Während vor der AuNP-Zugabe die Fehler der Winkel für alle Wellenlängen in einem ähnlichen Bereich lagen, nimmt nach der AuNP-Zugabe der Fehler $\Delta\Delta$ mit größer werdender Wellenlänge stark an. Dies erklärt die größere Abweichungen zwischen Anpassungen und Messdaten in Abbildung E.9 verglichen mit Abbildung E.8.

F Salzlösungen

F.1 Variation der Bilagenanzahl des DMPC-Systems

In Abbildung F.1 wurden die Messdaten des in Abbildung 8.4 und Tabelle 8.1 dargestellten DMPC-Systems in 6 mM Magnesiumchloridlösung unter unterschiedlichen Annahmen angepasst.

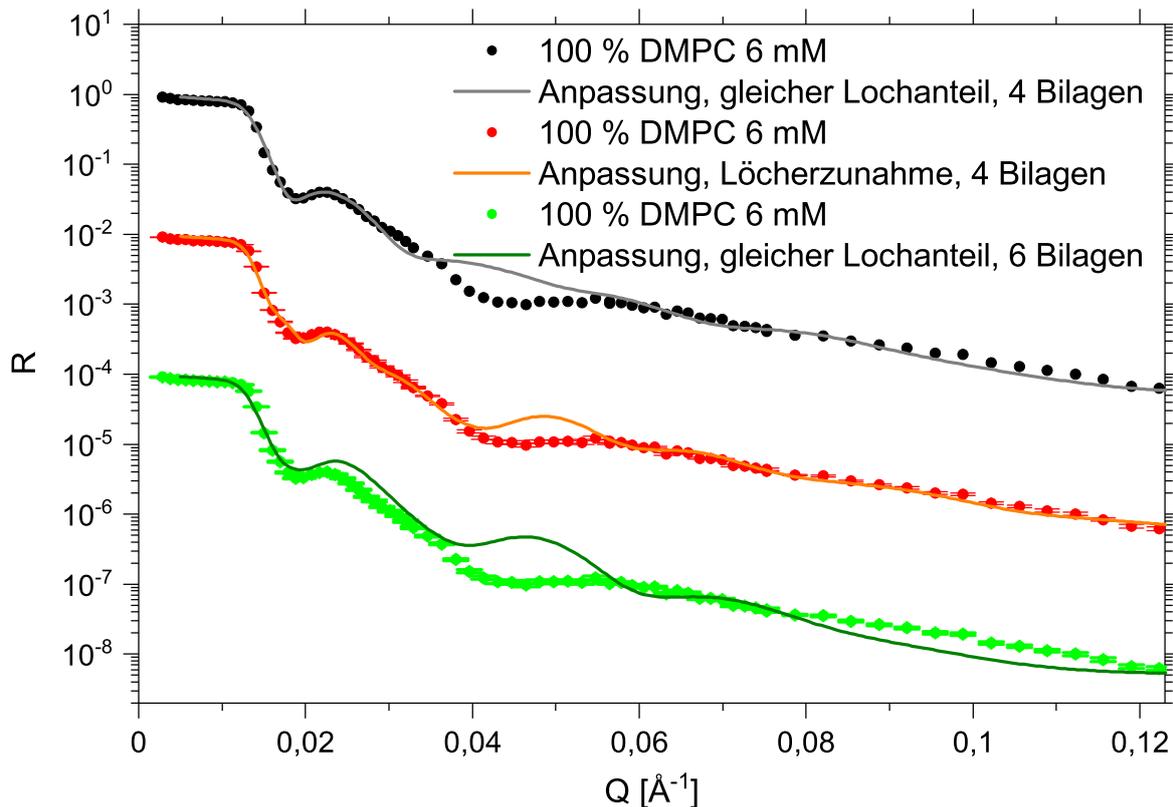


Abbildung F.1. Die NR-Daten des DMPC-Oligolipidbilagensystems bei einer Magnesiumchloridkonzentration von 6 mM werden unter der Verwendung unterschiedlicher Annahmen angepasst. Dabei wird zunächst angenommen, dass der Lochanteil 31,7 % entspricht - wie auch bei den Anpassungen des Systems bei allen anderen Magnesiumchloridkonzentrationen. Die Bilagenanzahl ist dabei um zwei geringer als bei der Anpassung in 50 mM Magnesiumchloridlösung. Es ist eine klare Diskrepanz zwischen Modellierung und Messdaten im Bereich des lokalen Minimums zwischen dem ersten und zweiten Bragg-Peak zu erkennen. Bei der zweiten Anpassung wird nicht nur angenommen, dass die Bilagenanzahl um zwei geringer ist als in 50 mM Magnesiumchloridlösung, sondern auch, dass der Lochanteil von 31,7 % auf 50 % zunimmt. In Folge dessen verringert sich die Diskrepanz in besagtem Bereich. Bei der dritten Anpassung wird angenommen, dass der Lochanteil und die Bilagenanzahl bei 6 mM dieselben sind wie bei der Anpassung in 50 mM Magnesiumchloridlösung. Diese beiden Parameter führen dazu, dass die modellierte die gemessene Reflektivität - besonders im Bereich des ersten Bragg-Peaks - deutlich übersteigt.

F.2 ζ -Potentiale unterschiedlicher Lipide

Um hinsichtlich der ζ -Potentiale Unterschiede in 50 mM Magnesiumchloridlösung festzustellen, wurden Vesikel bestehend aus 70 % DMPC, bzw. DMTAP und DMPG sowie 30 % Chol verwendet, sodass der Anteil an geladenem Lipid mit 70 % deutlich höher war als bei den NR-Messungen mit Anteilen an geladenen Lipiden im niedrigen einstelligen Prozentbereich. Das Ergebnis der Messungen ist Tabelle F.1 zu entnehmen.

Tabelle F.1. Erhaltene ζ -Potentiale unterschiedlicher Lipidsysteme mit einem Chol-Anteil von 30 % in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C.

Größe	DMTAP	DMPC	DMPG
ζ -Potential [mV]	19,90 ± 0,41	14,17 ± 0,87	11,63 ± 0,64

Die in Tabelle F.1 dargestellten Messwerte sind in Abbildung F.2 visualisiert.

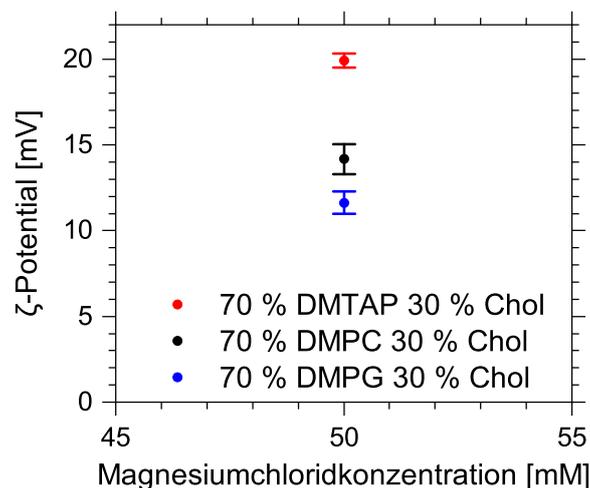


Abbildung F.2. Dargestellt sind die ζ -Potentiale von Vesikeln bestehend aus unterschiedlichen Lipiden mit einem Chol-Anteil von 30 % in 50 mM Magnesiumchloridlösung.

Trotz der unterschiedlich geladenen Lipide besitzen die zugehörigen Vesikel in 50 mM Magnesiumchloridlösung überraschenderweise vergleichsweise ähnliche ζ -Potentiale.

F.3 Gesamtschichtdicken 50 % DMPC 50 % Chol

Die linearen Anpassungen in den Abbildungen F.3 - F.6 erfolgte mit der Formel $Q = A + K \cdot B$, wobei es sich bei Q um den Betrag des Impulstransfervektors, bei K um die Nummer der Kiessig-Oszillation, bei A um den Betrag des Impulstransfervektors bei der Kiessig-Oszillation Null und bei B um die Steigung der Anpassung handelt. In Tabelle F.2 sind die aus den Anpassungen in den Abbildungen F.3 - F.6 erhaltenen Parameter und die abgeleiteten Gesamtschichtdicken zusammenfassend dargestellt.

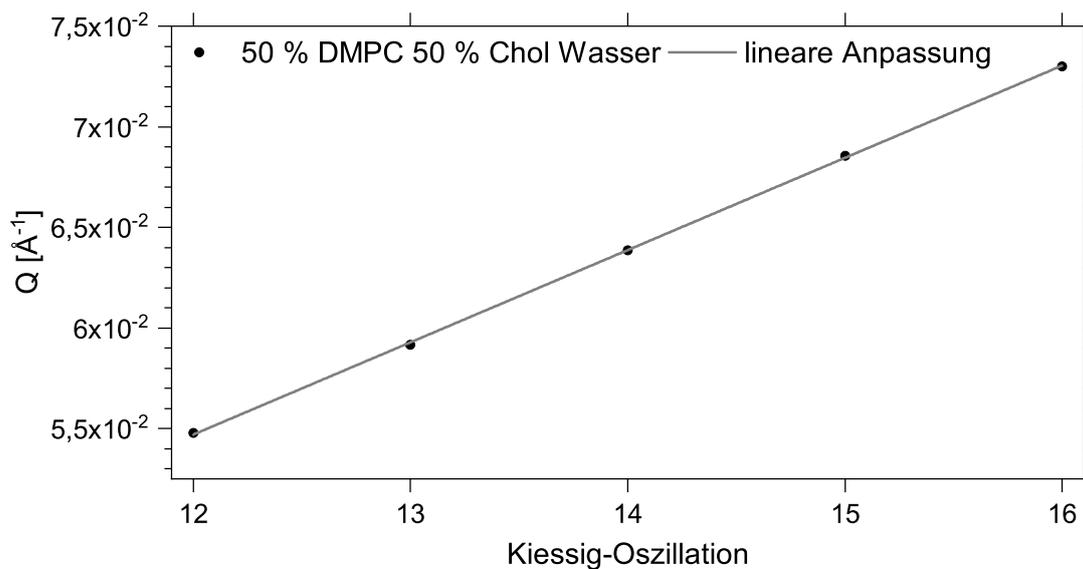


Abbildung F.3. Dargestellt sind die Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems in Wasser mit zugehöriger linearer Anpassung.

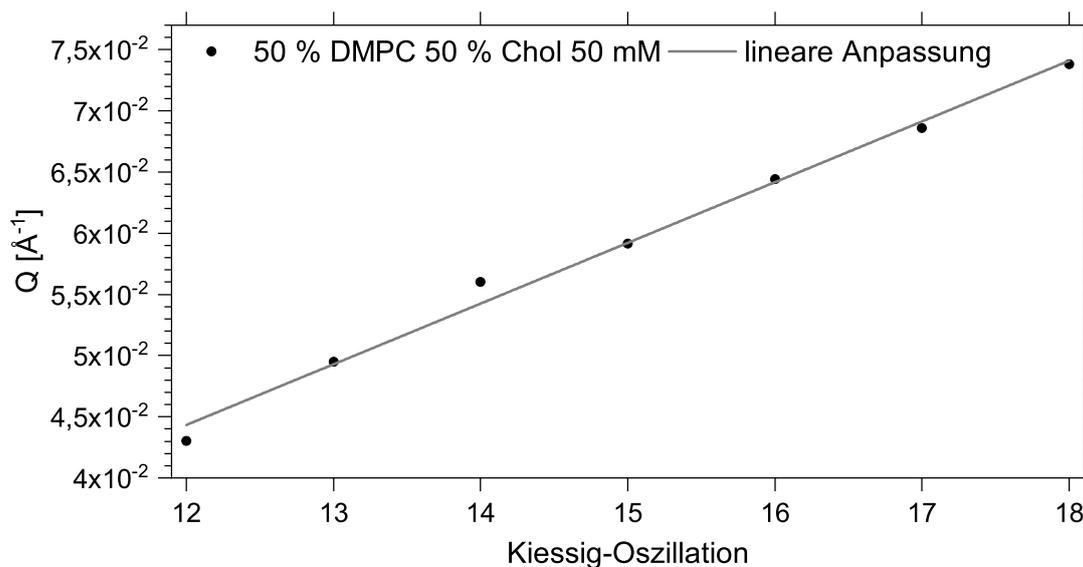


Abbildung F.4. Dargestellt sind die Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems in 50 mM Magnesiumchloridlösung mit zugehöriger linearer Anpassung.

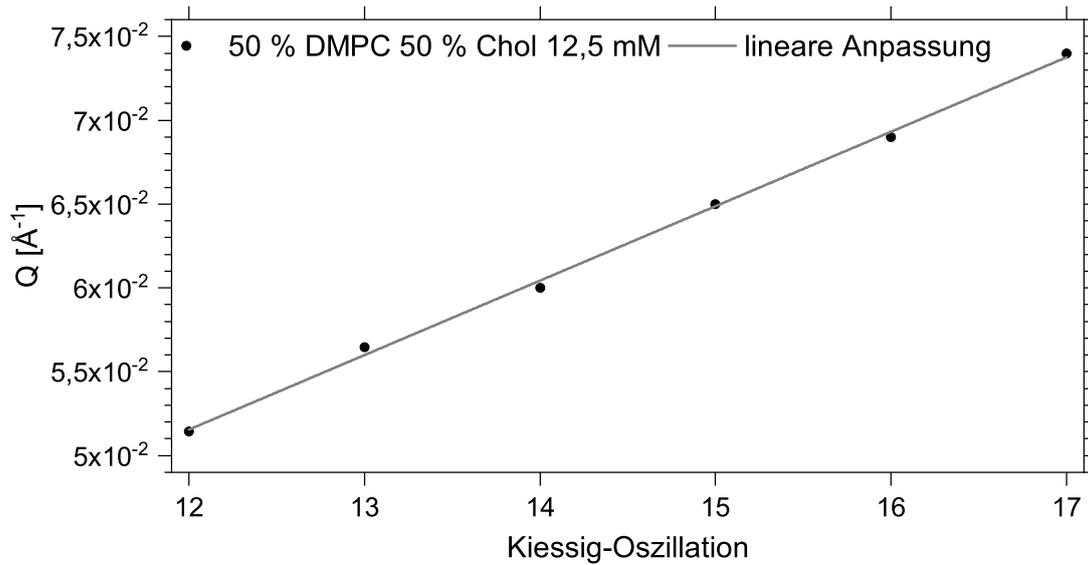


Abbildung F.5. Dargestellt sind die Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems in 12,5 mM Magnesiumchloridlösung mit zugehöriger linearer Anpassung.

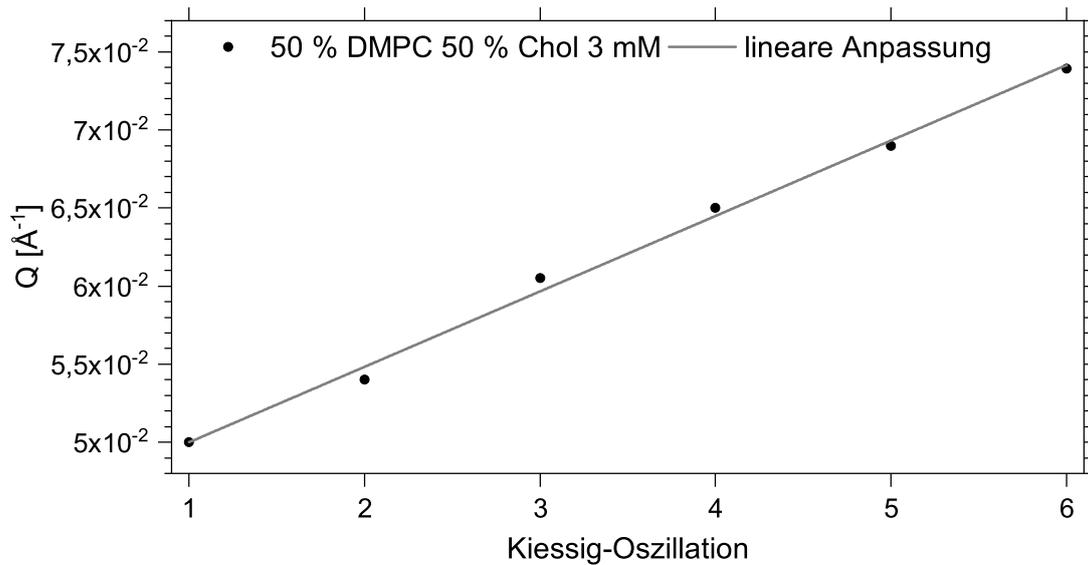


Abbildung F.6. Dargestellt sind die Positionen der Kiessig-Oszillationen des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems in 3 mM Magnesiumchloridlösung mit zugehöriger linearer Anpassung.

Tabelle F.2. Berechnung der Gesamtschichtdicken des 50 % DMPC 50 % Chol-Oligolipidbilagensystems bei unterschiedlichen Magnesiumchloridkonzentrationen bei 20 °C.

Umgebung	A [Å ⁻¹]	B [10 ⁻³ Å ⁻¹]	d_{ges} [Å]
Wasser	$(-3,18 \pm 4,96) \cdot 10^{-4}$	$4,58 \pm 0,04$	1.370 ± 10
50 mM	$(-1,52 \pm 0,29) \cdot 10^{-2}$	$4,96 \pm 0,19$	1.270 ± 50
12,5 mM	$(-1,72 \pm 1,36) \cdot 10^{-3}$	$4,44 \pm 0,09$	1.420 ± 30
3 mM	$(-4,52 \pm 0,06) \cdot 10^{-2}$	$4,83 \pm 0,16$	1.300 ± 40

F.4 DMPC in 100 mM Magnesiumchloridlösung

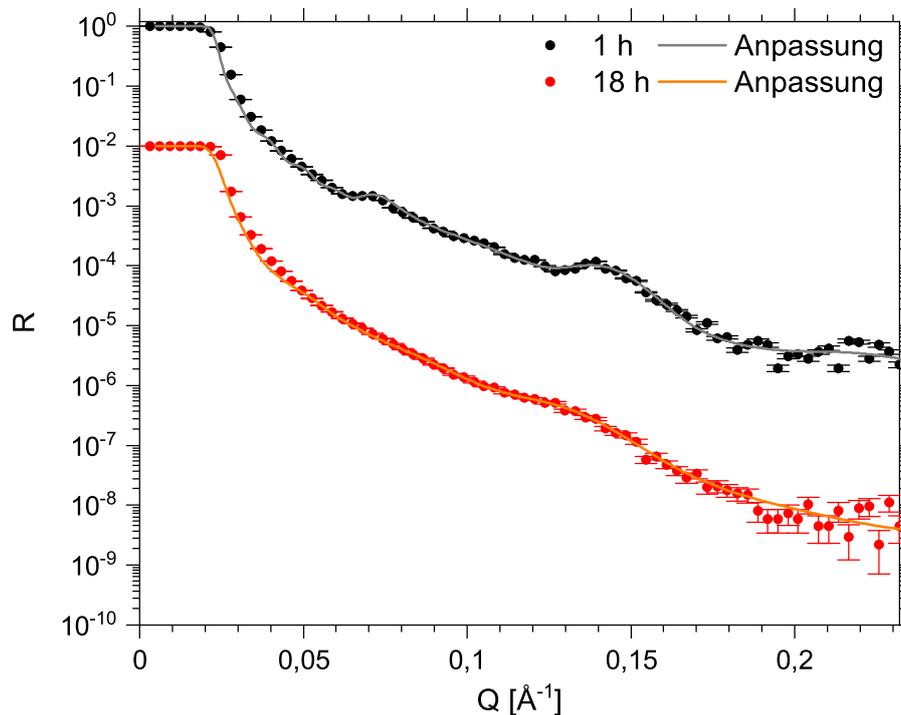


Abbildung F.7. XRR-Daten eines DMPC-Oligolipidbilagensystems in 100 mM Magnesiumchloridlösung mit zugehörigen Anpassungen. Die Charakterisierung erfolgte eine Stunde und 18 Stunden nach dem das an Luft gehaltene Oligolipidbilagensystem mit 100 mM Magnesiumchloridlösung in Kontakt gebracht wurde. Nach einer Stunde konnte eine Charakterisierung durchgeführt werden, wobei die Dicke der Wiederholeinheit zu $(91,3 \pm 0,9)$ Å bestimmt wurde. Das System befindet sich zu diesem Zeitpunkt allerdings nicht in einem Gleichgewichtszustand. Nach 18 Stunden lassen die Messdaten keine verlässlichen Rückschlüsse mehr auf das System mehr zu, wie anhand der angepassten Rauigkeit von (15 ± 5) Å und einer angenommenen Auflösung von $\Delta Q/Q$ von 24 % - ohne mögliche Kopplung von Parametern - klar wird.

F.5 XRR-Anpassungen

In Abbildung F.8 sind die Messdaten und zugehörige Anpassungen von vier 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystemen dargestellt. Dabei wurde angenommen, dass die SLD der Zwischenschichten geringer ist als bei den in Kapitel 8.3.4 dargestellten Anpassungen. Die zugehörigen Parameter sind in Tabelle F.3 dargestellt.

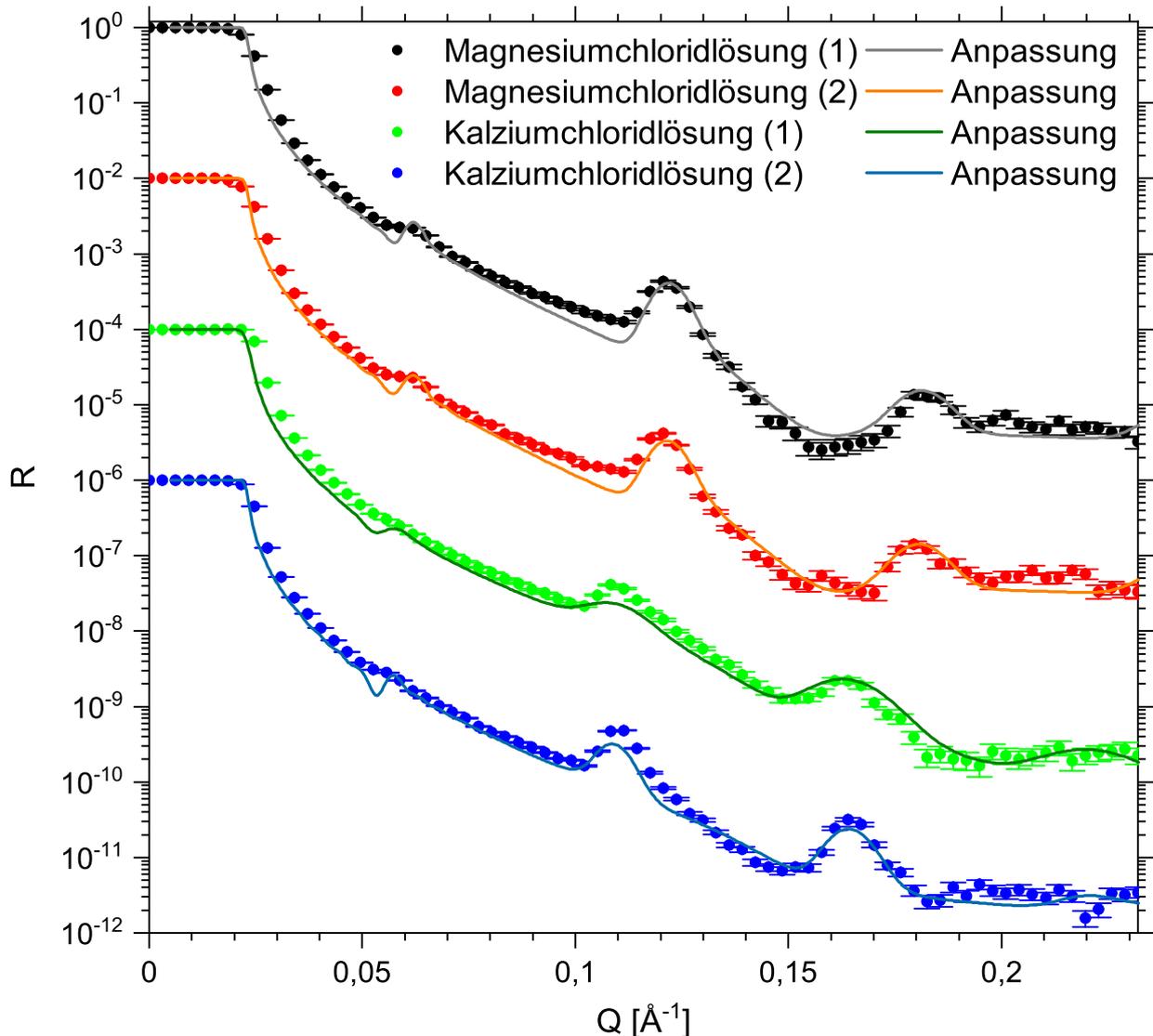


Abbildung F.8. XRR-Messdaten von vier Oligolipidbilagensystemen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol mit zugehöriger Anpassungen mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als das in Kapitel 8.3.3 der Fall ist. Zwei Systeme wurden in 50 mM Magnesiumchloridlösung charakterisiert, die anderen beiden in 50 mM Kalziumchloridlösung. Durch die Verringerung der SLD im Bereich der Zwischenschichten ist die Anpassungsgüte geringer als bei den in Abbildung 8.16 dargestellten Anpassungen.

F. Salzlösungen

Tabelle F.3. XRR-Parameter der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchlorid- und 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als in Tabelle 8.13.

Parameter	50 mM Magnesiumchlorid-lösung (1)	50 mM Magnesiumchlorid-lösung (2)	50 mM Kalziumchlorid-lösung (1)	50 mM Kalziumchlorid-lösung (2)
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7	7	12	7
Σ [Å]	5,0 ± 0,7	5,0 ± 0,7	5,4 ± 0,7	6,1 ± 0,6
N	13	11	10	12
d_{W1} [Å]	25 ± 3	26 ± 2	20 ± 3	18 ± 4
d_{W2} [Å]	46,6 ± 0,6	47,0 ± 0,6	58,1 ± 0,9	57,8 ± 0,7
d_{W3} [Å]	124 ± 5	122 ± 4	136 ± 8	130 ± 5
d_{W4} [Å]	20 ± 20	20 ± 20	60 ± 14	60 ± 14
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} Å^{-2}]	10,62 ± 0,14	10,62 ± 0,14	10,84 ± 0,16	10,84 ± 0,16
Ionen pro Kopfgruppe	0,49 ± 0,24	0,49 ± 0,24	0,52 ± 0,16	0,52 ± 0,16
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,0	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,38	9,38	9,39	9,39
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} Å^{-2}]	9,55 ± 0,06	9,55 ± 0,06	9,65 ± 0,09	9,65 ± 0,09
d_{Wh} [Å]	103,5 ± 0,6	103,9 ± 0,6	115,0 ± 0,9	115,9 ± 0,6
d_{ges} [Å]	1.355 ± 8	1.150 ± 7	1.132 ± 11	1.377 ± 8
χ^2	1,56	1,62	1,56	1,40

In Abbildung F.9 sind die Daten und Anpassungen der 70 % DMPC 30 % Chol-Systeme in 50 mM Magnesiumchlorid- und 50 mM Kalziumchloridlösung vor und nach der Zugabe der in Tabelle 6.10 gelisteten AuNP 3 dargestellt, unter der Annahme, dass die SLD der Zwischenschichten geringer ist als bei den in Kapitel 8.3.4 dargestellten Anpassungen. Die verwendeten Parameter des Systems in Magnesiumchloridlösung sind in Tabelle F.4 und die Parameter des Systems in Kalziumchloridlösung sind in Tabelle F.5 dargestellt.

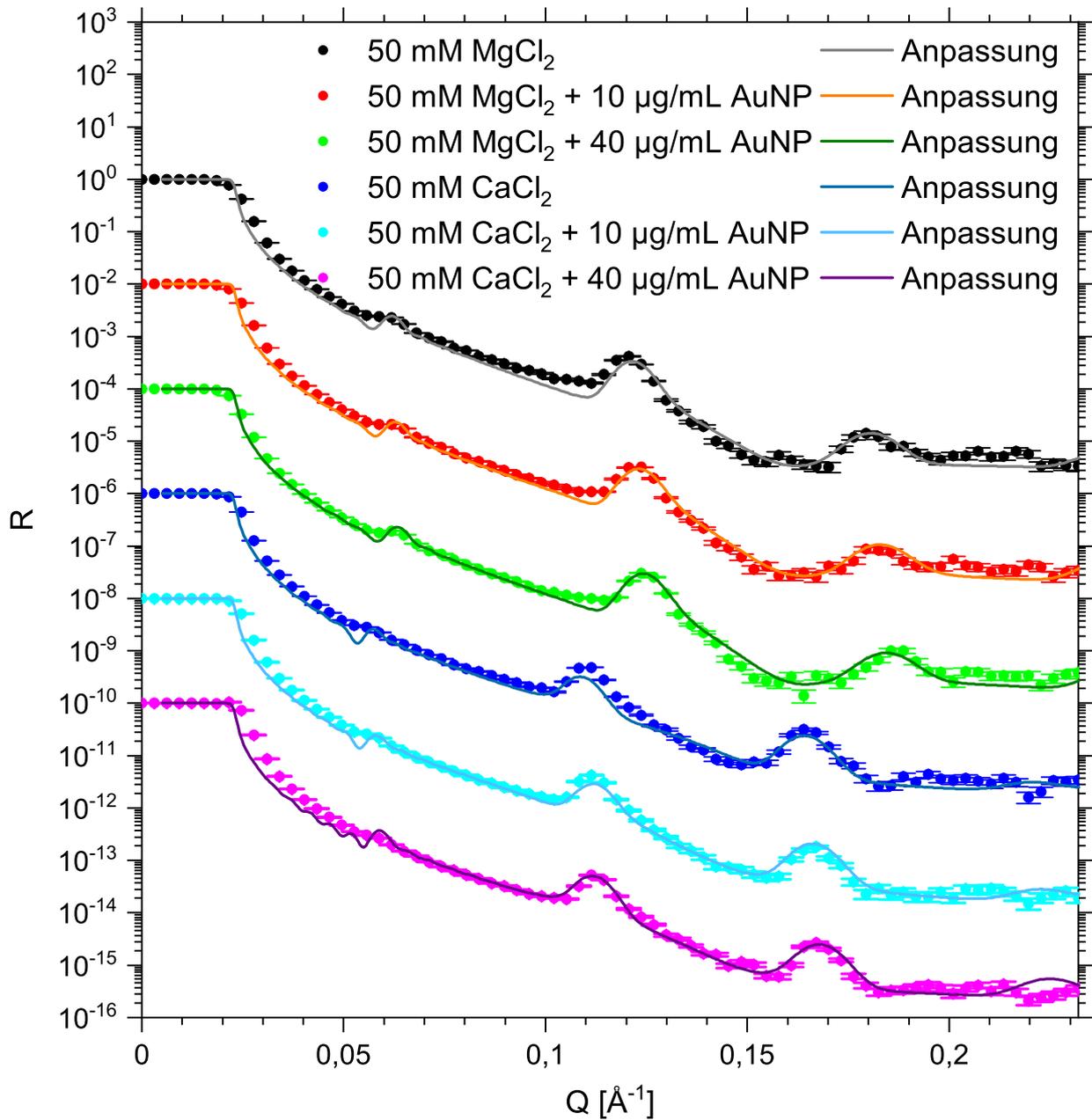


Abbildung F.9. Dargestellt sind die XRR-Daten mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als in Tabelle 8.13 - von zwei Oligolipidbilagensystemen bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol. Eines wurde in 50 mM Magnesiumchlorid- und das andere in 50 mM Kalziumchloridlösung charakterisiert - vor und nach den Zugaben von großen AuNP bei 20,0 °.

Tabelle F.4. XRR-Parameter der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Magnesiumchloridlösung bei 20,0 °C mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als in Tabelle 8.13 - vor und nach der Zugabe an großen AuNP.

Parameter	ohne AuNP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	8	8	8
Σ [Å]	5,0 ± 0,7	5,0 ± 0,7	5,0 ± 0,7
N	11	11	11
d_{W1} [Å]	26 ± 2	22 ± 2	22 ± 3
d_{W2} [Å]	47,0 ± 0,6	46,1 ± 0,5	45,1 ± 0,6
d_{W3} [Å]	122 ± 4	124 ± 3	122 ± 4
d_{W4} [Å]	20 ± 20	60 ± 20	60 ± 20
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	10,62 ± 0,14	10,62 ± 0,14	10,62 ± 0,14
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,38	9,38	9,38
$\rho_{SL\ W1-4}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,55 ± 0,06	9,55 ± 0,06	9,55 ± 0,06
d_{Wh} [Å]	103,9 ± 0,6	103,0 ± 0,5	102,0 ± 0,6
d_{ges} [Å]	1.150 ± 7	1.140 ± 5	1.130 ± 7
χ^2	1,62	1,25	0,97

Tabelle F.5. XRR-Parameter der Oligolipidbilagensysteme bestehend aus 70 % DMPC 30 % Chol in 50 mM Kalziumchloridlösung bei 20,0 °C mit geringerer SLD im Zwischenschichtenbereich als in Tabelle 8.13 - vor und nach der Zugabe an großen AuNP.

Parameter	ohne AuNP	10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP	40 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP
$\frac{\Delta \vec{q} }{ \vec{q} }$ [%]	7	7	7
Σ [Å]	6,4 ± 0,2	6,4 ± 0,2	6,4 ± 0,2
N	12	12	12
d_{W1} [Å]	18 ± 4	18 ± 3	11 ± 3
d_{W2} [Å]	57,8 ± 0,7	56,3 ± 0,6	54,9 ± 0,6
d_{W3} [Å]	130 ± 5	95 ± 5	88 ± 4
d_{W4} [Å]	60 ± 14	60 ± 14	60 ± 14
$\rho_{SL\ Kopf}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	10,84 ± 0,16	10,84 ± 0,16	10,84 ± 0,16
$\rho_{SL\ Kette}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,0	9,0	9,0
$\rho_{SL\ LM}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,39	9,39	9,39
$\rho_{SL\ W1-4}$ [10^{-6} \AA^{-2}]	9,68 ± 0,09	9,68 ± 0,09	9,68 ± 0,09
d_{Wh} [Å]	116,1 ± 0,6	113,2 ± 0,7	111,8 ± 0,6
d_{ges} [Å]	1.377 ± 8	1.303 ± 8	1.276 ± 7
χ^2	1,25	0,99	1,82

In den Gleichungen F.1 bis F.5 sind die berechneten AuNP-Größen dargestellt, die erhalten werden, wenn als Referenz die in Tabelle F.3 gelisteten Werte verwendet werden. Dabei wird analog zu Kapitel 8.3.4 verfahren und entsprechend von Gleichung 8.19 ausgegangen.

$$r \left(50 \text{ mM Magnesiumchloridlösung, } 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (12 \pm 2) \text{ \AA} \quad (\text{F.1})$$

$$r \left(50 \text{ mM Magnesiumchloridlösung, } 40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (13 \pm 3) \text{ \AA} \quad (\text{F.2})$$

$$r \left(50 \text{ mM Kalziumchloridlösung, } 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (16 \pm 5) \text{ \AA} \quad (\text{F.3})$$

$$r \left(50 \text{ mM Kalziumchloridlösung, } 20 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (16 \pm 5) \text{ \AA} \quad (\text{F.4})$$

$$r \left(50 \text{ mM Kalziumchloridlösung, } 40 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ AuNP} \right) = (14 \pm 5) \text{ \AA} \quad (\text{F.5})$$

Die in den Gleichungen F.1 bis F.5 erhaltenen Werte sind erwartungsgemäß mit 12 Å - 16 Å größer als die Werte in den Gleichungen 8.8 bis 8.12 mit 8 Å - 13 Å. Die Messdaten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in PBS vor und nach der AuNP 1-Zugabe ist in Abbildung F.10 dargestellt.

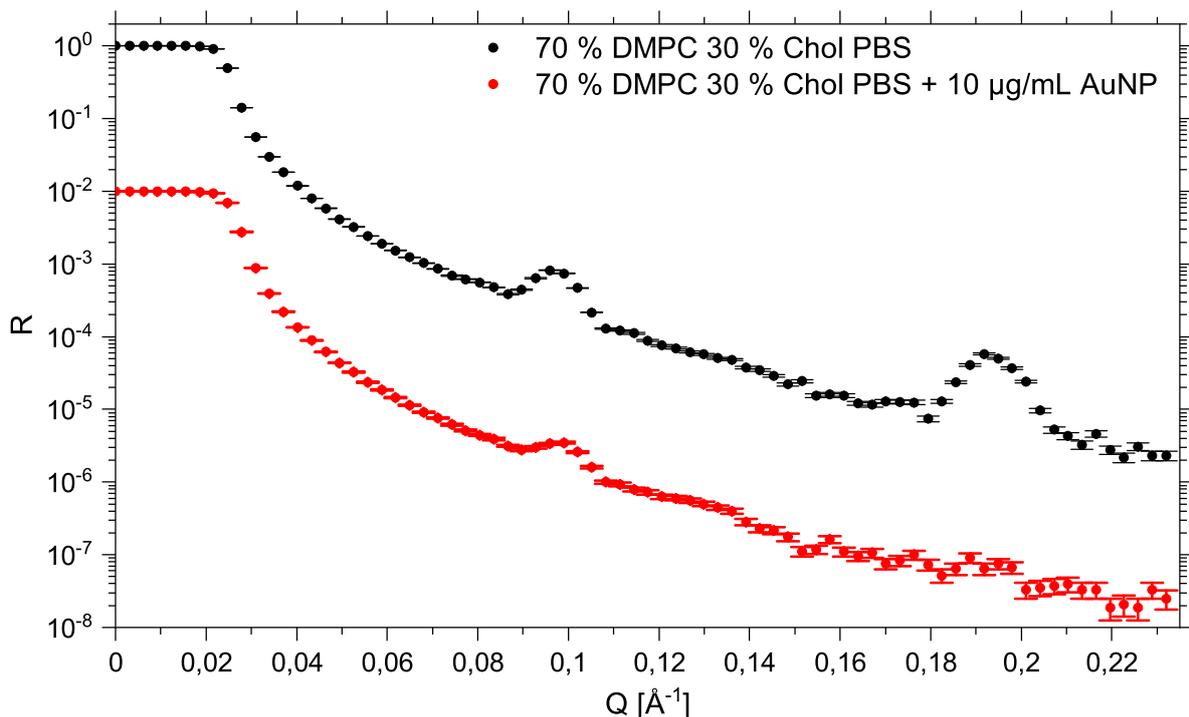


Abbildung F.10. XRR-Daten eines 70 % DMPC 30 % Chol-Oligolipidbilagensystems in PBS bei 20,0 °C vor und eine Stunde nach der Zugabe von 10 $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ AuNP der Größe 500 Å. Dabei wurde nicht überprüft, ob das System bereits nach einer Stunde in einem Gleichgewichtszustand vorlag, da das erhaltene Reflexionsprofil keine aussagekräftige Modellierung der Daten ermöglicht - unabhängig davon, ob es im Gleichgewichtszustand vorliegt oder sich die Reflektivität weiter ändert.



Eidesstattliche Versicherung gemäß § 8 der Promotionsordnung für die Gesamtfakultät
für Mathematik, Ingenieur- und Naturwissenschaften der Universität Heidelberg /
Sworn Affidavit according to § 8 of the doctoral degree regulations of the Combined
Faculty of Mathematics, Engineering and Natural Sciences at Heidelberg University

1. Bei der eingereichten Dissertation zu dem Thema / The thesis I have submitted entitled

*Herstellung und Charakterisierung von Zellmembranmodellen
unterschiedlicher Komplexität und Studien ihrer Wechselwirkung mit Nanopartikeln*

handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung / is my own work.

2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe
Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene
Inhalte als solche kenntlich gemacht. / I have only used the sources indicated and have not made
unauthorised use of services of a third party. Where the work of others has been quoted or
reproduced, the source is always given.

3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich ~~wie folgt~~ bislang nicht¹⁾ an einer Hochschule des In- oder
Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt. / I have not yet/have
already¹⁾ presented this thesis or parts thereof to a university as part of an examination or degree.

Titel der Arbeit / Title of the thesis:

Hochschule und Jahr / University and year:

Art der Prüfungs- oder Qualifikationsleistung / Type of examination or degree:

4. Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärungen bestätige ich. / I confirm that the declarations made
above are correct.

5. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder
unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt. / I am aware of the importance of
a sworn affidavit and the criminal prosecution in case of a false or incomplete affidavit.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erklärt und nichts
verschwiegen habe. / I affirm that the above is the absolute truth to the best of my knowledge and that
I have not concealed anything.

Heidelberg, den 11.11.2022
Ort und Datum / Place and date

A. Focklin
Unterschrift / Signature

¹⁾ Nicht Zutreffendes streichen. Bei Bejahung sind anzugeben: der Titel der andernorts vorgelegten Arbeit, die
Hochschule, das Jahr der Vorlage und die Art der Prüfungs- oder Qualifikationsleistung. / Please cross out what is
not applicable. If applicable, please provide: the title of the thesis that was presented elsewhere, the name of the
university, the year of presentation and the type of examination or degree.