

TEKST NR 397

2001

En undersøgelse af solvents og
kædelængdes betydning for anomal swelling
i phospholipiddobbeltslag

Et 2. modul fysikprojekt

Kristine Niss Arnold Skimminge
Esben Thormann Stine Timmermann

Vejleder: Dorthe Posselt

TEKSTER fra

IMFUFA

ROSKILDE UNIVERSITETSCENTER
INSTITUT FOR STUDIET AF MATEMATIK OG FYSIK SAMT DERES
FUNKTIONER I UNDERSVING, FORSKNING OG ANVENDELSER

IMFUFA · Roskilde Universitetscenter · Postboks 260 · DK-4000 Roskilde

Kristine Niss Arnold Skimminge

Esben Thormann Stine Timmermann : En undersøgelse af solvents og kæde-længdes betydning for anomal swelling i phospholipiddobbeltslag. – Et 2. modul fysikprojekt.

IMFUFA tekst nr. 397/2001

129 sider

ISSN 0106-6242

Vi har igennem dette projektforløb studeret, hvordan den anomali i repeatafstanden, der er observeret ved main faseovergangen i phospholipiddobbeltslag, ændres ved tilslætning af små koncentrationer af salt. Derudover har vi undersøgt, hvordan saltets effekt afhænger af lipidernes kædelængde.

Konkret har vi med småvinkelrøntgenspredning (SAXS) undersøgt den omtalte faseovergang ved at måle gentagende afstande – repeatafstände – i multilamellare vesikler af DMPC, DC₁₅PC og DPPC. Som solvent har vi anvendt rent vand samt 0,1 M oplosninger af KBr, NaCl og NH₄Cl.

Arbejdet bygger videre på studier af alkalihaliders betydning for den anomale swelling i DC₁₃PC [Korreman, 2000b][Korreman & Posselt, 2000b], hvor der blandt andet findes en sammenhæng mellem saltenes kaotrope og kosmotrope egenskaber og størrelsen af den anomale swelling. Disse resultater understøtter en forklaringsmodel af den anomale swelling som i denne rapport benævnes DTU-modellen.

Med vores målinger har vi undersøgt om de systematikker der er observeret for saltenes effekt på DC₁₃PC kan genfindes for phospholipider med længere fedtsyrehalter.

Vi konkluderer, at saltenes effekt på størrelsen af den anomale swelling sammenholdt med deres kaotrope og kosmotrope egenskaber, er i overensstemmelse med resultaterne for målingerne på DC₁₃PC.

Vi finder at den kædelængdeafhængighed af den anomale swelling, som er rapporteret i [Korreman & Posselt, 2000a] med rent vand som solvent, stadig er gældende ved de tre typer saltopløsning vi har anvendt.

Størrelsen af repeatafstandene i temperaturområder, hvor den anomale swelling ikke er dominerende, viser sig at være i uoverensstemmelse med den opstillede hypotese for saltenes indvirkning på systemet.

Sammenhængen mellem størrelsen af den anomale swelling og nærværet af en kritisk temperatur for separation af dobbeltslagene i den multilamellare vesikel, der er observeret i [Korreman, 2000b][Korreman & Posselt, 2000b] genfindes ikke ved målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC, hverken når solventet er rent vand eller 0,1 M saltopløsninger.

Forord

Denne rapport er resultatet af et semesters projektarbejde på fysikoverbygningen på RUC. Projektet er skrevet på andet modul og er udarbejdet under den internt faglige binding. Det er et eksperimentelt projekt, og eksperimenterne er udført med småvinkelspredning i røntgenlaboratoriet på IMFUFA, RUC.

Vi vil gerne takke alle røntgenlaboratoriets brugere for fleksibilitet i forbindelse med koordineringen af måletiderne. Specielt tak til Jens Holm og Dorthe Posselt for at indføre os i laboratoriearbejdet og for hjælpen undervejs.

En særlig tak til Kim Bruno Andersen for at skabe såvel et formelt som uformelt forum for diskussion af anomal swelling af lipiddobbeltlag, og tak til Stine Sofia Korreman for en meget udbytterig diskussion af vores resultater.

Hans Wallin og glasværkstedet takkes for praktisk assistance.

I forbindelse med det projektarbejde, der ligger forud for denne rapport, har vi været under vejledning af Dorthe Posselt, og vi vil gerne takke for inspiration og kyndig faglig støtte.

December 2000

Kristine Niss
Arnold Skimminge
Esben Thormann
Stine Timmermann

I forbindelse med udgivelsen af projektrapporten som IMFUFA-tekst har vi foretaget rettelser af fejl og formuleringer i den oprindelige rapport.

April 2001

Indhold

Forord	i
Indledning	1
1 Systembeskrivelse	5
1.1 Lipidmolekylet	5
1.2 Lipider i vand	6
1.3 Solventet	7
1.3.1 Vand og salt	8
1.3.2 Lipider i saltopløsning	10
2 Interlamellare vekselvirkninger	13
2.1 van der Waals kræfter	14
2.2 Elektrostatiske kræfter	16
2.3 Steriske kræfter	18
2.3.1 Elasticiteten af lipiddobbeltlag	19
2.3.2 Undulationskraften og den peristaltiske kraft	21
2.3.3 Protrusionkraften	22
2.4 Hydreringskraften	23
2.5 Kritisk unbinding	25
3 Faseopførslen og anomal swelling	27
3.1 De forskellige faser	27
3.2 Main faseovergangen og den anomale swelling	28
3.3 Nærværet af et kritisk punkt	31
3.4 DTU-modellen	33

4 Baggrund for vores eksperimenter	35
4.1 Swelling i vandlag eller lipiddobbeltlag	35
4.2 Kædelængdeafhængigheden	36
4.3 Betydningen af salt	37
4.4 Vores salte og kædelængder	39
4.4.1 Valg af salte og kædelængder	39
4.4.2 Betydningen af salte og kædelængder	40
5 Eksperimentel teknik og metode	43
5.1 Røntgenspredning på multilamellare vesikler	43
5.2 Kratkykameraet	44
5.2.1 Detektorfølsomhed	47
5.2.2 Temperaturkontrol	47
5.2.3 Placering af den direkte stråle	48
5.2.4 Baggrundsspektrum	48
5.3 Databehandling	49
5.3.1 Instrumentel smearing	50
5.3.2 Fitning	52
5.3.3 Kalibrering	52
5.3.4 Niveauet af repeatafstandene	54
5.4 Udførsel af eksperiment	54
5.4.1 Prøvepræparerering	54
5.4.2 Måleprogram	55
6 Sideløbende undersøgelser	57
6.1 Reproducerbarhed af data	57
6.1.1 Usikkerheder	59
6.2 Prøvepræpareringens betydning	60
6.3 Ligevægt i systemet	62

7 Datapræsentation	65
7.1 Rent vand	66
7.2 Fastholdt kædelængde med varierende salte	67
7.2.1 DMPC	67
7.2.2 DC ₁₅ PC	68
7.2.3 DPPC	69
7.3 Fastholdt salt med varierende kædelængde	70
7.3.1 Kaliumbromid	70
7.3.2 Natriumchlorid	71
7.3.3 Ammoniumchlorid	71
8 Analyse og diskussion af data	75
8.1 Sammenligning af resultater	75
8.1.1 Forskydning af D_{min} -værdierne	75
8.1.2 Ændring i ΔD -værdierne	77
8.1.3 DTU-modellen	79
8.1.4 Vurdering af DTU-modellen og [Korreman, 2000b]'s hypoteser	80
8.2 Kædelængdens betydning for saltets effekt	83
8.2.1 Kaliumbromid	84
8.2.2 Natriumchlorid	87
8.2.3 Ammoniumchlorid	88
Konklusion	91
Litteratur	93
A Elektrostatiske kræfter	97
B Resultater	101
B.1 DMPC	102
B.2 DC ₁₅ PC	106
B.3 DPPC	110
B.4 Sideløbende undersøgelser	114

Indledning

Kort systembeskrivelse

Et af de områder, som har stor interesse indenfor biofysik, er lipiddobbeltlag. Lipiddobbeltlag består af to monolag af lipider, der i vandig opløsning vender deres hydrofile hoveder udad og deres hydrofobe haler indad. Der er forskellige grunde til, at lipiddobbeltlag tiltækker interesse både blandt fysikere og biologer. De udgør en simpel model af en cellemembran, og kan således bruges til at undersøge de mest fundamentale dynamikker og mekanismer i sådanne. Desuden er de interessante ud fra en fysikers synspunkt, fordi de udgør et interessant (og relativt kompliceret) system. Blandt andet undergår lipiddobbeltlag forskellige typer faseovergange.

De systemer, vi arbejder med, er multilamellare vesikler bestående af phospholipiddobbeltlag (DMPC, DC₁₅PC samt DPPC). Multilamellare vesikler kan beskrives som en lögstruktur, hvor hvert lag er lipiddobbeltlag, med vand imellem.

Med småvinkelrøntgenspredning er vi i stand til at detektere og bestemme en hyppigt gentagende afstand i et system – en repeatafstand. En sådan afstand findes netop i de multilamellare vesikler, og den giver endvidere information omkring systemets tilstand. Blandt andet kommer det til udtryk i repeatafstanden, når lipiddobbeltlagene skifter fase.

Det hidtidige arbejde med *anomalous swelling*

I løbet af 90-erne har forskellige videnskabelige grupper studeret den temperaturafhængige repeatafstand omkring den faseovergang, som almindeligvis benævnes main faseovergangen. Repeatafstanden er mindre i højtemperatursafasen, men ændringen af repeatafstanden forløber ikke, som man umiddelbart ville forvente. Fænomenet omtales ofte som *anomalous swelling*, hvilket vi også har valgt at gøre i denne rapport.

De forskellige grupper søgte at forklare den anomale swelling ud fra meget forskellige modeller [Hønger et al., 1994][Zhang et al., 1994]. De to mest fremherskende forklaringer kan tilskrives henholdsvis, John F. Nagle og Ole G. Mouritsen samt deres respektive forskningsgrupper. Sidstnævntes model vil i rapporten blive omtalt som DTU-modellen.

På det seneste har der været en vis opblødning mellem fortalerne for de forskellige modeller, og specielt har Nagle anerkendt, at hans model formodentligt kun kan forklare en del af den anomale swelling [Nagle, 1998].

Røntgenlaboratoriet på IMFUFA er et af de steder, hvor der gennem de seneste 4-5 år er blevet foretaget undersøgelser af fænomenet anomal swelling i lipiddobbeltblad. Dette arbejde er senest rapporteret i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a]. [Korreman, 2000b] undersøger vesikler bestående af phospholipiddobbeltblad ved hjælp af en række forskellige eksperimentelle metoder, hvoraf småvinkelrøntgenspredning er en.

I [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a] undersøges betydningen af lipidhalernes længde ($DC_{13}PC$, $DMPC$, $DC_{15}PC$ samt $DPPC$) for den anomale swelling. Desuden undersøges det i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b], hvorledes den anomale swelling påvirkes af forskellige salte (alkalihalider) i en 0,1 M opløsning for $DC_{13}PC$.

Det konkluderes, at røntgenspredningsresultaterne, såvel som de øvrige resultater i [Korreman, 2000b], er i overensstemmelse med DTU-modellen. Dette sker i en ramme, hvor forskellene i saltenes effekt knyttes til deres vandsstrukturerende egenskaber.

Målsætninger og måleserie

Vores målinger i forbindelse med dette projekt ligger i forlængelse af de ovenfor skitserede. Således undersøger vi betydningen af saltopløsninger og lipidhalernes kædelængde i kombination. Konkret har vi målt på $DMPC$, $DC_{15}PC$ samt $DPPC$ og anvendt 0,1 M opløsninger af KBr , $NaCl$ og NH_4Cl . Begrundelsen for dette valg er beskrevet i afsnit 4.4.1.

Det er vores opfattelse, at vores arbejde i høj grad skal ses i forlængelse af [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a], hvilket blandt andet kommer til udtryk i vores valg af lipider og salte. Det betyder også, at vi på et tidligt tidspunkt har valgt at koncentrere os om DTU-modellen frem for Nagles model eller andre af de foreslæde forklaringer af den anomale swelling.

I forbindelse med hele diskussionen om forklaringen af den anomale swelling er det samtidig vigtigt at holde sig for øje, at vesiklerne som system langt fra er endegyldigt beskrevet. For eksempel er der ubesvarede spørgsmål omkring de interlamellære kræfter, der holder lagene i vesiklerne adskilt – og som sørger for, at de holder sammen.

Når det er interessant at besæftige sig med den anomale swelling, er det blandt andet, fordi den anomale swelling åbner mulighed for at studere kræfterne mellem dobbeltlagene og karakteren af main faseovergangen.

I de følgende punkter har vi søgt at sammenfatte vores målsætning med dette projekt og de eksperimenter, vi har udført. Punkterne er anført i en prioriteret rækkefølge efter, hvor snævre de er, og hvor præcist vi derfor forventer at kunne besvare dem.

- Stemmer de i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] [Korreman & Posselt, 2000a] foreslæde forklaringer af salt og kædelængdes betydning for den anomale swelling overens med de resultater vi opnår, når de to parametre varieres sideløbende?
- Opnår vi resultater, der yderligere støtter DTU-modellen eller som peger imod den?
- Hvilke informationer giver vores resultater om de interlamellare kræfter i systemet?

Sideløbende undersøgelser

Udover de egentlige formål med projektet ønsker vi at opbygge en fornemmelse for, hvor stabilt et system vi måler på. I den forbindelse er der to faktorer, vi specielt har fundet interessante. Den første er måden, hvorpå de multilamellare vesikler præparereres. Dette gøres nemlig forskelligt i forskellige laboratorier, og det er derfor interessant, hvorvidt det har væsentlig betydning for de opnåede resultater. Det andet er, at vi er usikre på, hvor lang tid vesiklerne skal holdes ved en given temperatur inden en termodynamisk ligevægt opnås. Derfor har vi foretaget gentagende målinger af repeatafstanden ved den samme temperatur efter forskellige ventetider.

De undersøgelser, vi har foretaget af systemets stabilitet, er meget indledende, idet vi kun i ringe grad har prioriteret at forfølge de ting, vi er stødt på. Det til trods finder vi, at de bidrager med nogle interessante oplysninger.

Projektrapporten

Vores selvstændige bidrag er, som det allerede er fremgået, primært eksperimentelt baseret. Det betyder selvfølgelig ikke, at vi ikke samtidig har udført et litteraturstudie. Som det fremgår af den netop skitserede målsætning, ønsker vi så vidt muligt at sætte vores resultater omkring den anomale swelling i forbindelse med generelle træk ved vesiklerne. Derfor indleder vi med tre kapitler, som skal danne baggrund for at gøre dette.

I kapitel 1 starter vi med at karakterisere det system, vi arbejder med, hvilket vil sige lipider, vesikler, vand og salt. I kapitel 2 præsenterer vi de forskellige typer vekselvirkninger, der menes at virke mellem dobbeltlag af lipider.

Kapitel 3 omhandler vesiklernes faseopførsel, og specielt karakteren af main faseovergangen. I denne forbindelse gør vi nærmere rede for, hvad der menes med anomalous swelling. Kapitel 3 afsluttes med kort at redegøre for DTU-modellen, hvilket sker på baggrund af kapitel 2 og den første del af kapitel 3.

Inden vi i kapitel 5 redegør for vores eksperimentelle teknik og metode, ud- dyber vi i kapitel 4, hvordan vi mener, at de eksperimenter, vi foretager, kan belyse de spørgsmål, vi har arbejdet udfra.

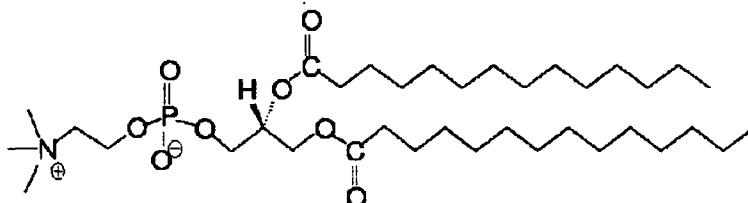
Præsentationen, behandlingen og diskussionen af vores data er opdelt i tre kapitler. Kapitel 6 udgør en afrundet helhed omkring de sideløbende undersøgelser, vi har foretaget. Data fra vores målinger af den anomale swelling præsenteres i kapitel 7, og tolkningen af disse fremlægges og diskuteres i kapitel 8.

1 Systembeskrivelse

Lipidsystemet, som vi undersøger, består af tre komponenter, lipider, vand og salt. Her beskrives disse komponenter, og en række relevante begreber introduceres.

1.1 Lipidmolekylet

Et phosphatidylcholinlipidmolekyle¹ er et makromolekyle med en glycerolgruppe, hvorpå der sidder en phosphatidylcholin hovedgruppe og to fedtsyrehaler af varierende længde. Phosphatidylcholin er en phosphatgruppe, hvortil der er bundet en cholingruppe, og i vandig opløsning har phosphatgruppen en negativ oxygenion og cholingruppen en positiv nitrogenion, som gør lipidmolekylet zwitterionisk. Hovedgruppen er uadtil neutral, men internt i gruppen er der en ladningsseparation, hvilket betyder, at hovedgruppen er polær. Dette står i modsætning til de to fedtsyrehaler, som består af upolære methylengrupper. [Cevc & Marsh, 1987, s. 3-6]



Figur 1.1 Et DMPC-molekyle. Til glycerol er der substitueret en phosphatgruppe (PO_4^-) med en cholingruppe ($\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{C}_2\text{H}_4\text{OH}^+$) og to fedtsyrekæder ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$). [Avanti Polar Lipids Inc., 2000]

I nærværende projekt studeres phospholipider med identiske fedtsyrehaler med henholdsvis 14, 15 og 16 carbonatomer. De anvendte phospholipider forkortes henholdsvis DMPC, DC₁₅PC og DPPC (se tabel 1.1 for de kemiske navne). I naturen findes der kun phospholipider med et lige antal carbonatomer i hver af fedtsyrehalerne, mens vi også arbejder med ikke naturligt forekommende lipider, nemlig phospholipider med 15 carbonatomer i hver fedtsyrehale.

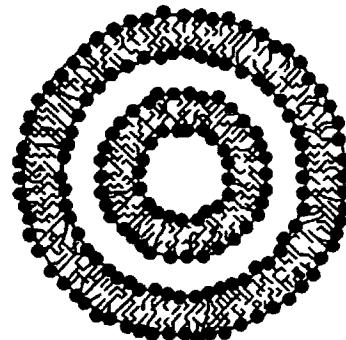
¹Herfra benævnes disse molekyler phospholipider eller blot lipider.

Fork.	Kemisk navn
DMPC	1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
DC ₁₅ PC	1,2-dipentadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
DPPC	1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

Tabel 1.1 Phospholipider, som studeres i nærværende projekt.

1.2 Lipider i vand

Phospholipidmolekylet er et amffilt molekyle, idet hovedgruppen er hydrofil, og fedtsyrehalerne er hydrofobe. Det betyder, at phospholipider i vand aggererer på en sådan måde, at de hydrofobe haler har mindst mulig kontakt med vandet. Amffile molekyler i vand danner forskellige aggregater afhængigt af deres geometri, og phospholipider danner dobbeltlag, idet tværsnitsarealet af hovedgruppen og fedtsyrehalerne er i samme størrelse [Israelachvili, 1992, s. 375]. Afhængigt af præpareringsmetoden kan disse dobbeltlag igen struktureres forskelligt.

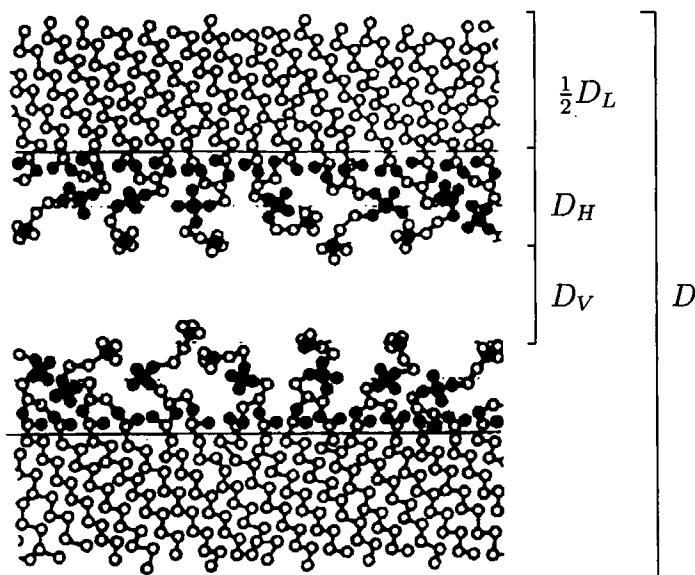


Figur 1.2 Principskitse af en multilamellar vesikel. [Korreman, 2000b]

I vores system danner dobbeltlagene multilamellare vesikler, hvilket vil sige, at de er organiseret i en uordnet lögstruktur med vand mellem de enkelte dobbeltlag. Multilamellare vesikler har, som det er illustreret på figur 1.2, en periodisk struktur, der er udgjort af et enhedslag. Hvert enhedslag består af to monolag af lipidmolekyler, og et vandlag. Den samlede bredde af et enhedslag kalder vi for repeatafstanden, D (se figur 1.3).

De enkelte dobbeltlag er forholdsvis nemt gennemtrængelige for vandmolekyler [Cevc & Marsh, 1987, s. 93-95]. I systemer, som dem vi arbejder med, hvor der er excess vand, er det derfor hovedsageligt de interlamellare vekselvirkninger, der ved en given temperatur bestemmer repeatafstanden. Dette sker således gennem en regulering af vandlagets tykkelse.

Repeatafstanden afhænger dog af flere faktorer som for eksempel temperaturen, lipidernes halelængde og vandets saltindhold. Som overslag på størrelsen



Figur 1.3 På figuren ses en principskitse af enhedslaget i multilamellare vesikler. [Marra & Israelachvili, 1985]

af de enkelte dele af enhedslaget arbejder vi med følgende værdier, som er hentet fra [Lemlich et al., 1995], [Marra & Israelachvili, 1985] og [Cevc, 1993, tabel A6]:

- Repeatafstand: $D = 60 - 70 \text{ \AA}$
- Halelag: $D_L = 30 - 40 \text{ \AA}$
- Vandlag: $D_V = 25 - 30 \text{ \AA}$
- Hovedgruppelag: $D_H = 5 \text{ \AA}$

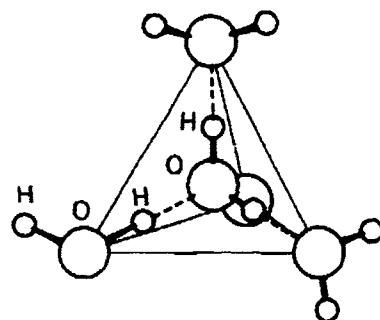
Til sammenligning har vandmolekyler en diameter på omkring $2,8 \text{ \AA}$ [Israelachvili, 1992, s. 110].

1.3 Solventet

Vandet er, gennem sine vekselvirkninger med lipidmolekyernes hovedgrupper, en meget væsentlig del af vores system, og ved tilslætning af salt er det netop karakteren af dette forhold, vi ændrer på. I det følgende redegør vi kort for, hvordan tilslætning af salt påvirker vandets struktur, og hvordan saltet derudover enten direkte eller indirekte kan have indflydelse på samspillet mellem vand og lipider. Dette er interessant, fordi disse forhold indgår i forklaringsmodellen for de forskellige saltes effekt på den anomale swelling [Korreman, 2000b] [Korreman & Posselt, 2000b].

1.3.1 Vand og salt

Vand har nogle specielle solventegenskaber, som skyldes, at hvert vandmolekyle er i stand til at danne hydrogenbindinger med sine nærmeste nabomolekyler. Hydrogenbindingen er en relativ stærk intermolekylær binding med en energi på $10 - 40 \text{ kJ mol}^{-1}$, svarende til knap en tiendededel ionbinding [Israelachvili, 1992, s. 125]. Vandmolekylets geometri betyder, at strukturen med lavest fri energi er en tetraederstruktur (se figur 1.4), hvor hvert vandmolekyle gennemsnitligt indgår i ca. tre hydrogenbindinger [Marcus, 1985, s. 92].



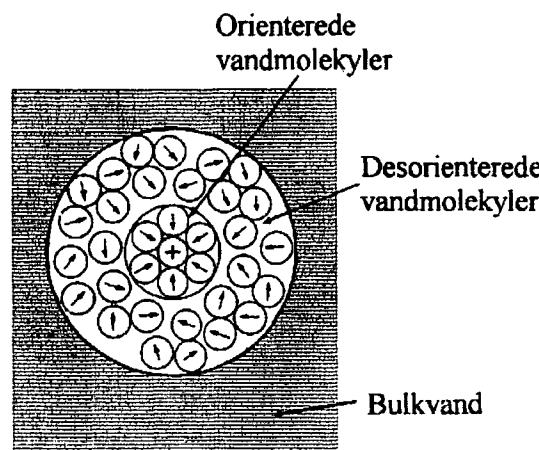
Figur 1.4 Bulkvands tetraederstruktur. Det ses, at hvert vandmolekyle har mulighed for at indgå i fire hydrogenbindinger. Da bindingerne hele tiden dannes og brydes, indgår et vandmolekyle kun i omkring tre hydrogenbindinger i gennemsnit. [Israelachvili, 1992, s. 124]

At salt opløses i vand skyldes primært den entropistigning (blandingsentropien), der følger af, at ionerne forlader deres placering i en krystalstruktur og bliver frie til at bevæge sig i vandfasen [Israelachvili, 1992, s. 38-39]. Desuden bliver tiltrækningen mellem to modsatladede ioner svagere, når disse befinner sig i et medium, og denne effekt er særlig stor i vand på grund af vands store dielektricitetskonstant [Israelachvili, 1992, s. 42-44].

Når et salt opløses i vand, orienterer ionerne vandmolekylerne på grund af deres dipolære natur og river dermed vandmolekylerne ud af deres tetraederstruktur [Bockris & Reddy, 1970, s. 76]. Disse orienterede vandmolekyler er bundet forholdsvis hårdt til ionerne, hvilket betyder, at deres udvekslingstid i almindelighed bliver nedsat med en faktor 100 eller mere i forhold til vandmolekylerne i bulkfasen [Israelachvili, 1992, s. 56]. Antallet af vandmolekyler, der er bundet til ionen, kaldes hydreringstallet, og det område, de udfylder, kaldes hydreringszonen.

Langt fra den opløste ion er vandet stadig i sin fordelagtige tetraederstruktur, og det betyder, at der kommer et område mellem de bundne vandmolekyler og bulkvandet, hvor vandmolekylerne ikke kan finde ud af om de skal orientere sig i forhold til ionen, eller om de skal falde ind i bulkstrukturen [Bockris

& Reddy, 1970, s. 79][Franks, 1973, s. 214]. Princippet i denne hydrering af opløste ioner er skitseret i figur 1.5.



Figur 1.5 I figuren er vist, hvordan hydreringen af en kation kan tænkes at se ud, hvis vandmolekylerne betragtes som simple dipoler. [Bockris & Reddy, 1970, s. 79]

Nogle ioner har en større hydreringszone end andre ioner, og afhængigt af profilen af denne hydreringszone bliver det mellemliggende område med desorienterede vandmolekyler også af forskellig storrelse. Sammenholdes ioners evne til at strukturere vandmolekyler omkring sig med deres evne til at perturbere vandmolekyldens struktur i det mellemliggende område kan ioner opdeles i to grupper. De ioner, som har en hydreringszone, der dominerer i forhold til det perturberede område kaldes vandstrukturerende, mens de ioner, hvor det modsatte er tilfældet, kaldes vandstrukturnedbrydende. [Bockris & Reddy, 1970, s. 76-80][Franks, 1973, s. 214]

Om en ion er vandstrukturerende eller vandstrukturnedbrydende afhænger af storrelsen og geometrien af ionen, og om det er en anion eller en kation. Som hovedregel er polyvalente og små monovalente kationer vandstrukturerende, mens anioner og store monovalente kationer er vandstrukturnedbrydende. [Marcus, 1985, s. 125-127][Israelachvili, 1992, s. 56][Koryta, 1991, s. 25].

I vores arbejde har vi anvendt de tre salte KBr, NH₄Cl og NaCl, og i tabel 1.2 har vi angivet relevante data for de involverede ioner. Her ses udfra ændringerne i vandets entropi, at de to anioner Br⁻ og Cl⁻ samt den store kation K⁺ er vandstrukturnedbrydende, mens den mindre kation Na⁺ er vandstrukturerende. NH₄⁺, som i størrelse ligger mellem Na⁺ og K⁺, ses at have en næsten neutral effekt på vandets struktur.

ion	ion radius [Å]	hydreringstal	levetiden af H-bindingerne [sek.]	$\Delta S_{vandstruktur}$ [JK ⁻¹ mol ⁻¹]
Na ⁺	0,95 ^(a)	4-5 ^(a)	10 ⁻⁹ ^(a)	-16 ^(b)
NH ₄ ⁺	1,22 ^(c)	-	-	5 ^(b)
K ⁺	1,33 ^(a)	3-4 ^(a)	10 ⁻⁹ ^(a)	20 ^(b)
Cl ⁻	1,81 ^(a)	1 ^(a)	-	12 ^(b)
Br ⁻	1,95 ^(a)	1 ^(a)	-	29 ^(b)

Tabel 1.2 I tabellen er der, for de ioner vi arbejder med, opgivet ionradier, hydreringstal, levetider for hydrogenbindinger mellem vandmolekyler i hydreringszonen og entropiændringer i forbindelse med omstrukturering af vandmolekylerne.^(a)[Israelachvili, 1992, tabel 4.2]^(b)[Marcus, 1985, tabel 5.13]^(c)[Weast, 1980]

1.3.2 Lipider i saltopløsning

I sammenhæng med de undersøgelser vi har foretaget, er det interessante ikke, hvordan ioner ændrer på vandstrukturen, men nærmere hvordan denne omstrukturering sker i samspil med lipidhovedgruppernes vekselvirkning med ionerne og vandmolekylerne. Her kommer begreberne *salting in* og *salting out* i spil.

I en første forklaring af disse begreber kan det siges, at de vandstrukturerende ioner vil holde på vandmolekylerne, og at der derfor ikke er så mange vandmolekyler tilbage til lipiderne – dette burde resultere i en *salting out*-effekt. Modsat kan det siges, at de vandstrukturnedbrydende ioner vil gøre vandmolekylerne mere tilgængelige for lipiderne og derved resultere i en *salting in*-effekt. [Bockris & Reddy, 1970, s. 158-159][Franks, 1975, s. 87]

Denne simple forklaring er dog ikke fyldstgørende til en forståelse af *salting in* og *salting out*, idet der også skal tages hensyn til blandt andet disersionsvekselvirkningerne mellem ionerne og hovedgrupperne (jvf. afsnit 2.1). Det, der er afgørende for om en given ions effekt på lipidhovedgrupperne er *salting in* eller *salting out*, er altså et kompliceret samspil mellem geometrien og størrelsen af hovedgrupperne og ionerne, og så polarisabiliteten af hovedgrupperne og ionerne. [Bockris & Reddy, 1970, s. 165-166]

Eksperimenter har vist, at NH₄⁺ på trods af sin let vandstrukturnedbrydende natur har en *salting out*-effekt på benzoesyre i vand [Bockris & Reddy, 1970, s. 167]. I [Chapman et al., 1977] rapporteres det, at en 1 M NH₄Cl-opløsning hæver main faseovergangstemperaturen for DMPC, hvilket ifølge [Koynova et al., 1997] tolkes som en favorisering af ripplefasen (se afsnit 3.1 angående lipiddobbeltslagets forskellige faser). Da arealet per lipid er mindre i ripplefasen end i den flydende krystallinske fase, er dette udtryk for en *salting out*-effekt. Den samme effekt ses for NaCl, men i meget mindre grad. [Koynova et al., 1997]

På baggrund af oplysningerne fra [Chapman et al., 1977] og [Koynova et al., 1997] og værdierne i tabel 1.2 har vi arbejdet udfra den forestilling, at KBr giver en *salting in*-effekt, at NH₄Cl giver en *salting out*-effekt, og at NaCl er neutral eller giver en let *salting out*-effekt. Derfor vil vi fra nu af omtale KBr som et *kaotropt* salt, NH₄Cl som et *kosmotropt* salt og NaCl som et neutralt salt.

2 Interlamellare vekselvirkninger

Balancen mellem de interlamellare vekselvirkninger bestemmer tykkelsen af vandlaget imellem de enkelte dobbeltlag og er dermed afgørende for repeatafstanden. Det er essentielt for vores problemstilling at have et overblik over naturen af disse vekselvirkninger, da det kan være medvirkende til en forståelse af den anomale swelling.

Specielt er det centralt i forbindelse med DTU-modellen, idet den opererer med en hypotese om, at den anomale swelling er et fænomen, der opstår på grund af, at tykkelsen af vandlaget øges (jvf. afsnit 3.4).

Den anomale swelling finder sted i den flydende krystallinske fase, og vi beskæftiger os derfor med vekselvirkningerne i denne fase (jvf. kapitel 3).

De vekselvirkninger, der kan komme på tale i forbindelse med en beskrivelse af de multilamellare vesiklers interlamellare afstande, er van der Waals, elektrostatiske, steriske og hydreringskræfter. Vi koncentrerer os om de aspekter, der er vigtigst for forståelsen af vores system og diskussionen af vores resultater. Det betyder, at der lægges vægt på den kvalitative forståelse af de forskellige vekselvirkninger, deres afstandsafhængighed, samt betydningen af solventets sammensætning.

I forbindelse med opstilling af udtryk for de forskellige vekselvirkninger er det almindelig praksis at antage, at vekselvirkningen sker imellem plane dobbeltlag. Denne antagelse har størst betydning for langtrækkende kræfter og får endvidere større betydning, jo nærmere man er vesiklens midte, idet krumningen af dobbeltlagene er størst her. I litteraturen har vi ikke fundet nogen, der behandler betydningen af at negliger dobbeltlagenes krumning, og vi mener ikke, at det ændrer på det kvalitative billede af vekselvirkningerne. Af samme grund er vi ikke gået nærmere ind på betydningen af denne antagelse.

Vi ønsker at understrege, at der er forskel på de forskellige vekselvirkningers teoretiske fundament. For eksempel er van der Waals kraften velbeskrevet og veldokumenteret, mens mekanismerne bag hydreringskraften stadig diskutes res (jvf. afsnit 2.4).

2.1 van der Waals kræfter

van der Waals kræfter giver anledning til den vigtigste tiltrækkende kraft mellem dobbeltlagene.

Grundlæggende består van der Waals kraften af tre forskellige kraftbidrag, der alle aftager med l^{-7} , når de virker mellem frie partikler. Dipol-dipol vekselvirkningen, dipol-induceret dipol vekselvirkningen og dispersionsvekselvirkningen. De grundlæggende kvalitative forklaringer af disse tre effekter er primært udarbejdet på baggrund af [Israelachvili, 1992] og [Levine, 1995].

Dipol-dipol vekselvirkningen er bestemt af de permanente dipoler i systemet og de elektrostatiske kræfter mellem disse. Kraften mellem to statiske dipoler aftager med l^{-4} . I et system med termiske fluktuationer er dipolernes orientering imidlertid Boltzmannfordelt. Dipolerne påvirker hinandens orientering, således at det er mest energetisk favorabelt for dem at vende i de retninger, der giver anledning til tiltrækning. Alt i alt giver dipol-dipol vekselvirkningen derfor anledning til en gennemsnitlig tiltrækkende kraft, der aftager med temperaturen. Boltzmannfordelingen af dipolernes orientering betyder, at kraften ikke længere aftager med l^{-4} , men med l^{-7} .

Dernæst er der vekselvirkninger mellem en permanent dipol og en induceret dipol. Et upolært molekyle, der befinner sig i et elektrostatisk felt, polariseres og bliver altså en *induceret dipol*. Dipolen kan for eksempel induceres affeltet fra en permanent dipol, og vil i så tilfælde være orienteret således, at der opstår en tiltrækkende kraft de to dipoler imellem.

Endelige er der dispersionsvekselvirkningen, som for mange typer af molekyler er det vigtigste bidrag til den samlede van der Waals kraft. Samtidig er den nok også den intuitivt mest vanskelige at forstå, fordi den i modsætning til de to førstnævnte effekter ikke er en ren elektrostatisk effekt. En fuld teoretisk forståelse af denne vekselvirkning kræver en kvantefeltteoretisk beregning [Israelachvili, 1992, s. 180].

Kvalitativt kan dispersionsvekselvirkningen forstås som hidrørende fra det elektriske felt, der er genereret af de instantane dipoler i systemet. På grund af fluktuationer i de indre ladningsfordelinger findes disse instantane dipoler til enhver tid i alle atomer og molekyler. De instantane dipoler polariserer også de andre molekyler i systemet og giver anledning til en tiltrækkende kraft analog til kraften mellem en permanent dipol og en induceret dipol.

I beskrivelsen af vesiklerne er vi interesserede i van der Waals kræfterne mellem strukturerede grupper af molekyler, nemlig mellem de enkelte dobbeltlag. van der Waals kræfterne er ikke additive, fordi to molekylers vekselvirkning vil styre deres polarisering og polariseringsretning, og dermed påvirke deres respektive vekselvirkning med et tredje molekyle. Derfor kan man ikke beregne to dobbeltlags van der Waals vekselvirkninger på baggrund af de enkelte partikelvekselvirkninger. En additiv tilgang giver alligevel den rigtige

afstandsafhængighed, og van der Waals kraften mellem to uendelig tykke flader er givet ved:

$$P(l) \propto -\frac{A}{l^3}, \quad (2.1.1)$$

hvor P er kraften per areal, l er afstanden mellem de to overflader og A er Hamakerkonstanten [Israelachvili, 1992, s. 177 og 180].

Det ses, at kraften ikke aftager med l^{-7} , som van der Waals kraften mellem to partikler, men i stedet som l^{-3} . Det betyder, at van der Waals kraften mellem to flader (f.eks. to dobbeltlag) er en meget langtrækende kraft i forhold til kraften mellem to partikler.

Hamakerkonstanten korrigeres for van der Waals kraftens manglende additivitet. Den effektive Hamakerkonstant er således direkte koblet til karakteren af systemet. For vores system afhænger Hamakerkonstanten af lipidernes polarisabilitet, polaritet og temperaturen, samt solventets dielektriske eller ledende egenskaber.

Tager man højde for, at dobbeltlaget har en endelig tykkelse, d , kan van der Waals kraften beskrives ved:

$$P(l) \propto -A \left(\frac{1}{l^3} - \frac{2}{(d+l)^3} + \frac{1}{(2d+l)^3} \right) \quad (2.1.2)$$

[Rand, 1981], hvor ligning 2.1.2 kan approksimeres med ligning 2.1.1 for $l \ll d$.

Ved store afstande bliver tiden for feltets udbredelse mellem lagene sammenlignelige med fluktuationstiden af ladningsforskydningerne, hvilket betyder, at dispersionsvekselvirkningen svækkes. Dette kan intuitivt forstås på baggrund af følgende: Når feltet fra en induceret dipol skal påvirke den instantane dipol, den blev induceret af, har den instantane dipol nået at ændre orientering.

Svækkelsen af dispersionsvekselvirkningen betyder, at ligning 2.1.1 og ligning 2.1.2 ikke er strengt gyldige. Dette får dog først betydning efter en given afstand, hvis størrelse er afhængig af lyshastigheden i mediet mellem lagene. Imellem dobbeltlagene er denne afstand $\sim 30 \text{ \AA}$ [Israelachvili, 1992, s. 396].

Som det fremgår i kapitel 1 er de interlamellare afstande i vores vesikler netop i størrelsесordenen 20-30 Å. Vi vurderer, at det betyder, at ligning 2.1.2 som udgangspunkt vil være en god approksimation, men at man samtidig skal være opmærksom på, at forsinkelseseffekter kan spille ind.

Betydningen af tilsætning af salt

Når der tilsættes salt til vandet mellem vesiklerne vil ionerne virke som ladningsbærere i en leder. Det betyder, at de fordeler sig på en måde, der svækker de elektrostatiske felter og dermed dipol-dipol og dipol-induceret dipol

bidragene af van der Waals kræfterne. Denne effekt kaldes Debye-skærmning og medfører, at størrelsen af dipol-dipol og dipol-induceret dipol vekselvirkningerne aftager eksponentielt med afstanden. Svækkelsen af van der Waals kraften vil både afhænge af ionernes valens og koncentrationen af salt.

Dispersionsvekselvirkningen påvirkes ikke af tilsætningen af salt, idet de involverede felter ændrer sig hurtigere, end ionerne kan nå at reagere. [Israelachvili, 1992, s. 199]

2.2 Elektrostatiske kræfter

Hovedgrupperne er som beskrevet i afsnit 1.1 zwitterioniske og har dermed et permanent dipolmoment. Dette dipolmoment bidrager naturligvis til van der Waals kræfterne mellem lagene.

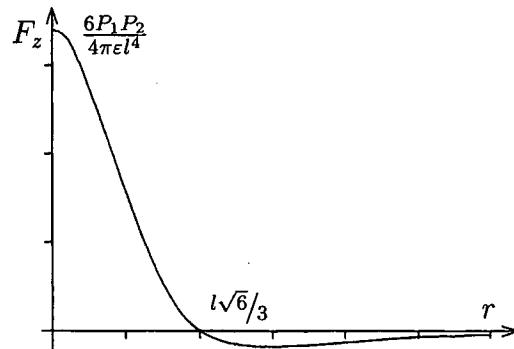
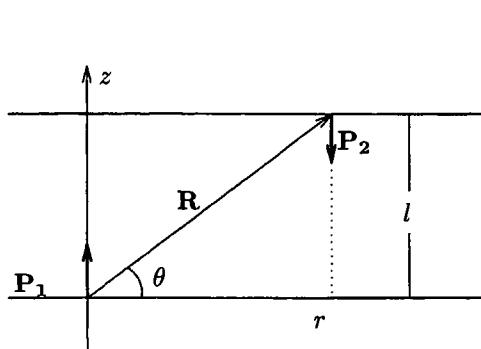
På grund af lipidmolekyldannelses kollektive strukturering i dobbeltlaget mener vi, at det er sandsynligt, at hovedgruppernes orientering er delvist bestemt, eller i hver fald begrænset, af hele lipidmolekylets placering i dobbeltlaget. For eksempel er der visse orienteringer af hovedgruppen i forhold til fedtsyrehalerne, der er mere sandsynlige end andre [Hong et al., 1996].

Det betyder, at dipolernes orientering er påvirket af andre faktorer end deres indbyrdes vekselvirkning. De dipolære hovedgruppurers indbyrdes vekselvirkning er derfor ikke fuldt ud beskrevet ved van der Waals kraften, idet yderligere elektrostatiske kræfter kan spille ind.

Det afgørende i beskrivelsen af den elektrostatiske krafts betydning er de gennemsnitlige påvirkninger af alle hovedgrupperne midlet over tid. Vi beskæftiger os med membranerne i den flydende krystallinske fase, hvor lipiderne er frie til at bevæge sig lateralt i det enkelt monolag, således at deres position i tangentialplanen er tilfældig (jvf. afsnit 3.1). Desuden kan hovedgrupperne rotere således, at dipolernes orientering i tangentialplanen er tilfældig. Det betyder, at den gennemsnitlige tangentialkomposant af hovedgruppernes dipolmoment er nul, og denne giver altså ikke umiddelbart anledning til vekselvirkninger mellem dobbeltlagene betragtet som helhed (jvf. appendiks A). Det samme er imidlertid ikke tilfældet med normalkomposanten af dipolmomentet, idet denne ikke påvirkes af lipidernes bevægelse i planen.

Vi har ikke fundet ret meget litteratur om elektrostatiske kræfter mellem de zwitterioniske overflader. [Israelachvili, 1992, side 255-256] skriver, at en simpel beregning giver, at tilfældigt placerede normale dipoler ikke vil bidrage med nogen gennemsnitlig kraft lagene imellem, mens en beregning, der tager højde for en Boltzmann-middelvekselvirkning, resulterer i en svagt tiltrækkende kraft. Vi mener imidlertid, at det umiddelbart intuitive ville være, at de modstående normalrettede dipoler vil frastøde hinanden, og har

derfor valgt at regne den simplest tænkelige situation igennem (se appendiks A).



Figur 2.1 Skitse over to dipoler hvis indbyrdes elektrostatiske kraftpåvirkning vi betragter.

Figur 2.2 F_z angivet som funktion af r .

Vi betragter som udgangspunkt to ideelle dipoler, hvis placeringer og orienteringer er som skitseret i figur 2.1. Vi beregner z -komposanten af den kraft \mathbf{P}_1 påvirker \mathbf{P}_2 med og får heraf:

$$F_z = \frac{3lP_1P_2}{4\pi\epsilon} \left(\frac{-3r^2 + 2l^2}{(r^2 + l^2)^{(7/2)}} \right) \quad (2.2.1)$$

hvor l er afstanden mellem dobbeltlagene, og ϵ er dielektricitetskonstanten af mediet mellem dipolerne.

Denne krafts r -afhængighed, som er skitseret i figur 2.2, bliver positiv og dermed frastødende for $r < (l\sqrt{6})/3$, mens den for større værdier af r bliver negativ og altså tiltrækkende. Positionen af skiftet mellem tiltrækkende og frastødende kræfter er uafhængig af P_1 , P_2 og ϵ , og $r = (l\sqrt{6})/3$ svarer uafhængigt af l til en vinkel $\theta = 0,28\pi$. Desuden går kraften ikke overraskende mod nul for r gående mod uendelig.

For at opnå \mathbf{P}_1 's påvirkning af hele den flade som \mathbf{P}_2 tænkes at befinde sig i, integreres F_z op over planen ved fastholdt l , hvilket giver et samlet bidrag på:

$$\int_0^\infty \int_0^{2\pi} F_z r d\varphi dr = \int_0^\infty F_z 2\pi r dr = 0 \quad (2.2.2)$$

hvor φ er azimutalvinklen, og det første lighedstegn følger af, at F_z ikke afhænger af denne.

For at få den samlede kraft fra det plan \mathbf{P}_1 befinder sig i, på det plan \mathbf{P}_2 befinder sig i, skal der principielt også integreres op over \mathbf{P}_1 -planen. Dette

ændrer selvfølgelig ikke på, at den samlede kraft bliver nul i overensstemmelse med [Israelachvili, 1992, side 255-256].

Det rimelige i at foretage integrationen i ligning 2.2.2 bygger på en antagelse om, at dipolernes placering kan tilnærmes med en homogen dipolfordeling. Begrundelsen for denne antagelse er, at vi er interesserede i et gennemsnit over tid og sted, og hvis lipiderne har helt fri bevægelse i planen er alle placeringer lige sandsynlige.

Hvis der er en svagt større sandsynlighed for, at lipiderne befinner sig i de situationer, hvor frastødningen mellem dipolerne er mindst, og energien er lavest, vil det give en svagt tiltrækkende kraft. Dette er i overensstemmelse med udsagnet i [Israelachvili, 1992, s. 256].

Vi finder det dog sandsynligt, at semimakroskopiske forskydninger af dobbeltlagene vil gøre orienteringen af hovedgrupperne i et dobbeltlag uafhængig af orienteringen af hovedgrupperne i nabodobbeltslaget.

Samtidig ved vi, at dobbeltlagene befinner sig i den flydende krystallinske fase, som blandt andet er kendtegnet ved, at lipiderne har fri lateral bevægelse. Alt i alt vurderer vi derfor, at antagelsen om en homogen ladningsfordeling er fornuftig, og at den elektrostatiske vekselvirkning mellem lagene derfor vil være af en ubetydelig størrelsesorden.

Betydningen af salt

Tilsætningen af salt til vandet kan introducere et bidrag fra elektrostatiske kræfter i de tilfælde, hvor ionerne binder sig direkte til hovedgrupperne.

Kaliumionen, natriumionen, bromidionen og chloridionen binder formodentlig ikke til hovedgrupperne [Korreman, 2000b]. Vi har ikke fundet litteratur angående ammoniumionens evne til at binde sig til dobbeltlaget.

Ydermere kan ioner skærme for elektrostatiske vekselvirkninger, på samme måde som de skærmer for den statiske del af van der Waals kraften. Men da den elektrostatiske kraft antages at være nul, er denne effekt heller ikke relevant.

2.3 Steriske kræfter

I den flydende krystallinske fase er dobbeltlagenes rumlige struktur afhængig af temperaturen, idet lipidernes bevægelse er temperaturafhængig på samme måde som alle andre molekylers bevægelse. De termiske fluktuationer i dobbeltlaget forekommer på to niveauer. På et semimakroskopisk niveau

har dobbeltlaget karakter af en sammenhængende bølgende flade, hvor amplituden af bølgerne er temperaturafhængig. På et mikroskopisk niveau forekommer der fluktuationer af lipidernes enkeltvise placering i dobbeltlaget både lateralt og ud af planen.

I stakke af dobbeltlag er der steriske hindringer for de termiske fluktuationer på begge niveauer. Uafhængig af typen af fluktuationer resulterer dette i, at de respektive dobbeltlag presses fra hinanden. Denne type vekselvirkninger kaldes entropiske, fordi de hidrører fra, at termiske fluktuationer hindres.

Den resulterende frastødende steriske kraft mellem dobbeltlagene er oplagt afhængig af afstanden mellem dobbeltlagene, uanset niveauet af fluktuationer. Kraftens faktiske afstandsafhængighed viser sig endvidere at være afhængig af fluktuationernes niveau.

Undulationskraften og den peristaltiske kraft er begge kræfter resulterende fra termiske fluktuationer på et semimakroskopisk niveau. Dobbeltlaget kan på det semimakroskopiske niveau betragtes som et kontinuum, og undulationskraften oprinder fra en bøjning af dobbeltlaget, mens den peristaltiske kraft er resultat af lokale ændringer af overfladearealet. Lipidernes laterale bevægelse i dobbeltlagene har umiddelbart ingen indflydelse på dobbeltlagenes vekselvirkning, mens lipider, som bevæger sig ud af dobbeltlaget og ind i det mellemliggende vandlag, forårsager en frastødende kraft mellem dobbeltlagene, som kaldes protrusionkraften¹.

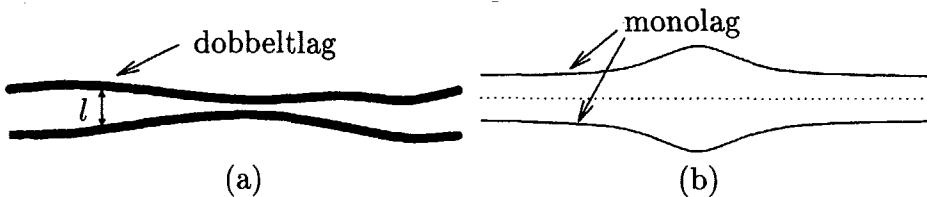
Undulationskraften er central i DTU-modellen, og er i nogen grad relateret til den peristaltiske kraft, via dobbeltlagets elastiske egenskaber. Protrusionkraften medtages dels for at give en større forståelse for systemet, og dels fordi det er foreslået, at den kan give en alternativ teoretisk forklaring på hydreringskraften (se afsnit 2.4) [Israelachvili & Wennerström, 1992]).

2.3.1 Elasticiteten af lipiddobbeltlag

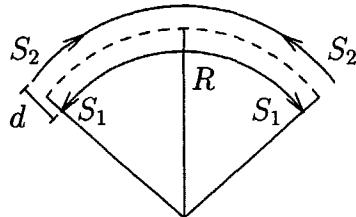
Der er to moduler, som er vigtige i beskrivelsen af dobbeltlagets elastiske egenskaber, bøjningsmodulet K_b og arealkompressibilitetsmodulet K_a . Bøjningsmodulet bruges i beskrivelsen af undulationskraften, mens den peristaltiske kraft bestemmes af arealkompressibilitetsmodulet.

På figur 2.3 ses de to former for semimakroskopiske termiske fluktuationer, der forekommer i lipiddobbeltlagene. Når et dobbeltlag er bøjet, er det øverste lag strukket ud i forhold til ligevægtspositionen, mens det nederste lag er presset sammen. Dobbeltlagets bøjning giver anledning til spændinger i dobbeltlaget, som medfører en modsatrettet kraft, analogt til fjederkraften. På figur 2.4 angiver S_1 og S_2 spændinger i dobbeltlaget. Spændingerne giver

¹Protrusion kan oversættes med fremspring.



Figur 2.3 a) Undulation af dobbeltlagene. b) Peristaltisk bevægelse, hvor der sker en lokal ændring i monolagets overfladeareal.



Figur 2.4 Bøjning af dobbeltlag. [Cevc & Marsh, 1987, s. 365]

anledning til et kraftmoment eller bøjningsmoment omkring midtpunktet af laget, der er givet ved:

$$M = S_1 \frac{d}{2} - S_2 \frac{d}{2} = S d \quad (2.3.1)$$

hvor d er tykkelsen af laget. Med en første ordens antagelse om, at sammenpressning og udvidelse af dobbeltlaget kræver den samme energi (det vil sige, at ligning 2.3.5 gælder) fås, at $S = S_1 = -S_2$.

Bøjningsgraden af et stykke dobbeltlag, der er bøjet i én retning, er givet ved en krumningsradius R , som går fra et tænkt centrum af en cirkel ud til midt i dobbeltlaget. Det ses på figur 2.4, at jo mindre R jo større krumning. I vesiklerne kan der ske bøjning i to retninger, hvilket kræver angivelse af to krumningsradier.

Stivheden eller bøjningsmodulet (i den retning vi betragter) er ved en fast temperatur T defineret ved

$$K_b = \left. \frac{\partial M}{\partial (1/R)} \right|_T \quad (2.3.2)$$

[Cevc & Marsh, 1987, s. 349].

Det ses, at hvis bøjningsmomentet i membranen ændrer sig meget, når man bøjer membranen lidt, vil bøjningsmodulet være stort. Det vil sige, jo sværere membranen er at bøje, jo større er bøjningsmodulet.

En bøjet membran besidder en potentiel energi, som svarer til arbejdet, der er udført for at bøje den. Udtrykket for energien forbundet med bøjning er

direkte analogt til energien oplagret i en fjeder. Ved bøjning i to retninger med krumningsradier R_1 og R_2 er energien per areal således givet ved:

$$E_b = \frac{1}{2} K_b \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)^2, \quad (2.3.3)$$

idet man skal huske, at en kraftig bøjning giver en lille krumningsradius. [Cevc & Marsh, 1987, s. 366]

Arealkompressibilitetsmodulet er en todimensionel analog til bulkmodulet, der for fastholdt temperatur defineres som

$$K_a = A \left. \frac{\partial S}{\partial A} \right|_T, \quad (2.3.4)$$

hvor ∂S er ændringen i spændingen i dobbeltlaget ved en ændring ∂A af overfladearealet A [Cevc & Marsh, 1987, s. 348]. Det udstrakte eller sammenpressede dobbeltlag besidder en potentiel energi, der som funktion af den relative arealændring er givet ved

$$E_a = \frac{1}{2} K_a \frac{(\Delta A)^2}{A} \quad (2.3.5)$$

[Israelachvili, 1992, s. 309].

Bøjningsmodulet af dobbeltlaget og arealkompressibilitetsmodulet af dobbeltlaget er indbyrdes relaterede egenskaber for et dobbeltlag. Intuitivt hænger det sammen med, at en bøjning som nævnt medfører en sammenpresning af det nederste monolag og en udvidelse af det øverste monolag. I denne forståelsesramme har dobbeltlagets tykkelse betydning for relationen mellem modulerne. I [Cevc & Marsh, 1987, s. 348-366] udregnes følgende proportionale sammenhæng mellem modulerne:

$$K_b = K_a \frac{d^2}{2} \quad (2.3.6)$$

Proportionalitetskonstanten afhænger, som det ses, af dobbeltlagets tykkelse. Udregningen er lavet på det simplest mulige grundlag, hvor det antages, at arealudvidelsen i dobbeltlagets to monolag er lige store og modsatrettede.

2.3.2 Undulationskraften og den peristaltiske kraft

Undulationskraften kan udregnes ud fra udtrykket for et dobbeltlags energi, angivet i ligning 2.3.3, ved at betragte energien forbundet med undulationen af et dobbeltlag anbragt mellem to stive vægge. Disse beregninger er udført i [Helfrich, 1978], og undulationskraften kaldes i nogen sammenhænge Helfrich's undulationskraft. Det er ikke trivielt at udføre disse beregninger af undulationskraften, og vi vil ikke gennemgå dem her.

Helfrich fremkommer med følgende udtryk for undulationskraften per areal:

$$P_u(l) \propto \frac{(kT)^2}{K_b l^3}. \quad (2.3.7)$$

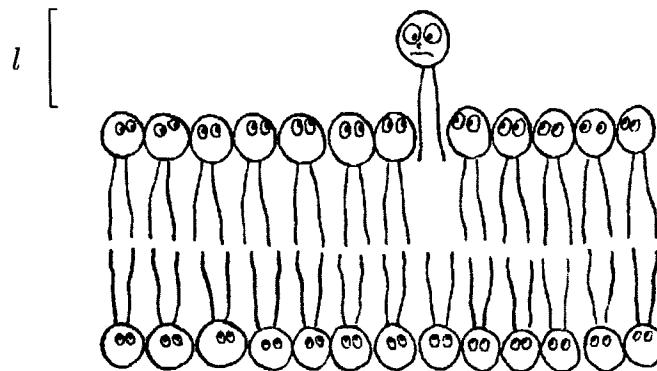
[Israelachvili & Wennerström, 1992] skriver, at den peristaltiske kraft per areal kan udregnes til:

$$P_p(l) \propto \frac{(kT)^2}{K_a l^5}. \quad (2.3.8)$$

Det ses, at den peristaltiske kraft har mindre betydning over store afstande end undulationskraften.

2.3.3 Protrusionkraften

Afsnittet er skrevet på baggrund af [Israelachvili & Wennerström, 1992] og [Israelachvili, 1992]. Der tages udgangspunkt i et enkelt dobbeltlag, se figur 2.5. Energien af et fremsprungen lipid er positiv, idet blottelsen af de



Figur 2.5 Figuren illustrerer et fremspringende lipid [Koryta, 1991, frit efter forsiden].

upolære fedtsyrehaler for vandet medfører en forøgelse af energien. Jo mere der blottes, jo større energi. Da overfladen af de blottede dele af fedtsyrehalerne er proportional med den sprungne afstand, kan energien af det fremspringende lipid antages at være proportional med afstanden [Israelachvili, 1992, s. 305].

Er et lipid i en afstand l fra overfladen af laget, er dets energi givet ved

$$E = \alpha l, \quad (2.3.9)$$

hvor proportionalitetskonstanten α angiver energien per længdeenhed for et fremspring. Udfra Boltzmannfordelingen kan densiteten af fremspring, det

vil sige densiteten af lipider, i en afstand l fra membranoverfladen beregnes, hvilket giver en eksponentiel afhængighed med en temperaturafhængig henfaldslængde $\lambda_{pr} = \frac{kT}{\alpha}$. λ_{pr} ligger typisk i størrelsesordenen 0,8-3 Å [Israelachvili, 1992, s. 306]

Lipidfremspringene hindres sterisk, hvilket igen giver anledning til en frastødende entropisk kraft. I en stak af dobbeltlag med N hovedgruppfremspring per enhedsareal kan der angives approksimationer for kraften gældende for en maksimal afstand mellem dobbeltlagene på $10\lambda_{pr}$. For en afstand i intervallet $l \in [\lambda_{pr}; 10\lambda_{pr}]$ kan kraften ifølge [Israelachvili, 1992, s. 306] approksimeres med:

$$P(l) \propto \frac{NkT}{\lambda_{pr}} e^{-l/\lambda_{pr}} : \quad (2.3.10)$$

Protrusionkraften er langt mindre dominerende over lange afstande end undulationskraften og den peristaltiske kraft, omend den over korte afstande bliver mere dominerende.

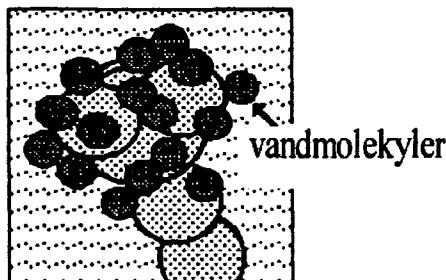
2.4 Hydreringskraften

Hydreringskraften er ofte nævnt i litteraturen som en meget betydningsfuld aktør i vekselvirkningsbalancen mellem to lipiddobbeltslag. Kraften oprinder fra en hydrering af membranoverfladerne, og er i lipidsystemet en frastødende kraft.

I afsnit 1.3 beskrev vi, hvordan ioner i vandig opløsning ændrer vandmolekyernes indbyrdes vekselvirkning på en sådan måde, at deres struktur bliver forskellig fra strukturen af bulkvand. På en tilsvarende måde perturberes strukturen af det interlamellare vand mellem de to membranoverflader.

Som det er illustreret i figur 2.6 vil vandmolekyler binde sig stærkt til de zwitterioniske hovedgrupper. Ifølge [Cevc & Marsh, 1987, s. 59] vil disse bindinger primært ske til phosphat-gruppen, men også i en betydelig grad til $-N^+(CH_3)_3$ gruppen.

I modsætning til disse stærke bindinger tyder det på, at det ikke-bundne vand i området omkring hovedgrupperne bliver mere ustruktureret og med svagere hydrogenbindinger end bulkvand [Cevc & Marsh, 1987, s. 61]. Selvom hydreringen formentlig totalt set er en energetisk favorabel proces, er der meget, der tyder på, at den afgørende faktor for hydreringen er en stor entropistigning i systemet [Binder et al., 1999][Markova et al., 2000]. Denne entropistigning kan hovedsageligt tilskrives, at hovedgrupperne får en øget bevægelsesfrihed i nærvær af vand, både hvad angår bevægelser i planen og rotation af hovedgruppen [Cevc & Marsh, 1987, s. 91-92].



Figur 2.6 Figuren illustrerer, hvordan vandmolekyler binder sig til en hovedgruppe. [Israelachvili, 1992, s. 305]

Disse forskellige effekter gør det meget ufavorabelt at dehydrere membranoverfladen, og et forsøg på at trykke to dobbeltlag sammen vil derfor resultere i en frastødende kraft.

Forskellige eksperimenter har vist [Marcelja & Radic, 1976], at denne kraft kan beskrives med en eksponentielt aftagende funktion

$$P_h(l) = P_0 e^{-l/\lambda_h}, \quad (2.4.1)$$

hvor P_0 er en størrelse, som afhænger af hydreringen af overfladerne, l er afstanden mellem dobbeltlagene, og λ_h er den temperaturafhængige henfaldslængde. [Lipowsky & Grotehans, 1993][Simon et al., 1991][Israelachvili, 1992, s. 276]

Der har i de senere år været en diskussion om hydreringskraftens sande natur. Det er blevet foreslået, at det observerede tryk ikke skyldes den egentlige hydrering, men i stedet at protrusionkraften, beskrevet i afsnit 2.3.3, øges når der tilsættes vand. [Israelachvili & Wannerström, 1992][Markova et al., 2000]

Denne hypotese er nærliggende, da det teoretiske udtryk for protrusionkraften også aftager eksponentielt, men sandheden kan måske ligge et sted imellem. Ifølge [Lipowsky & Grotehans, 1993] kan det vises, at begge fænomener har betydning, og at den klassiske hydrering er dominerende ved lave temperaturer, mens protrusionkraften dominerer ved høje temperaturer.

Vi vil her ikke beskæftige os yderligere med naturen af hydreringen, men stille os tilfredse med en viden om, at tilførslen af vand til membranoverfladen resulterer i en frastødende kraft.

Betydningen af salt

I afsnit 1.3.2 har vi set på saltets indvirkning på hydreringen af overfladen, og det hænger naturligvis sammen med saltenes betydning for hydreringskraften. Saltenes betydning for hydreringskraften udgør en helt afgørende

rolle i den forklaring af saltenes effekt på den anomale swelling, som præsenteres i [Korrelman, 2000b] og [Korrelman & Posselt, 2000b]. Vi vil derfor ikke behandle saltenes betydning for hydreringskraften i dette kapitel. I stedet præsenteres forklaringen i kapitel 4 og diskuteres i forhold til vores resultater i kapitel 8.

2.5 Kritisk unbinding

De forskellige vekselvirkninger, der er blevet præsenteret i de foregående afsnit, udgør tilsammen vekselvirkningen mellem to dobbeltlag og afgør dermed afstanden mellem dem.

Idet de forskellige vekselvirkninger er temperaturafhængige, er det indlysende, at afstanden mellem dobbeltlagene også er det. Ifølge [Lipowsky & Leibler, 1986] vil en øget temperatur føre til en *kritisk unbinding* af dobbeltlagene. Det betyder, at der findes en temperatur, T_c , som ikke kan nås uden, at lagene går fra hinanden.

Den kritiske unbinding afhænger af de interlamellare kræfter, som per areal er givet ved:

- van der Waals kraften, se ligning 2.1.2:

$$P(l) \propto -A \left(\frac{1}{l^3} - \frac{2}{(d+l)^3} + \frac{1}{(2d+l)^3} \right), \quad (2.5.1)$$

- Hydreringskraften, se ligning 2.4.1:

$$P_h(l) = P_0 e^{-l/\lambda_h} \quad (2.5.2)$$

- Undulationskraften, se ligning 2.3.7:

$$P_u(l) \propto \frac{(kT)^2}{K_b l^3} \quad (2.5.3)$$

- Den peristaltiske kraft, se ligning 2.3.8:

$$P_p(l) \propto \frac{(kT)^2}{K_a l^5} \quad (2.5.4)$$

- Protrusionkraften, se ligning 2.3.10:

$$P_{pr}(l) \propto \frac{NkT}{\lambda_{pr}} e^{-l/\lambda_{pr}} \quad \text{for } \lambda_{pr} < l < 10 \lambda_{pr} \quad (2.5.5)$$

Den eneste tiltrækkende kraft blandt de interlamellare kræfter, som vi regner med har betydning, er van der Waals kraften. Den og undulationskraften virker begge over relativt store afstande, i forhold til hydreringskraften, protrusionkraften og den peristaltiske kraft. Det ses som nævnt af udtrykkene, at den samlede vekselvirkning resulterer i, at afstanden l mellem dobbeltlagene er temperaturafhængig, idet de steriske kræfter er direkte temperaturafhængige, mens van der Waals kraften, hydreringskraften og protrusionkraften er indirekte temperaturafhængige gennem A , λ_h og λ_{pr} .

For at bestemme den samlede vekselvirkning mellem dobbeltlagene betragter [Lipowsky & Leibler, 1986] en superposition af de teoretisk bestemte van der Waals kræfter og undulationskræfter, samt den eksperimentelt bestemte hydreringskraft. Denne superposition fører ikke til en separation af dobbeltlag, hvilket normalt tolkes som et tegn på, at der sker en diskontinuert ændring svarende til en førsteordens faseovergang. Man har imidlertid observeret en kontinuert kritisk unbinding af dobbeltlagene ved stigende temperatur. Denne kritiske unbinding er blevet modelleret ved at benytte renormaliseringssgruppeteori, som er en statistisk mekanisk teori.

En total adskillelse af lagene må betyde, at de frastødende kræfter har overvundet den tiltrækkende van der Waals kraft. En modellering vil derfor skulle afhænge af van der Waals kraftens størrelse, angivet ved Hamakerkonstanten, og en kritisk værdi, der angiver, hvornår Hamakerkonstanten bliver for lille til, at van der Waals kraften kan balancere de frastødende kræfter.

Den præcise formulering af, hvordan middelafstanden l mellem dobbeltlagene afhænger af de interlamellare kræfter, bliver ifølge [Lipowsky & Leibler, 1986]

$$l \sim (A - A_c)^{-\gamma}, \quad (2.5.6)$$

hvor $\gamma \approx 1$ er en universel kritisk eksponent, A er den temperaturafhængige Hamakerkonstant, og A_c er den kritiske værdi for Hamakerkonstanten. Da A_c er et udtryk for, at van der Waals kraften bliver opvejet af de frastødende kræfter, vil den uddover at være en funktion af temperaturen også afhænge af blandt andet d , P_h , λ_h og K_b .

Det kritiske punkt, hvor l divergerer er således bestemt af både hydreringskraften, van der Waals kraften, undulationskraften og temperaturen [Lipowsky & Leibler, 1986].

Den kritiske unbinding indgår i DTU-modellen, hvilket vi vender tilbage til i afsnit 3.4.

3 Faseopførslen og anomal swelling

I dette kapitel gør vi rede for faseopførslen af lipiddobbeltslagene. I den forbindelse forklares det, hvad begrebet anomal swelling dækker over og det præsenteres, hvordan DTU-modellen forklarer den anomale swelling. Essencen af forklaringen er, at dobbeltlagenes faseopførsel fører til en forskydning af balancen mellem de interlamellare kræfter, hvilket, som vi beskrev i foregående kapitel, resulterer i en kritisk unbinding.

3.1 De forskellige faser

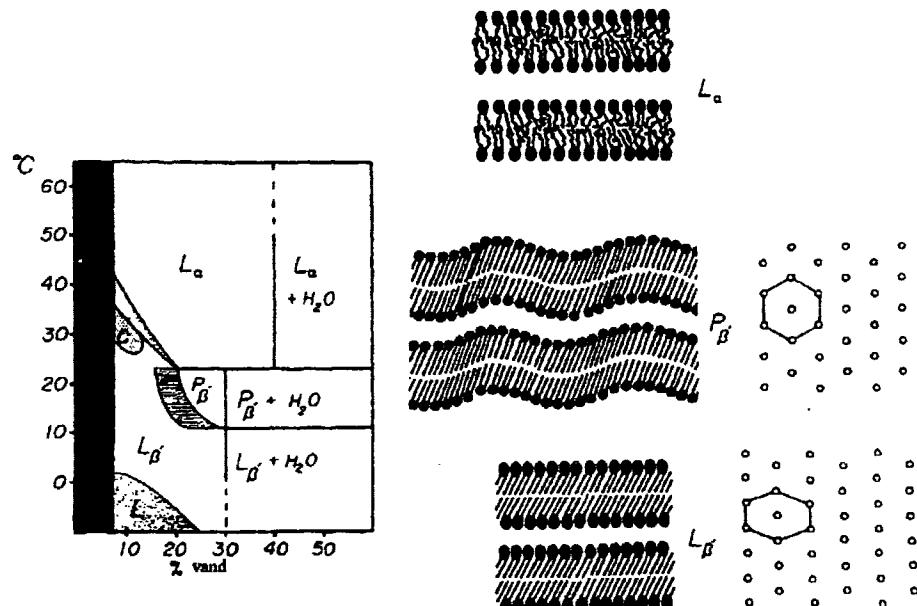
Når et lipidmolekyle sidder i et dobbeltlag, kan det kun i begrænset omfang ændre sin rumlige placering, hvis den kollektive dobbeltslagsstruktur skal bevares. Kollektivt kan lipiderne dog ændre struktur i en mindre, men meget væsentlig grad. Denne kollektive molekulære aktivitet fører til en række forskellige faser i lipiddobbeltslaget afhængigt af termodynamiske variable som tryk, temperatur og koncentration (forholdet mellem vand og lipid).

I figur 3.1 vises det, hvordan DMPC's tilstand afhænger af temperatur og koncentration. De andre phosphatidylcholinlipider opfører sig tilsvarende, men har andre faseovergangstemperaturer. Ved en høj koncentration af vand, som vi har det i vores system, er tilstanden kun afhængig af temperaturen. Her går dobbeltlaget fra gelfasen, $L_{\beta'}$, over ripplefasen, $P_{\beta'}$, til den flydende krystallinske fase, L_{α} , med stigende temperatur.

I både gelfasen og ripplefasen har fedtsyrehalerne og hovedgrupperne få frihedsgrader, og de to faser ligner hinanden på mange måder. I begge faser sidder fedtsyrehalerne fastlåst i en krystallinsk struktur både på tværs i dobbeltlaget og i dobbeltlagets plan. Samtidig er halerne strakte og vinkledе i forhold til planen (jvf. figur 3.1). I gelfasen sidder fedtsyrehalerne i irregulære sekskanter i planen, mens de i ripplefasen sidder i regulære sekskanter. Endvidere er der den forskel mellem gelfasen og ripplefasen, at dobbeltlagenes overflader er plane i gelfasen, mens de i ripplefasen har en periodisk bølget struktur. [Janiak et al., 1979]

Ved høje temperaturer har halerne mange frihedsgrader – halerne synes at været smeltet. De kan nu stort set bevæge sig frit i lipidlaget (dog er de stadig bundet til hovedgrupperne), og samtidig kan hovedgrupperne bevæge

sig frit i planen. I denne højtemperaturfase er der i en stak af dobbeltlag en krystallinsk struktur på tværs af stakken med en veldefineret periodisk afstand, mens der i dobbeltlagenes plan er tale om en slags flydende tilstand af både halerne og hovedgrupperne. Derfor kaldes denne fase for den flydende krystallinske fase.



Figur 3.1 Til venstre i figuren er skitseret et fasediagram for DMPC. Til højre ses en illustration af, hvordan halerne kunne tænkes at været struktureret i henholdsvis gelfasen L_{β}' , ripplefasen P_{β}' og i den flydende krystallinske fase L_{α} . [Janiak et al., 1979]

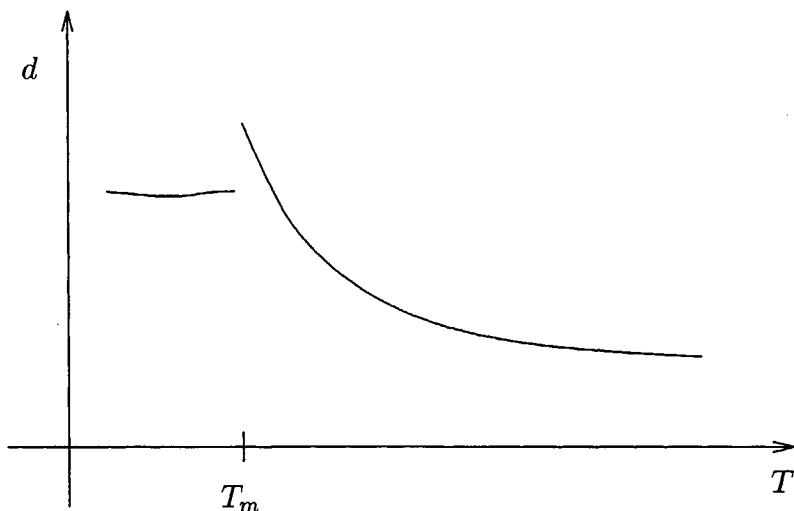
I forbindelse med vores målinger er vi kun interesserede i en forståelse af den flydende krystallinske fase, samt en forståelse af faseovergangen mellem denne fase og ripplefasen. Denne faseovergang bliver på godt dansk betegnet main faseovergangen, og er genstand for mange studier af phospholipidsystemer. I området omkring main faseovergangen kan man operere med excess vand og derved gøre faseovergangstemperaturen koncentrationsuafhængig (se figur 3.1).

3.2 Main faseovergangen og den anomale swelling

Som beskrevet ovenfor betyder overgangen fra ripplefasen til den flydende krystallinske fase, at antallet af frihedsgrader i halerne øges drastisk, samt at det enkelte lipidmolekyle nu nemmere kan bevæge sig rundt i planen. Et sådan skift i systemets tilstand kan klassificeres og karakteriseres med forskellige parametre. For en almindelig 1. ordens faseovergang vil der for eksempel

kunne registreres en latent varme og en divergerende varmekapacitet, hvilket er blevet observeret for main faseovergangen ved forskellige studier [Koynova et al., 1997][Korreman, 2000b].

I en multilamellar vesikel er repeatafstanden en anden parameter, der giver en god beskrivelse af den molekulære opførsel i dobbeltlaget. I figur 3.2 ses en skitse, som viser repeatafstandens typiske temperaturafhængighed omkring main faseovergangen.



Figur 3.2 I figuren ses repeatafstandens temperaturafhængighed omkring main faseovergangen. Den divergerende repeatafstand, der observeres, når man kommer fra højtemperatursiden betegnes som den anomale swelling. (Se for eksempel [Lemmich et al., 1995][Korreman, 2000b] [Zhang et al., 1994] og kapitel 7 i denne rapport.)

Er main faseovergangen en 1. ordens faseovergang ville man udfra et teoretisk fundament forvente, at repeatafstanden i hver af de to faser ville ligge på hver deres nogenlunde konstante niveau, og at de to niveauer ville være forbundet ved et diskontinuert spring ved faseovergangstemperaturen. Det er imidlertid ikke, hvad man ser i figur 3.2. Her ses i stedet, at når man nærmer sig faseovergangstemperaturen fra højtemperatursiden, divergerer repeatafstanden for ved faseovergangstemperaturen at foretage et diskontinuert skift til et nogenlunde konstant niveau i ripplefasen. Den divergerende opførsel, der observeres på højtemperatursiden af faseovergangen, betegnes den *anomale swelling*.

Der er indenfor kredsen af folk, der beskæftiger sig med main faseovergangen bred enighed om, at main faseovergangen er en 1. ordens faseovergang. Samtidig lægges der imidlertid vægt på, at faseovergangen formodentlig foregår tæt på et kritisk punkt, analogt til det kritiske punkt, der er på væske-gas

fasekoeksistenslinien i et almindeligt monokomponent fasediagram¹. Kritikaliteten underbygges af såvel modeller som af eksperimentelle resultater. [Morrow et al., 1992] [Mouritsen, 1991] [Nagle, 1998]

Forskellige modeller (heriblandt DTU-modellen) for den anomale swelling bygger på en ide om, at det er kritikaliteten af faseovergangen, der direkte eller indirekte giver anledning til divergensen i repeatafstanden. I [Zhang et al., 1994] beskrives en kritisk swelling i selve lipidlaget. I DTU-modellen er hypotesen derimod, at kritikaliteten af faseovergangen indirekte øger tykkelsen af vandlaget mellem dobbeltlagene. [Hønger et al., 1994][Lemmich et al., 1994]

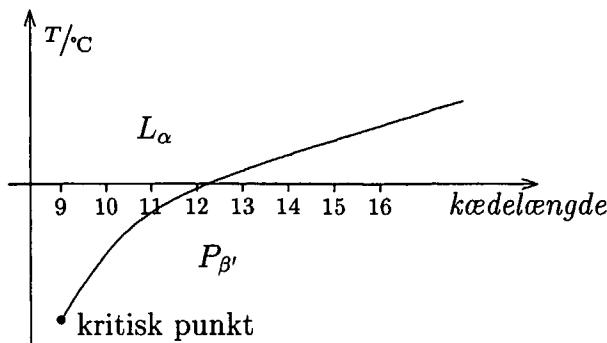
I fasediagrammet i figur 3.1 er der ikke noget kritisk punkt på fasekoeksistenslinien mellem ripplefasen og den flydende krystallinske fase. Denne fasekoeksistenslinie adskiller sig også på flere måder fra fasekoeksistenslinien i et almindeligt monokomponent fasediagram. I et monokomponent system kan man ændre faseovergangstemperaturen ved at ændre på f.eks. trykket. I vores system er trykket ikke en oplagt parameter at ændre. Man kunne selvfølgelig ændre koncentrationen, så der ikke længere er excess vand, men det ville ændre grundlæggende på systemet.

I stedet kan man angribe problemet på en lidt anden måde ved at vælge en ny parameter, der kan ændres på, og som ændrer dobbeltlagenes egenskaber som for eksempel faseovergangstemperaturen. En parameter, som kan gøre dette, er antallet af carbonatomer i lipidmolekyldannelsesfedtsyresekæder, men denne parameter er ikke en almindelig termodynamisk parameter. Den afviger fra almindelige termodynamiske parametre ved at være diskret og ved, at man får et nyt system, når parameteren ændres.

En ændring af lipidernes kædelængde har vist sig at ændre kritikaliteten af faseovergangen, således at den bliver mere kritisk med mindre kædelængde [Morrow et al., 1992]. Den latente varme forbundet med faseovergangen falder omrent lineært med kædelængden, og ved en kædelængde på 9 carbonatomer ville den være nul [Cevc & Marsh, 1987]. Desuden antyder modelberegninger og ekstrapolerede eksperimentelle data, at det kritiske punkt skulle ligge ved en kædelængde på 9 [Wack & Webb, 1988].

I figur 3.3 har vi vist, hvordan fasekoeksistenslinien kan tænkes at ende i et kritisk punkt i et $(kædelængde, T)$ -fasediagram. Den kontinuerte fasekoeksistenslinie i $(kædelængde, T)$ -fasediagrammet er selvfølgelig en uphysisk konstruktion, da kædelængden er en diskret variabel, men det giver alligevel en illustration af, hvordan kritikaliteten er forskellig for lipider med forskellige kædelængder.

¹Nærheden af det kritiske punkt har givet anledning til at faseovergangen ofte betegnes som præ-kritisk eller som en svag førsteordens faseovergang.



Figur 3.3 I figuren ses, hvordan fasekoeksistenslinien i et (*kædelængde*, *T*)-fasediagram kan tænkes at ende i et kritisk punkt.

3.3 Nærværet af et kritisk punkt

Før vi i afsnit 3.4 ser på, hvordan DTU-modellen forklarer den anomale swelling ved nærværet af et kritisk punkt, vil vi kort redegøre for, hvad det egentlig betyder, at faseovergangen sker tæt på et kritisk punkt.

Der er i diverse lærebøger² skrevet en del om, hvordan det skal forstås, at en faseovergang foregår i nærheden af kritiske punkter, men for det konkrete system foreligger der ikke så meget materiale.

I [Morrow et al., 1992] findes der imidlertid en grundig behandling af problemet, og i dette afsnit giver vi en bearbejdet gennemgang af dette arbejde.

Der tages udgangspunkt i ^2H NMR-studier af deuterede phospholipider, hvorved der er opnået viden om en parameter, $\langle l \rangle$. $\langle l \rangle$ angiver en middelværdi af lipidhalernes projektion på dobbeltlagets normal, normeret med kædelængde. Det skal bemærkes, at der ikke skelnes mellem ripplefasen og gelfasen, fordi denne faseovergang ikke kommer til udtryk i $\langle l \rangle$.

Gruppen bag det omtalte arbejde definerer en ordensparameter for systemet, s , givet ved:

$$s = \frac{\langle l \rangle^{-1} - \langle l \rangle_c^{-1}}{\langle l \rangle_c^{-1}}, \quad (3.3.1)$$

idet $\langle l \rangle^{-1}$ antages at være proportional med areal per lipid³. Her angiver $\langle l \rangle_c$ størrelsen af $\langle l \rangle$ ved det kritiske punkt.

Arealet per lipid giver et udtryk for membranens tilstand, og det vokser ved overgangen fra gelfasen til den flydende krystallinske fase.

²Vi har især haft glæde af [Callen, 1985, s. 255-275] og [Adkins, 1983, s. 188-192].

³Denne antagelse er ensbetydende med en antagelse om, at volumen per lipid er konstant.

Det antages, at den Gibbs fri energi kan skrives som

$$G = G_0 \left[\frac{s^4}{4} + \alpha(T - T_c) \frac{s^2}{2} + \beta(T_m - T)s \right], \quad (3.3.2)$$

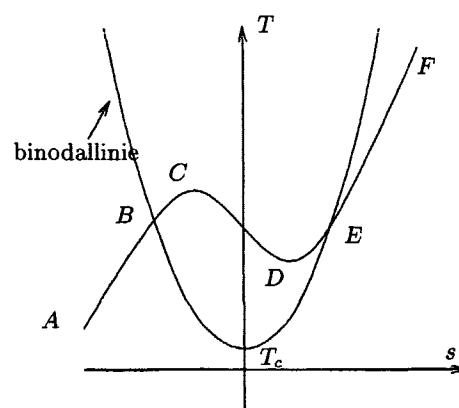
idet der argumenteres for, at dette udtryk er det simpleste, som giver god overensstemmelse med eksperimentelle data⁴.

Nulpunkterne i den afledte Gibbs-funktion

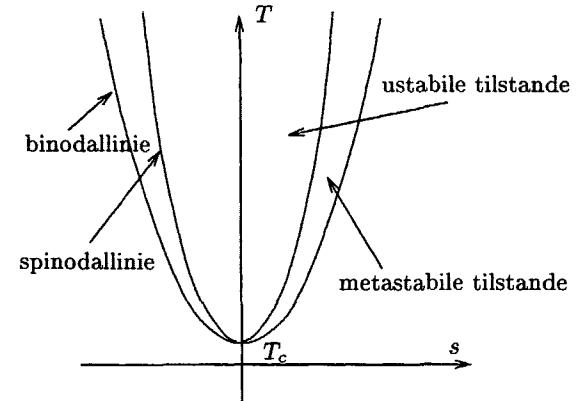
$$\frac{dG}{ds} = G_0 [s^3 + \alpha(T - T_c)s + \beta(T_m - T)] = 0, \quad (3.3.3)$$

angiver lokale ekstrema. De lokale og globale minima angiver henholdsvis metastabile og stabile tilstande for systemet.

I figur 3.4 har vi skitseret løsningsmængden til den første afledte af Gibbs-funktionen i et (s, T) -fasediagram for en given værdi af faseovergangstemperaturen. Vi har desuden indtegnet binodallinien, som angiver grænsen til fasekoeksistensområdet.



Figur 3.4 Skitse over grænsen til koeksistensområdet og løsningsmængden til første afledte af Gibbs-funktionen er skitseret for en given T_m . Frit efter [Morrow et al., 1992].



Figur 3.5 Fasekoeksistensområdet er skitseret sammen med spinodal-linierne. Frit efter [Morrow et al., 1992].

⁴Vi er ikke gået nærmere ind i baggrunden for dette udtryk. Kvalitativt svarer det til den ordensparametrafhængighed af den Gibbs fri energi i nærheden af det kritiske punkt, som vi kender fra for eksempel [Callen, 1985]. Det er imidlertid et udgangspunkt for [Morrow et al., 1992], at faseovergangen nærmer sig sit kritiske punkt, når T_m stiger. Dette er som beskrevet i forrige afsnit ikke tilfældet. Derfor har vi modificeret afbildningen af binodallinien i figur 3.4 og 3.5. Vi har ikke modificeret ligning 3.3.2 og 3.3.3 og man skal derfor være opmærksom på, at der er inkonsistens mellem disse ligninger og afbildningerne i figur 3.4 og 3.5.

I området fra A til B er der et globalt minimum i Gibbs-funktionen, hvilket vil sige, at systemet befinder sig i en stabil tilstand (gelfasen). I området fra B til C er der et lokalt minimum, svarende til en metastabil tilstand i systemet. Fra C til D er der et lokalt maksimum, svarende til en ustabil tilstand. Fra D til E er systemet igen i en metastabil tilstand og fra E til F i en stabil tilstand (den flydende krystallinske fase).

Punkterne C og D kaldes spinodalpunkter. Det ses, at de ligger, hvor den anden afledte af Gibbs fri energi med hensyn til ordensparametren er nul. Indtegnes spinodalpunkterne svarende til forskellige faseovergangstemperaturer fås et diagram, hvor punkterne udgør spinodallinier – det har vi gjort i figur 3.5. I dette diagram kan ses, at der i koeksistensområdet er to regioner med metastabile tilstænde og en region med ustabile tilstænde.

I figur 3.5 ses også at jo tættere faseovergangstemperaturen ligger på det kritiske punkt, jo kortere bliver afstanden mellem de to spinodallinier. Samtidigt vil det lokale maksimum i Gibbs funktionen, som ligger mellem to spinodalpunkter også blive mindre og mindre. Da dette maksimum repræsenterer en energibarriere, som systemet skal overvinde for at gå fra en fase til en anden fase, betyder det, at systemet bliver mere og mere ustabilt og følsomt over for termiske fluktuationer, jo nærmere det er på den kritiske temperatur.

3.4 DTU-modellen

Der er, som nævnt i indledningen, fremkommet forskellige forklaringsmønstre på den anomale swelling. I det følgende præsenteres den model, vi sætter vores eksperimenter i forhold til. Vi har valgt at kalde modellen for DTU-modellen.

Den overordnede pointe i DTU-modellen er, at vandlaget mellem dobbeltlagene vokser, fordi undulationskraften øges ved main faseovergangen [Høngør et al., 1994]. Senere er dette blevet kædet sammen med teorien for den kritiske unbinding (jvf. afsnit 2.5), med temperaturen som den aktiverende faktor for den kritiske unbinding via en reducering af bøjningsmodulet [Lemmich et al., 1995].

DTU-modellen tager udgangspunkt i, at faseovergangstemperaturen mellem ripplefasen og den flydende krystallinske fase ligger tæt på et kritisk punkt. Nær det kritiske punkt er forskellen mellem de to faser meget lille, hvorved energibarrieren ved en overgang fra den ene fase til den anden også er lille. Ved en meget lav energibarriere får systemets termiske fluktuationer stor betydning, idet selv en lille ændring af temperaturen er nok til at ændre fasen. I et øjeblik kan en lille del af membranen således være i ripplefasen, for i næste øjeblik at være i den flydende krystallinske fase. Da de to faser

har forskelligt gennemsnitligt areal per lipid trods nærheden af det kritiske punkt [Cevc & Marsh, 1987, s. 234][Cevc, 1993, Tabel A6], vil tætheden i systemet variere over meget korte afstande.

De mange tæthedsfluktuationer i membranens over- og underside betyder, at membranens to lag ikke nødvendigvis har samme tæthed på et givet tidspunkt. En del af det ene monolag i ripplefasen, mens den modstående del af det andet monolag er i den flydende krystallinske fase, krummer membranen spontant. Da arealet per lipid er størst i den flydende krystallinske fase, sker krumningen omkring det monolag, der er i ripplefasen.

De spontane små bøjninger i membranen reducerer energien forbundet med yderligere bøjning af membranen, og gør altså membranen effektivt blødere. Det vises i [Hønger et al., 1994], at den reducerede energi forbundet med bøjning kan fortolkes i form af et effektivt bøjningsmodul beskrevet ved

$$K_{b,eff} = K_b \left(1 - \frac{r^2}{K_a} \right), \quad (3.4.1)$$

hvor K_b betegner membranernes ukorrigerede bøjningsmodul, K_a er arealkompressibilitetsmodulet, og r er en fænomenologisk koblingskonstant mellem tæthedsfluktuationer i membranen og membranens lokale krumning.

Computersimuleringer viser, at membranens arealkompressibilitetsmodul går som $K_a^{-1} \sim (T - T_{\pm}^*)^{-1}$ [Lemmich et al., 1994], hvor T_{\pm}^* er temperaturene knyttet til spinodalpunkterne.

Fra ligning 3.4.1 ses, at det effektive bøjningsmodul aftager for T gående mod T^* fra højtemperatursiden. En reducering af det effektive bøjningsmodul betyder en stigning af undulationskraften (se ligning 2.3.7). Dette fører umiddelbart til en øget afstand mellem dobbeltlagene, idet undulationskraften er frastødende.

Udfra teorien om den kritiske unbinding (jvf. afsnit 2.5) fås, at afstanden mellem dobbeltlagene divergerer ved den kritiske værdi for Hamakerkonstanten, hvor van der Waals kraften overvinde af de andre frastødende kræfter. [Lemmich et al., 1995] fremfører, at idet alle vekselvirkningsparametrene mellem dobbeltlagene varierer glat med temperaturen, vil følgende gælde

$$l \sim (A - A_c)^{-\gamma} \Leftrightarrow l \sim (T - T_c)^{-\gamma} \quad (3.4.2)$$

hvor T_c er temperaturen for en fuldstændig separation af dobbeltlagene.

Af DTU-modellen forventes det derfor, at repeatafstanden vokser omvendt proportionalt med den reducerede temperatur på følgende måde

$$D \sim (T - T_c)^{-\gamma} \quad (3.4.3)$$

Denne afhængighed er blevet observeret eksperimentelt, hvor den kritiske eksponent er $\gamma = 1$ i overensstemmelse med teorien for kritisk unbinding [Lemmich et al., 1995][Korreman, 2000b] (jvf. afsnit 2.5).

4 Baggrund for vores eksperimenter

I dette kapitel fremdrager vi nogle af de relevante modeller og hypoteser, som findes om den anomale swelling. På denne baggrund forklarer vi, hvad vi forventer af vores resultater, og hvordan vi vil forholde vores resultater til de fremsatte modeller og hypoteser. Som det fremgår af indledningen, er det specielt resultater og hypoteser i [Korreman, 2000b][Korreman & Posselt, 2000b][Korreman & Posselt, 2000a] og deres sammenhæng med DTU-modellen, vi koncentrerer os om.

4.1 Swelling i vandlag eller lipiddobbeltslag

I foregående kapitel har vi beskrevet, hvordan DTU-modellen forklarer den anomale swelling ved en swelling i vandlaget. Det er, som vi har nævnt tidligere, ikke det eneste bud på en forklaring af den anomale swelling. Specielt har Nagle og gruppen omkring ham også arbejdet med den anomale swelling og forklarer fænomenet ved en swelling i lipidhalelaget [Zhang et al., 1994].

I tolkningen af vores SAXS-målinger bestemmer vi kun den samlede repeatafstand, hvoraf det ikke umiddelbart kan tolkes, hvor den anomale swelling foregår. I litteraturen findes der resultater, som kan give et bud på dette, men forskellige forskningsgrupper anvender forskellige metoder og når frem til forskellige konklusioner.

For eksempel præsenterer [Nagle, 1998] NMR-data, hvoraf det tolkes, at halvdelen af den anomale swelling i DMPC finder sted i lipidhalelaget. [Lemmich et al., 1995] præsenterer SANS data for DMPC- d_{54} og DPPC- d_{62} , hvoraf det tolkes, at der ikke er swelling i lipidhalelaget. Endelig præsenteres der i [Kirchner & Cevc, 1993] SAXS-målinger, hvor der ses swelling i såvel vandlag som i lipidlaget. De rapporterede data tyder altså på, at der sker en forøgelse af vandlagets tykkelse, omend det ikke er entydigt, om denne forøgelse er det eneste bidrag til den målte anomale swelling.

I vores eksperimenter arbejder vi med multilamellare vesikler i forskellige saltopløsninger. Saltene kan påvirke hovedgrupperne og dermed faseovergangen i dobbeltlagene. I [Koynova et al., 1997] rapporteres forskydnininger af faseovergangstemperaturer for 1 M saltopløsninger. Da saltkoncentrationerne, i de prøver vi mäter på, er 0,1 M forventer vi, at saltenes påvirkning

af faseovergangen kan antages at være væsentlig mindre end de rapporterede ændringer. Dette er i overensstemmelse med vores måleresultater (se kapitel 7).

Vi mener derfor, at det primært er balancen mellem de interlamellare kræfter, der forskydes ved tilsætning af salt i de mængder, vi anvender. Dermed antager vi, at de ændringer tilsætningen af salt giver i repeatafstanden indenfor samme kædelængde, er forårsaget af ændringer i vandlagets tykkelse.

På denne baggrund finder vi det mest interessant at stille vores resultater op mod DTU-modellen, da denne netop forklarer swellingen ved, at der sker ændringer af balancen mellem de interlamellare kræfter. Endvidere ligger vores målinger i forlængelse af [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a], hvis arbejde understøtter DTU-modellen.

I [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a] opstilles hypoteser for kædelængdernes og saltenes betydning for den anomale swelling. I analysen af vores resultater fokuserer vi både på, hvorvidt hypotesen om saltes betydning for den anomale swelling kan videreføres til længere kædelængder, og hvorvidt den anomale swellings kædelængdeafhængighed påvirkes af saltene.

I det følgende giver vi et resumé af de resultater og hypoteser, som præsenteres i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000a] og [Korreman & Posselt, 2000b] om dels den anomale swellings kædelængdeafhængighed, og dels betydningen af salte for den anomale swelling.

4.2 Kædelængdeafhængigheden

Hvor intet andet nævnes er resultater og hypoteser, som præsenteres i dette afsnit refereret fra [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a].

Der præsenteres målinger af den anomale swelling af DC₁₃PC, DMPC, DC₁₅PC og DPPC i rent vand, og resultaterne sammenholdes med blandt andet DTU-modellen.

Ifølge [Korreman, 2000b] forudsiger DTU-modellen, som den eneste, at den anomale swelling svækkes ved længere kædelængder, idet main faseovergangen rykker væk fra det kritiske punkt på den hypotetiske fasekoekstenslinie i (*kædelængde*, *T*)-fasediagrammet (jf. figur 3.3).

For repeatafstandens laveste niveau i den flydende krystallinske fase observeres en større repeatafstand ved længere kædelængder, hvilket oplagt hænger sammen med, at de længere fedtsyrehaler bidrager til repeatafstanden.

Der observeres endvidere, at størrelsen af den anomale swelling aftager med større kædelængde. Med størrelsen af den anomale swelling mener vi forskellen mellem den mindste repeatafstand i den flydende krystallinske fase,

og den største repeatafstand i den flydende krystallinske fase tæt ved main faseovergangen.

I analysen af ovennævnte målinger benyttes, at man ifølge DTU-modellen kan forvente, at den anomale swelling for en given måling kan fittes med potensfunktionen:

$$D = D_0 + k(T - T_c)^{-1}, \quad (4.2.1)$$

hvor T_c er den kritiske temperatur for unbinding, og konstanterne D_0 og k er systemspecifikke konstanter. For en given måling kan man ud fra denne model bestemme, hvor tæt main faseovergangstemperaturen ligger på den kritiske temperatur for unbinding.

Med udgangspunkt i ligning 4.2.1 vises det, at den kritiske temperatur for unbinding ligger tættere på main faseovergangen ved kortere kædelængder. Det viser sig dog, at DC₁₅PC falder uden for denne systematik.

Det konkluderes, at DTU-modellens forklaring af den anomale swelling understøttes af de fundne resultater, idet kritikaliteten af dobbeltlagenes main faseovergang har stor betydning for den anomale swelling.

4.3 Betydningen af salt

I dette afsnit er de præsenterede resultater og hypoteser refereret fra [Korremann, 2000b] og [Korremann & Posselt, 2000b].

Den anomale swelling af DC₁₃PC er i [Korremann, 2000b] og [Korremann & Posselt, 2000b] blevet målt ved tilslætning af små koncentrationer (0,1-0,2 M) af alkalihalider. Saltenes påvirkning af den anomale swelling analyseres ud fra de forskellige saltes kosmotrope og kaotrope egenskaber. De anvendte saltes gradinddeling i forhold til disse egenskaber menes som udgangspunkt at være:



hvor NaF er det mest kosmotrope salt og KI det mest kaotrope salt [Korremann, 2000b]. Målingerne på opløsninger med KI anvendes dog ikke, fordi der ikke kan findes veldefinerede Braggtoppe med SAXS-målingerne.

Saltene påvirker den samlede kraftbalance forskelligt, og det observeres, at den mindste repeatafstand i den flydende krystallinske fase langt fra main faseovergangen forskydes. Der kan opstilles følgende rækkefølge for saltenes forskydning af den mindste repeatafstand:



hvor den største repeatafstand altså opnås ved tilsætning af det kaotrope KBr, mens den næststørste repeatafstand ses for det kosmotrope NaF. I [Korreman, 2000b] bemærkes det imidlertid, at der i [Pedersen & Jalving, 1998] rapporteres en mindre repeatafstand for DMPC i en 0,15 M opløsning af det kosmotrope salt NH₄Cl, end for DMPC i rent vand.

For størrelsen af den anomale swelling opstilles følgende rækkefølge:

$$\text{NaF} < \text{rent vand} < \text{KF} < \text{NaCl} < \text{KCl} < \text{NaBr} < \text{KBr},$$

hvor KBr giver den største forskydning i størrelsen af den anomale swelling. Denne rækkefølge stemmer overens med gradinddelingen af saltenes kosmotrope og kaotrope egenskaber.

Når resultaterne fra målingerne på de forskellige salte fitness til potensfunktionen fra DTU-modellen, ligning 4.2.1, findes, at kaotrope salte bringer den kritiske temperatur for unbinding tættere på main faseovergangen, mens kosmotrope salte fjerner den kritiske temperatur for unbinding fra main faseovergangen. Der opstilles følgende rækkefølge for forskydning af den kritiske temperatur i forhold til main faseovergangstemperaturen:

$$\text{KF} > \text{NaF} = \text{rent vand} > \text{NaCl} > \text{KCl} > \text{NaBr} > \text{KBr}$$

Bortset fra, at KF er rykket i forhold til NaF og rent vand, er denne række identisk med rækken opstillet efter størrelsen af den anomale swelling af DC₁₃PC i de tilsvarende saltopløsninger. Det vil med andre ord sige, at rækkefølgen er i overensstemmelse med hypotesen om, at en øget swelling hænger sammen med, at den kritiske temperatur for unbinding nærmer sig main faseovergangen.

Der opstilles en hypotese for denne saltspecifikke påvirkning af den anomale swelling. For det første antages det, at saltene ingen effekt har på de steriske kræfter, samt at ionerne ikke binder sig kemisk til dobbeltlagene. Dernæst antages det som udgangspunkt, at Debye-skærmningen af van der Waals kraften kun afhænger af saltkoncentrationen og ionernes valens.

Tilbage er der kun hydreringskraften, og den saltspecifikke effekt foreslås begrundet i, at de kosmotrope salte mindske hydreringskraftens rækkevidde, mens de kaotrope salte øger den. Dette forklares ved, at de kosmotrope salte hydrerer meget, således at der er mindre vand til at hydrere hovedgrupperne. Det vil med andre ord sige, at de har en *salting out*-effekt. Denne effekt medfører, at hydreringskraftens rækkevidde mindskes. De kaotrope salte giver i modsætning hertil en *salting in*-effekt, hvilket vil sige, at de gør vandmolekylerne mere tilgængelige for hovedgrupperne (jvf. afsnit 1.3). Dermed øges hydreringskraftens rækkevidde. Denne hypotese er, som det også påpeges

i [Korreman & Posselt, 2000b], i forlængelse af den klassiske forståelse af hydreringskraften (jvf. afsnit 2.4).

Alle saltene svækker den tiltrækkende van der Waals kraft, og de kaotrope salte styrker endvidere den frastødende hydreringskraft. Derfor er den fremstillede hypotese i overensstemmelse med, at repeatafstanden i den flydende krystallinske fase stiger. Den forøgede hydreringskraft formodes at mindske ($T - T_c$) i DTU-modellen, hvilket eventuelt kan forklare, at vesiklerne sweller mere ved tilsætning af kaotrope salte.

For de kosmotrope salte har svækkelserne af van der Waals kraften og svækkelserne af hydreringskraften en modsatrettet effekt. Derfor er det ikke umindelbart muligt at forudsige disse saltes påvirkning af den anomale swelling udfra den opstillede hypotese. Neutrale salte, som er meget lidt kosmotrope eller kaotrope, har lille indflydelse på hydreringskraften, mens van der Waals kraften stadig svækkes, og man vil derfor forvente, at repeatafstanden stiger ved tilsætning af et neutralt salt.

Det er imidlertid i modstrid med hypotesen, at det laveste niveau af repeatafstanden i den flydende krystallinske fase er højere for kosmotrope salte end for nogle af de kaotrope salte. Dette søges forklaret ved, at de pågældende salte er fluoridsalte, og at disse muligvis svækker van der Waals kraften mere end andre salte på grund af en relativ højere interlamellar koncentration af fluoridioner. Endvidere bemærkes det, at fluoridionen er basisk, hvilket også kan have betydning for systemets opførsel.

På baggrund af overstående konkluderes det i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b], at tilsætningen af salt manipulerer med hydreringskraften, hvilket på baggrund af DTU-modellen resulterer i en forskydning af den kritiske temperatur for unbinding.

4.4 Vores salte og kædelængder

Vi ønsker at undersøge om de hypoteser og resultater der præsenteres i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a], stemmer overens med de resultater, vi opnår ved at måle på swellingen ved andre phosphatidylcholinlipider end DC₁₃PC. Specielt er vi interesserede i tolkningen af betydningen af saltenes kaotropograd.

4.4.1 Valg af salte og kædelængder

Vi har valgt at måle på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i forskellige saltopløsninger, hvilket primært er et praktisk valg. DLPC's main faseovergangstemperatur er så lav (-1°C [Wack & Webb, 1988]), at det ikke kan lade sig

gøre at måle helt ned til faseovergangstemperaturen. Den anomale swelling aftager endvidere, når kædelængden øges. DPPC sweller allerede halv så meget som DC₁₃PC [Korreman, 2000b][Korreman & Posselt, 2000b]. Vi finder det derfor ikke umiddelbart interessant at undersøge saltes betydning for den anomale swelling ved længere kædelængder.

Vi har valgt tre salte med forskellige egenskaber. Vi har valgt KBr, som er det salt, hvor [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b] ser den klareste kaotrope effekt og vi har valgt NaCl, som har en neutral effekt, jvf. afsnit 1.3. De kosmotrope salte som undersøges i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] er alle fluoridsalte, og det er muligt, at den observerede usystematiske påvirkning af systemet er specifik for fluoridionen og ikke skyldes den kosmotrope egenskab. Vi har derfor valgt NH₄Cl, som vores kosmotrope salt, idet [Korreman, 2000b] mener, at [Pedersen & Jalving, 1998] muligvis har observeret en 'ren' kosmotrop effekt.

Se endvidere afsnit 1.3 angående saltenes kosmotrope og kaotrope egenskaber.

4.4.2 Betydningen af salte og kædelængder

På baggrund af [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a] forventer vi, at den øgede kritikalitet af main faseovergangen for mindre kædelængder giver større swelling og bringer den kritiske temperatur for unbinding nærmere, når målinger med samme saltopløsning sammenlignes.

Med vores valg af salte og lipider forventer vi udfra DTU-modellen og hypotesen for saltenes betydning i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b], at se en lignende effekt af saltene ved måling på DMPC, DC₁₅PC og DPPC. Det vil sige, at vi forventer, at den kritiske temperatur for unbinding er nærmest main faseovergangen ved tilsætning af KBr, næstnærmest for NaCl og fjernest for NH₄Cl.

Saltenes effekt skyldes formodentlig en forskydning af de interlamellare kræfter. De interlamellare kræfter er samtidig afhængige af kædelængden, og det er derfor muligt, at betydningen af salt er forskellig ved forskellige kædelængder.

Ændringen af kædelængden vil oplagt ændre dobbeltlagets tykkelse. Da dobbeltlagets tykkelse indgår direkte i van der Waals kraften og indirekte i undulationskraften via bøjningsmodulet, formoder vi, at kædelængden har betydning for de interlamellare vekselvirkninger.

Fra kapitel 2 ved vi endvidere, at alle de interlamellare kræfter er temperaturafhængige, og vi er derfor i den sammenhæng opmærksomme på, at main faseovergangen foregår ved forskellige temperaturer for de forskellige lipider.

Vi finder det sandsynligt, at de ca. 20 graders forskel i temperatur har ligeså stor eller større betydning for balanceen mellem de interlamellare kræfter end den godt og vel 10 procent ændring i dobbeltlagets tykkelse.

Om balanceen forskydes således, at saltes betydning for nærværet af det kritiske punkt (i forhold til systemer med rent vand) mindskes eller øges med kædelængden, kan der ikke konkluderes noget om ud fra DTU-modellen og hypotesen i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b]. Dette skyldes, at der ikke findes en kvantitativ beskrivelse af, hvor meget de pågældende salte ændrer hydreringskraften, og det er derfor ikke muligt at forudsige, hvor meget denne ændring kommer til at vægte i forhold til de øvrige faktorer.

5 Eksperimentel teknik og metode

Vi studerer lipidsystemet ved brug af småvinkelrøntgenspredning. I dette kapitel beskrives denne metode anvendt på lipidsystemet, og der gøres rede for den eksperimentelle opstilling. Derudover beskrives, hvordan måledata bliver behandlet og fortolket.

5.1 Røntgenspredning på multilamellare vesikler

Røntgenspredning er en hyppigt anvendt teknik til strukturanalyse af forskellige især krystallinske materialer. Røntgenstrålingen vekselvirker med elektronerne i prøven, og en måling med røngentspredning giver således et billede af elektrondensiteten gennem prøven.

Da elektrondensiteten i vores system er periodisk på grund af vesikernes lagstruktur, giver den elastiske del af spredningen anledning til konstruktiv interferens ved nogle bestemte spredningsvinkler.

Spredningsvinklen defineres som den halve af vinklen mellem den indkomne og den udkomne stråle, og interferensmønsteret kan beskrives ved Braggs lov

$$2D \sin(\theta^*) = n\lambda \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad (5.1.1)$$

hvor D er en karakteristisk periodisk afstand i vesiklerne, θ^* er de vinkler, hvor der opstår konstruktiv interferens, og λ er bølgelængden af den indkomne røntgenstråling. Størrelsen af de karakteristiske afstande der kan bestemmes afhænger af bølgelængde, samt af hvor små vinkler der kan måles ned til.

Småvinkelrøntgenspredning (SAXS) er ideelt til at undersøge vores system, idet røntgenstråling indeholder bølgelængder fra $0,1 - 100 \text{ \AA}$, hvilket ifølge Braggs lov svarer til afstande i størrelsesordenen $10 - 1000 \text{ \AA}$ ved vinkler mindre end 10 grader. I vesiklerne svarer den karakteristiske periodiske afstand til repeatafstanden, der angiver tykkelsen af et lipiddobbeltslag og et vandlag, som samlet er i størrelsen $60-70 \text{ \AA}$ (se kapitel 1).

Det er her praktisk at indføre spredningsvektoren \mathbf{q} , som en størrelse, der er uafhængig af den eksperimentelle opstilling,

$$q = 2k \sin(\theta), \quad (5.1.2)$$

hvor \mathbf{k} er den indkomne strålings bølgevektor, som har størrelsen $k = \frac{2\pi}{\lambda}$.

For vores system med fastholdt D og λ , er spredningsvinklerne, hvor der opstår konstruktiv interferens, konstant lig θ^* . Dette svarer til bestemte spredningsvektorer \mathbf{q}^* , hvis størrelse er omvendt proportional med repeatafstanden:

$$D = \frac{2\pi n}{q^*} \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad (5.1.3)$$

Dette udtryk er centralt i fortolkningen af vores røntgenspredningsdata, da det giver en simpel sammenhæng mellem q^* og den afstand i systemet, som vi undersøger.

Lipidsystemet er et dynamisk system, som fluktuerer om en ligevægtstilstand. En SAXS-måling med en monokromatisk punktformet røntgenstråle giver derfor en Braggtop med en vis bredde, og jo flere fluktuationer der er i systemet, jo bredere bliver toppen. Positionen af toppens maksimum angiver den hyppigst forekommende repeatafstand. Ved en sådan måling er det en god antagelse at beskrive hver Braggtop som en Gauss-funktion med toppunktets placering som middelværdi.

I vores system har dobbeltlagene dannet vesikler og har derfor ingen forstrukken orientering. Den samlede spredning er derfor centralsymmetrisk omkring den indkomne stråle, svarende til et pulverspektrum. Førsteordens Braggtoppens intensitetsfordeling i spredningen fra en punktformig røntgenstråle på vesikler kan derfor approksimativt beskrives ved en centralsymmetrisk Gauss-funktion, det vil sige

$$I(r) = I_0 e^{-\frac{(r-q^*)^2}{2\sigma^2}}, \quad (5.1.4)$$

hvor r angiver afstanden fra den direkte stråle¹.

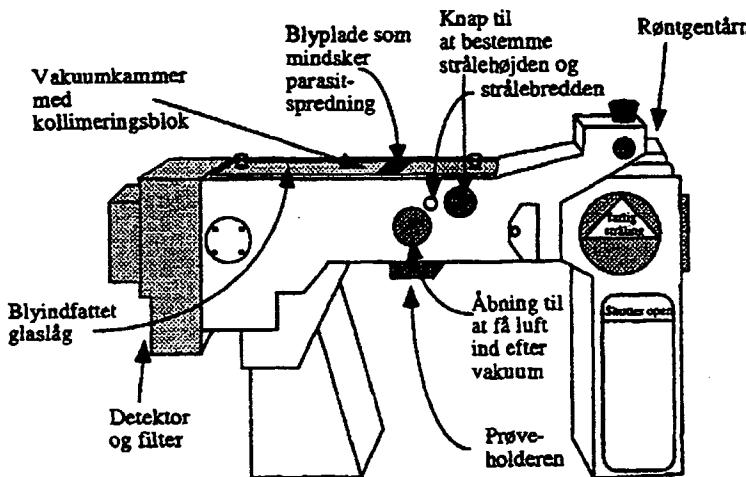
De øvrige koefficienter er de sædvanlige parametre for en Gauss-fordeling, hvor I_0 angiver Braggtoppens højde, q^* angiver fordelingens middelværdi svarende til placeringen af Braggtuppen, og σ^2 angiver fordelingens varians svarende til Braggtoppens bredde. Hver af de øvrige Braggtoppe kan beskrives ved en tilsvarende funktion med andre parametre i Gauss-fordelingen.

5.2 Kratkykameraet

Vores målinger på phosphatidylcholinlipider er foretaget med et Kratkykamera i røntgenlaboratoriet på IMFUFA, RUC.

¹I forbindelse med at vi har rettet rapporten forud for genoptrykningen som IMFUFA-tekst, er vi blevet opmærksomme på, at der er et dimensionsproblem i ligning 5.1.4. Her er r en længde og q^* en reciprok længde. At q er en reciprok længde fremgår af såvel ligning 5.1.3 som af ligning 5.1.2. De enkelte q -værdier svarer imidlertid samtidig til et givent kanalnummer (se figur 5.9) og kan altså omskrives til en afstand til den direkte stråle, ligesom r .

Kratkykameraet består grundlæggende af et røntgenrør, en prøveholder og en detektor (se figur 5.1), og disse beskrives i det følgende på baggrund af [Korreman, 1997] og [Pedersen & Jalving, 1998].



Figur 5.1 Kratkykamera [Korreman, 1997, s. 47].

Røntgenstrålingen produceres i et røntgenrør, som består af en katode og en kobberanode med en stor spændingsforskel. Elektroner fra katoden accelereres i det elektriske felt for derefter at ramme kobberanoden med en høj energi. Røntgenstrålingen produceres på denne måde ved to forskellige processer, stimuleret emission fra kobber og bremsestråling fra elektronerne.

Røntgenstråling, som fremkommer ved stimuleret emission giver veldefinerede spektrallinier. For kobber er der tre elektronovergange, som giver anledning til udsendelse af røntgenstråling. Energien ved elektronovergangene og de tilsvarende bølgelængder er

$$K_{\alpha} : \lambda = 1,54 \text{ \AA}, E = 8,03 \text{ KeV}$$

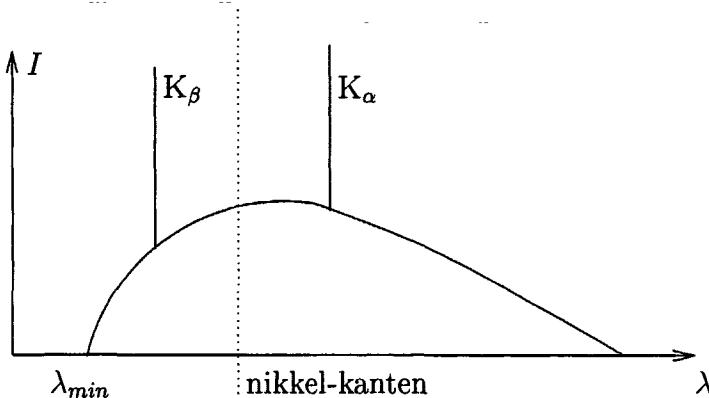
$$K_{\beta} : \lambda = 1,39 \text{ \AA}, E = 8,90 \text{ KeV}$$

$$L_{\alpha} : \lambda = 13,34 \text{ \AA}, E = 0,93 \text{ KeV}$$

[Weast, 1980]².

De veldefinerede spektrallinier fra elektronovergange i kobber blandes med den såkaldte bremsestråling, som stammer fra elektronernes nedbremsning ved kollision med kobberanoden. Dette spektrum er ikke af samme diskrete natur som strålingen fra stimulerede overgange, men er et kontinuert spektrum af bølgelængder. Den korteste bølgelængde i dette spektrum afhænger af den maksimale energi af elektronerne i røntgenrøret.

²Navnene for elektronovergangene henviser til orbitaler.

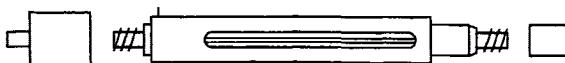


Figur 5.2 Principskitse af strålingen fra røntgenrøret. Bremsestrålingen resulterer i den kontinuerte del af spektret, mens elektronovergange i anoden medfører de diskrete toppe. Den stipede linie angiver placeringen af nikkelkanten.

Den samlede stråling fra røntgenrøret består af et kontinuert spektrum med fremtrædende toppe omkring kobbers spektrallinier, som illustreret i figur 5.2.

Det brede spektrum af bølgelængder i røntgenstrålingen fra røntgenrøret reduceres inden brug i kameraet med et nikelfilter. Nikkel har en absorptionskant på 1,49 Å [Weast, 1980], hvilket betyder, at bølgelængder under denne størrelse absorberes, mens bølgelængder over transmitteres. K_β -linien har en bølgelængde på 1,39 Å og absorberes derfor.

Røntgenrøret producerer en bred røntgenstråle, ca. $10\text{ mm} \times 0.02\text{ mm}$ [Korremann, 1997], hvilket har to konsekvenser for vores målinger med kameraet. Først og vigtigst mindskes måletiden, fordi en større del af prøven udsættes for røntgenstråling, og vi derved hurtigt opnår en kraftig intensitet. Desværre betyder den brede røntgenstråle, at de målte spektre bliver udsmurte og dermed sværere at fortolke. Sidstnævnte er dog ikke noget stort problem, sålænge Braggtoppene er rimeligt pæne. Dette vender vi tilbage til i afsnit 5.3.1.



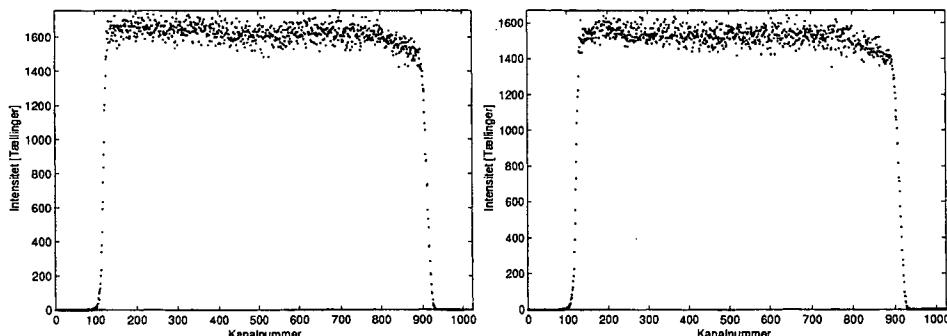
Figur 5.3 Prøveholder.

Inden målingen sættes igang evakueres kameraet for luft for at undgå, at luften spredter strålingen yderligere, og derved ødelægger det spredte spektrum fra prøven. Prøven er placeret i en prøveholder, designet så prøven rammes af hele røntgenstrålen, således at der måles på et stort antal vesikler (se figur 5.3). Ved prøveholderen sidder en computerstyret temperaturregulator, som kan kontrollere prøvens temperatur.

5.2.1 Detektorfølsomhed

Detektoren består af et kammer med en blanding af argon- og methangas (i forholdet 9:1), hvor der sidder en tynd tråd vinkelret på røntgenstrålen, ca. 20 cm fra prøven. Detektorens funktion er at registrere de enkelte fotoner af den spredte røntgenstråling, og udregne en position af dem i forhold til tråden. Denne position digitaliseres til et tal mellem 1 og 1024, og antallet af registrerede fotoner i hver kanal opsamles med en computer. De tekniske detaljer bag den præcise positionsberegning er vi ikke bekendt med.

Detektoren kan ikke tåle den del af strålen, som kommer direkte fra røntgenrøret og som ikke bliver spredt af prøven. Der er derfor indsatt et filter, som stopper den direkte stråle, inden detektoren rammes. Selv med et filter bliver detektortråden slidt, når der foretages målinger med kameraet. Foretages der mange målinger med kraftig intensitet ved en bestemt vinkel, er detektorens registreringer ikke et sandt udtryk for den spredte stråling. Vi har undersøgt detektortrådens tilstand ved semesterets start og afslutning ved at lade en ^{55}Fe -kilde bestråle detektoren. Målingerne er vist i figur 5.4.



Figur 5.4 Måling af detektorfølsomhed med ^{55}Fe -kilde. Den målte strålingsintensitet aftager en smule med stigende kanalnummer på grund af kildens placering. Til venstre vises følsomheden ved semesterets start og til højre vise detektorens følsomhed ved afslutningen af semesteret.

Da vi ikke udfra disse målinger kan se nogle åbenlyse defekter på tråden, foretager vi ikke yderligere korrektioner af vores målinger i forhold til eventuelle usikkerheder på følsomheden af detektortråden.

5.2.2 Temperaturkontrol

Under vores eksperimenter foretager vi målinger ved temperaturer mellem 18 og 62°C. Disse temperaturer opnås og reguleres ved hjælp af temperaturregulatoren, der aktiveres i den ene ende af prøveholderen.

Tidligere undersøgelser [Korreman, 1997] har vist, at man ved denne konstruktion ikke kan opnå den samme temperatur i hele prøven, men at der vil være en temperaturgradient igennem prøven. I forbindelse med undersøgelserne er der blevet foretaget en temperaturkalibrering, som angiver følgende sammenhæng mellem den temperatur, regulatoren er indstillet til og den faktiske gennemsnitstemperatur i prøven:

$$T_{prøve} = 1,53 + 0,93 \cdot T_{regulator} \quad (5.2.1)$$

Det er muligvis et problem, at temperaturkalibreringen kan være forskellig for forskellige prøveholdere og derfor ikke direkte kan bruges ved vores målinger. Vi har imidlertid observeret, at hvis vi benytter denne temperaturkalibrering, finder vi faseovergangstemperaturer, som er i bedre overensstemmelse med dem, der findes i litteraturen, (jvf. kapitel 7), og vi har derfor valgt at benytte denne kalibrering.

Desuden betyder temperaturgradienten gennem prøven, at målinger meget tæt på faseovergangen bliver uanvendelige, idet den ene halvdel af lipidsystemet er i den ene fase, mens den anden halvdel er i den anden fase. I enkelte tilfælde har vi målinger med tydelig indikation af en blanding af de to faser, og vi lader derfor ikke disse indgå i dataanalysen.

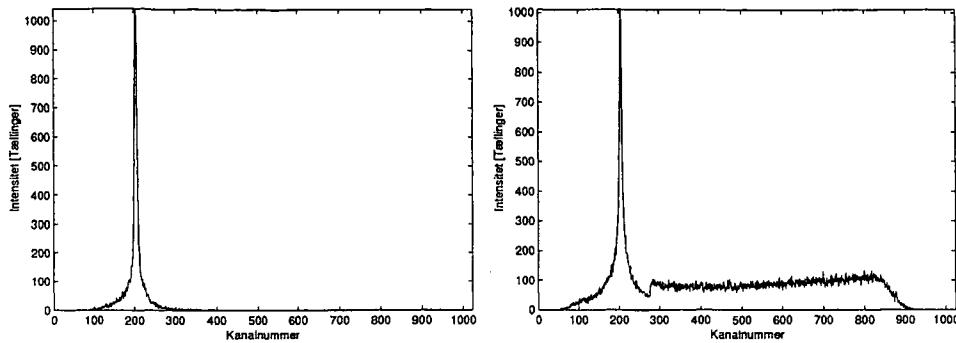
5.2.3 Placing af den direkte stråle

Når vi skal kalibrere Kratkykameraet (jvf. afsnit 5.3.3), er det vigtigt at vide i hvilken kanal, den direkte stråle rammer. Dette undersøges ved at beskytte detektortråden med et filter, således at der sker mindst mulig beskadigelse. Der er to filtre, som kan beskytte tråden. Det ene filter kan sættes op foran strålens indgang til kameraet (filterposition A), og det andet filter kan sættes op foran detektoren (filterposition B).

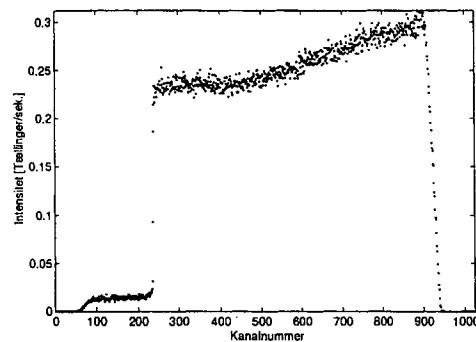
Målinger for de to filterpositioner ses i figur 5.5. Målingen ved filterposition A angiver den direkte stråles placering til kanalnummer 203,0396, mens målingen ved filterposition B placerer strålen i kanalnummer 203,5282. Toppunktet af intensiteten er fittet med en Lorentz funktion, hvilket forklares nærmere i afsnit 5.3.2. Vi antager, at målingen med filterposition B giver den mest præcise placering af strålen, idet det vil reducere usikkerheden på målingen, at strålens intensitet først reduceres tæt ved detektoren.

5.2.4 Baggrundsspektrum

Når der sendes stråling ind på prøven, er det ikke alene vesiklerne, som spredet røntgenstrålingen. Glasset, som prøveholderen er lavet af, og solventet, som vesiklerne befinner sig i, spredet også den indkomne stråling.



Figur 5.5 Måling af den direkte stråle ved filterposition A (venstre), og ved filterposition B (højre). Intensiteten angives ved det totale antal tællinger. Måletiden er ca. 300 sek.



Figur 5.6 Måling af baggrundsstråling. Intensiteten angives ved tællinger per sekund.

Dette korrigerer vi for ved at mÅle pÅ prøveholderen indeholdende vand. Baggrundsmålingen er foretaget ved tre forskellige temperaturer (15°C , 25°C og 35°C), som ikke giver noget forskelligt resultat. Middelværdien af de tre spektre er vist i figur 5.6.

Vores fØrste prøveholder gik i stykker undervejs i forløbet, og vi har derfor måttet skifte prøveholderen. Forskellen mellem den gamle og den nye prøveholder ligger udelukkende i udformningen af lukkemekanismen. Denne forskel mener vi ikke vil få indflydelse på vores resultater, og vi har derfor valgt at benytte baggrundsspektret for den gamle prøveholder for at lette databehandlingen.

5.3 Databehandling

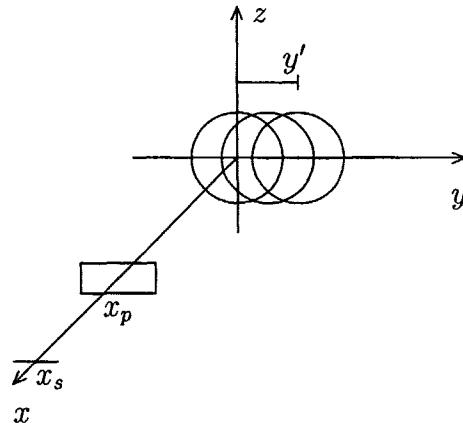
I det følgende gør vi rede for, hvordan vi har bestemt repeatafstande udfra vores rådata fundet ved SAXS-målingerne.

5.3.1 Instrumentel smearing

Den instrumentelle smearing henviser til den smearing, der skyldes, at de konkrete instrumentelle dele af vores opstilling ikke er perfekte. Vi vurderer, at de væsentligste afvigelser fra den ideelle måling i vores instrumentelle opstilling er røntgenstrålens bredde, og røntgenstrålingen sammensætning af forskellige bølgelængder. Derfor ser vi nærmere på disse effekter. Specielt har vi regnet på betydningen af strålens bredde.

På figur 5.7 ses en skitse af måleopstillingen. Den direkte stråle er placeret i $x = x_s$, prøveholderen er i $x = x_p$, mens detektortråden er placeret langs z -aksen, og måler således intensiteten $I(y, z)$ ved $y = 0$. Vi betragter kun førsteordens Braggtopen.

Røntgenstrålen er ikke punktformet, men af en betydelig bredde. Vi antager imidlertid, at den brede stråle kan beskrives som en række af punktformige røntgenstråler, hvis intensitetsfordeling er givet ved en funktion $P(y')$. Hver af disse punktformige stråler vil give anledning til centralsymmetriske spredningsspektre (jvf. ligning 5.1.4), hvis centrum alle ligger på y -aksen, med $y = y'$.

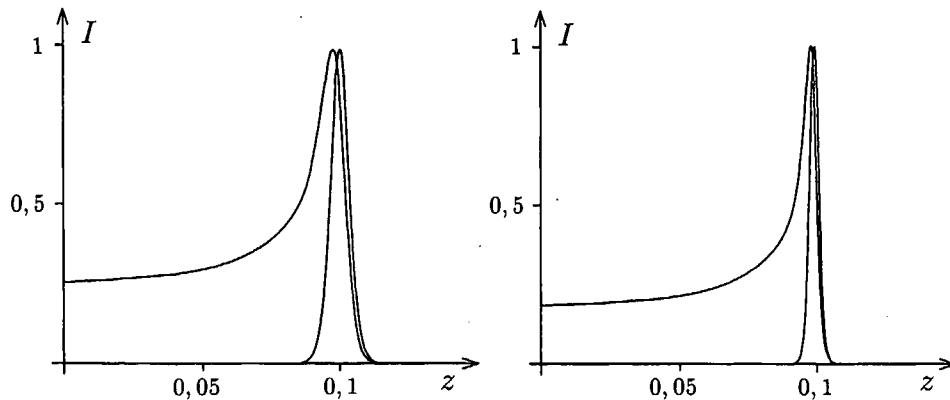


Figur 5.7 I figuren er skitseret, hvordan førsteordenstoppen i det centralsymmetriske spredningsspektrum kommer til at se ud, hvis den brede røntgenstråle kan antages at bestå af en række punktformige stråler.

Bidraget til smearingen fra den brede stråle kan da udregnes ved integralet:

$$I(y, z) = \int_{-\infty}^{\infty} P(y') I_0 e^{-\frac{(r-q^*)^2}{2\sigma^2}} dy' \quad \text{hvor } r = \sqrt{(y - y')^2 + z^2} \quad (5.3.1)$$

I det simpleste tilfælde er $P(y')$ en step-funktion med værdien 1 i et passende interval svarende til strålens bredde. Vi er kun interesserede i intensitetsfordelingen i $y = 0$, hvor vores endimensionelle detektor sidder, og ved numerisk integration fås den asymmetriske funktion, hvis graf ses i figur 5.8. Udoover



Figur 5.8 Begge figurer viser førsteordens Braggtoppes i et spektrum fra lipidsystem med og uden instrumentel smearing beregnet udfra ligning 5.1.4 og 5.3.1 med $\sigma = 0,005$ (figuren til venstre) og $\sigma = 0,0025$ (figuren til højre). Alle fire grafer er beregnet med parametrene $I_0 = 1$ og $q^* = 0,1$. Intensitetsfunktionen $P(y') = 1$ i intervallet fra $-0,11$ til $0,11$ og nul ellers. Toppenes højde er skaleret til samme størrelse, idet den usmearede top er omkring 15-20 gange større end den smearede top.

at spektret bliver asymmetrisk omkring toppunktet på grund af smearing-effekter i forbindelse med strålens bredde, sker der også en forskydning af toppunktet. Toppunktets forskydning afhænger både af toppens bredde, bredden af den direkte stråle og værdien af q^* .

Toppunktets forskydning afhænger, for en fastholdt værdi af q^* , af toppens bredde således, at jo skarpere Braggtopen er, jo mindre forskydes toppunktet, hvilket også ses illustreret i figur 5.8.

Toppunktets forskydning som funktion af q^* er mere kompliceret, idet den både afhænger af strålens og toppens bredde. Vores beregninger har ikke givet noget kvantitatativt resultat, omend det dog kan konstateres, at forskydningen af toppunktet bliver relativ stor for små værdier af q^* .

Da vores målinger giver toppe indenfor et meget lille område, mener vi, at placeringen bliver forskudt det samme ved alle målingerne. Denne forskydning har derfor ikke væsentlig betydning for vores resultattolkning.

Indtil dette punkt har vi ikke taget højde for, at strålingen ikke er monokromatisk, men består af mange forskellige bølgelængder. I [Pedersen et al., 1990] beskrives effekten af ikke-monokromatisk stråling udfra en ligning svarende til ligning 5.3.1, hvor der integreres over strålingens forskellige bølgelængder. En sådan integration giver, at Braggtoppens bredde afhænger af q^* , således, at toppen bliver bredere for større værdier af q^* .

Vi vil ikke benytte os af det ovenstående udtryk som teoretisk udtryk for vores målte spektre, da det tager meget lang tid at fitte en funktion til et

enkelt spektrum. Vores førsteordens Braggtappe er imidlertid relativt smalle, og vi forventer derfor ikke, at den instrumentelle smearing vil medføre en betydelig forskydning af toppunktet.

5.3.2 Fitning

I vores målinger varierer placeringen af toppunkterne kun 4-5 kanaler, hvilket er for få punkter til, at det kan give et fornuftigt billede af repeatafstandens ændring. Vi er derfor nødt til at fitte en top til vores målinger for at få et mere præcist tal for variationen i toppunktets placering. Da det som forklaret i forrige afsnit ikke er trivielt at finde et analytisk udtryk, som tager højde for alle årsagerne til smearingen af spektrene, har vi i stedet valgt at benytte Lorentz funktionen til at bestemme mere præcise værdier for toppunkterne. Lorentz funktionen er en forholdsvis simpel symmetrisk funktion med tre parametre, som vi har set anvendt i andre eksperimentelle studier af samme art [Korreman, 2000b][Hønger et al., 1994]. Lorentz funktionen er defineret ved:

$$I(z) = \frac{c_1}{1 + c_3^2(z - c_2)^2}. \quad (5.3.2)$$

Fitningen af funktionen sker på baggrund af en MatLab funktion³, der minimerer den kvadratiske afvigelse mellem datapunkterne og Lorentz funktionen. Denne procedure benyttes til alle senere fitninger med Lorentz funktionen, og i de tilfælde, hvor der udføres lineær regression.

I fitningen vægtes højresiden af Braggtappen højere end venstresiden. Der kan opstå situationer, hvor MatLab ikke kan fitte en Braggtop, og i stedet fitter toppen iøjnefaldende forkert. Det er derfor ikke helt muligt konsekvent at benytte et fast antal punkter på hver side af toppene. Vi har valgt at fitte med ét punkt på venstresiden og 5 punkter på højresiden i de tilfælde, hvor det er muligt. I de øvrige få tilfælde har vi enten anvendt et ekstra punkt på venstresiden eller et punkt mindre på højresiden.

Dette valg er foretaget på baggrund af et antal fitninger i MatLab, hvor vi har varieret antallet af fittepunkter på hver side af toppene. Fitninger med et enkelt punkt på venstresiden og et antal punkter mellem 3 og 9 på højresiden viste først en afvigelse på 5. betydende ciffer. Den valgte vægtning af højre og venstresiden er den vægtning, hvor vi umiddelbart skal korrigere færrest fitninger.

5.3.3 Kalibrering

Inden vi kan fortolke målingerne på vesiklerne i form af en repeatafstand, er vi nødsaget til at kalibrere opstillingen ved brug af et kendt materiale. I [Hu-

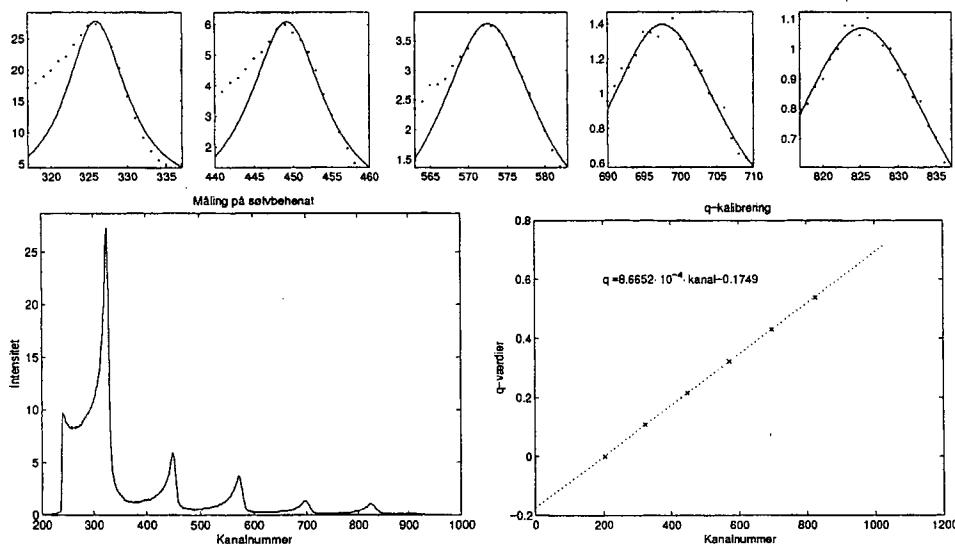
³MatLab er et matrix manipulationsprogram, som vi bruger til vores databehandling. Ved fitning benyttes kommandoen *fminsearch*.

ang et al., 1993] anbefales sølvbehenat til dette formål, og dets repeatafstand angives til $D_{Agbh} = 58,38031 \text{ \AA}$. Dette svarer til, at vi med en måling skal forvente at finde Braggtoppe ved q givet ved

$$q_{Agbh}^* = n \frac{2\pi}{D_{Agbh}} \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad (5.3.3)$$

hvor hver top svarer til forskellige indfaldsvinkler i krystallen.

Vi har målt, hvordan røntgenstrålingen spredes på sølvbehenat pulver; resultatet er vist i figur 5.9.



Figur 5.9 Måling på sølvbehenat. Øverst ses fittet til hver af de fem toppe. Nederst til venstre ses spredningsspektret. Nederst til højre er q^* -værdier fra [Huang et al., 1993] plottet mod placeringen af de fem toppe. Resultatet af den lineære regression er angivet med funktionsudtryk.

I målingen er der fem tydelige Braggtopper, hvortil vi har fittet en Lorentzfunktion, som tidligere beskrevet i afsnit 5.3.2. Dette giver fem koordinatsæt, der har kanalnummer k som førstekoordinat og q -værdierne fra [Huang et al., 1993] som andenkoordinat. Vi har imidlertid endnu en oplysning, idet vi har målt den direkte stråles placering, som angiver $q(k) = 0$. Udfra en antagelse om, at linearitet er en god tilnærmelse, kan vi ved lineær regression opnå et funktionsudtryk for $q(k)$:

$$q(k) = 8,6652 \cdot 10^{-4} k - 0,1749. \quad (5.3.4)$$

Mindste kvadraters afvigelse for fitningen i ligning 5.3.4 bliver $\sim 10^{-7}$.

Ligning 5.3.4 er således den omregning, der sker mellem de rigtige rådata, som stammer fra røntgenapparatet, og de data vi præsenterer i bilag B som

vores rådata. Det vil sige, at vores rådata præsenteres i form af intensitet som funktion af q -værdi, hvilket gør vores rådata sammenlignelige med resultater fra eksperimenter med samme materiale udført på andre røntgenapparater.

5.3.4 Niveauet af repeatafstandene

Det skal bemærkes, at vi med vores databehandlingsprocedure finder vores repeatafstande forskudt med ca. 2 Å, i forhold til de værdier der præsenteres i [Korreman, 2000b]. Målingerne er foretaget med samme apparatur, som vi har anvendt. For at blotlægge grunden til denne uoverensstemmelse har vi prøvet at behandle nogle af de rådata, der er anvendt i [Korreman, 2000b] med den i dette kapitel beskrevne procedure. Forskellen forsvandt ved at anvende vores databehandlingsprocedure på disse rådata.

Ifølge [Korreman, 2000a] er positionen af Braggtoppene i nogle tilfælde manuelt blevet forskudt ca. 2 kanalnumre inden værdierne af repeatafstanden er blevet beregnet i [Korreman, 2000b]. Dette er gjort for at sikre, at den direkte stråle altid ligger i $q = 0$. Vi formoder, at det primært er denne forskel i resultatbehandlingen, der giver forskydningen i repeatafstandene, og vi har ikke forfulgt spørgsmålet nærmere.

5.4 Udførelsel af eksperiment

I dette afsnit beskrives prøvepræparereringen og opbygningen af måleprogrammerne samt de overvejelser, der ligger til grund herfor.

5.4.1 Prøvepræparerering

Til hver af vores målinger har vi fremstillet en prøve, bestående af 50 mg lipid og 200 μ l vand eller 0,1 M saltopløsning, svarende til en lipidkoncentration på ca. 20 wt%, hvorved vi forventer at have en stor mængde excess vand eller saltopløsning. De anvendte lipider DMPC, DC₁₅PC og DPPC, er indkøbt på pulverform fra Avanti Polar Lipids, Inc. (renhed: > 99%). Saltopløsningerne er fremstillet af milli-q vand med KBr fra Merck (renhed: > 99,8%), NH₄Cl fra Struers Kebo Lab A/S (renhed: > 99,8%) og NaCl fra Merck (renhed: > 99,5%).

På grund af lipidernes komplicerede strukturering må der ved prøvepræparereringen tages højde for muligheden, af at systemet kan stabilisere sig i metastabile tilstande, som følge af faktorer som eksempelvis systemets termiske historie.

Alle prøver er derfor fremstillet på samme vis ved først at afveje lipiderne, for derefter at tilsette vand eller saltopløsning med en temperatur over main

faseovergangstemperaturen. Herefter er de tætsluttede prøveopbevaringsglas blevet skiftevis rystet og varmet i ialt 70 min., således at de under hele sammen blandingsproceduren har haft en temperatur mellem 10 og 20 grader over main faseovergangstemperaturen. Prøven er blevet opbevaret i køleskab ved ca. 5°C til næste dag. Inden overførslen af prøven til prøveholderen er prøven opvarmet til over main faseovergangstemperaturen.

Der har umiddelbart ikke været problemer i forbindelse med præpareringen af DMPC, mens præpareringen af DC₁₅PC og især af DPPC har været en smule problematisk på grund af deres høje main faseovergangstemperaturer. Dette har givet problemer i to omgange.

Under selve præpareringen af vores prøver har temperaturen været ca. 50 °C for DC₁₅PC og ca. 60 °C for DPPC, hvilket har bevirket, at en del af vandet er fordampet og siden fortættet under låget af det glas, prøverne er blevet præpareret i. For de prøver, hvor solventet er rent vand, har dette ikke haft nogen betydning, da vi har masser af excess vand. For de prøver hvor solventet er saltopløsninger, har det derimod haft den betydning, at koncentrationen af det pågældende salt har været højere under dannelsen af vesiklerne. Hvis permabiliteten af ioner gennem dobbeltlagene er lav, betyder det, at der muligvis i disse prøver vil være en højere koncentration af ioner i det interlamellare vand.

Det næste problem opstår, når prøven skal gøres klar til at blive overført til prøveholderen. Her er den igen blevet opvarmet, hvilket igen har ført til en forhøjet saltkoncentration. Det betyder, at når prøven udtages, vil der være en forhøjet saltkoncentration i excess vandet.

Betydningen af en forhøjet saltkoncentration vil, når det er aktuelt, blive diskuteret i forbindelse med analysen af vores resultater i kapitel 8.

5.4.2 Måleprogram

Vi har sightet mod at begrænse antallet af målepunkter i ripplefasen til omkring 3 punkter for at optimere målingen af den flydende krystallinske fase, men samtidig bibeholde information om ripplefasens niveau. I udarbejdelsen af et måleprogram er det derfor nødvendigt at tage højde for, at faseovergangstemperaturer for de tre lipider er forskellige, og at tilsætningen af salt kan forskyde faseovergangstemperaturerne.

For hver af de tre lipider i vand har vi udarbejdet en standard måleserie, hvor der måles ved 18 forskellige temperaturer, hvor den sidste måling ligger omkring 20 grader over T_m . Der er i gennemsnit 3 målepunkter i ripplefasen, mens resten af målepunkterne er fordelt således, at der er størst koncentration tæt ved T_m på højtemperatursiden.

Ved hver temperatur foretages tre målinger á 400 sek., som dels skal forbedre statistikken, og dels bruges til at se om der sker en systematisk udvikling af systemet på en lille tidsskala.

Vi venter to timer inden den første måling i hver måleserie for at sikre, at prøven er i ligevægt. Når temperaturen ændres ventes mellem 30 min. og 100 min., afhængig af størrelsen af temperaturspringet, for igen at sikre, at prøven er i ligevægt.

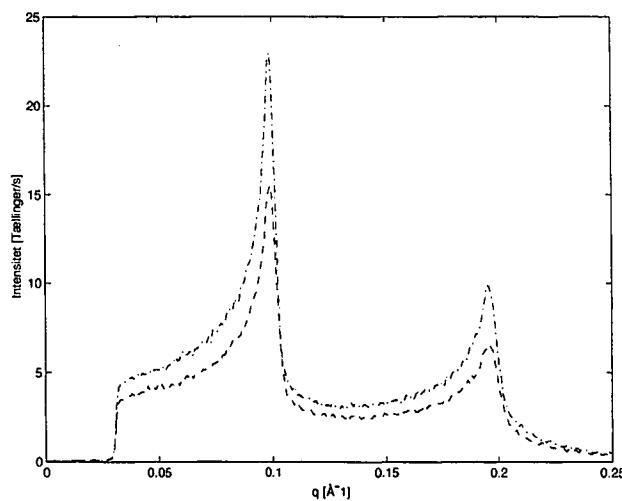
Ved måling på lipiderne i saltopløsning har det ikke været nødvendigt at korrigere standard måleserierne, idet vi ikke har registreret en betydende forskydning af T_m .

6 Sideløbende undersøgelser

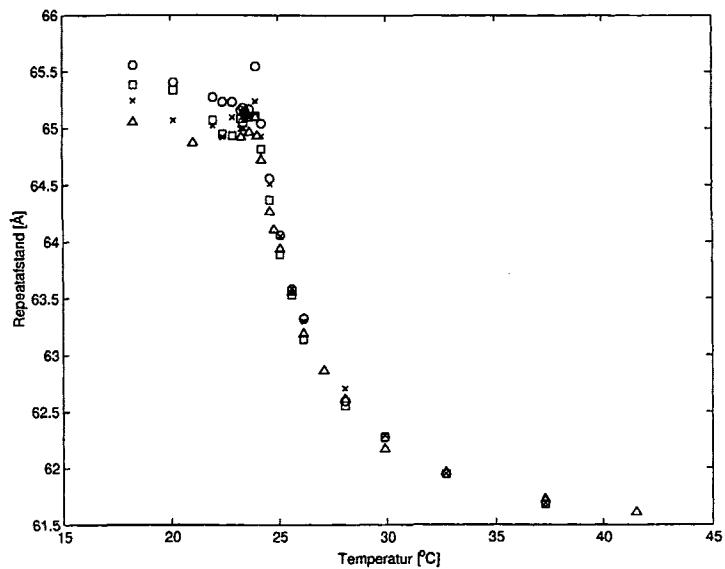
Undervejs i projektforløbet har vi foretaget en række undersøgelser af lipidsystemet sideløbende med de øvrige målinger af repeatafstanden. Disse målinger har haft til formål at undersøge reproducerbarheden af vores resultater og betydningen af den valgte præpareringsmetode. Derudover har vi været i tvivl om, hvorvidt systemet befinner sig i termodynamisk ligevægt, når vi måler på det, hvilket vi har forsøgt at undersøge ved langtidsmålinger ved fastholdt temperatur.

De sideløbende undersøgelser er udført med DMPC i vandig opløsning, som vores standard system. Som en stikprøvekontrol på reproducerbarheden af målingerne på de andre lipider og saltopløsninger har vi udvalgt DPPC i 0,1 M KBr-opløsning. Valget skyldes, at DPPC i opbygning adskiller sig mest fra DMPC, og at KBr giver den største effekt på den anomale swelling af de tre udvalgte salte.

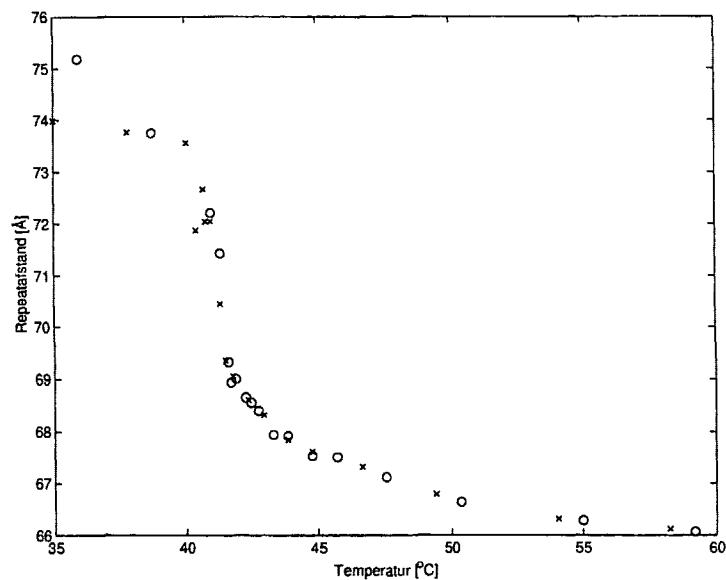
6.1 Reproducerbarhed af data



Figur 6.1 Reproduktion af spektrum ved måling på DMPC i rent vand ved 25,6°C.



Figur 6.2 Reproduktion af DMPC i rent vand.



Figur 6.3 Reproduktion af DPPC i 0,1 M KBr opløsning.

Vores prøvepræpareringsprocedure giver ikke reproducerbare resultater i den forstand, at hvert spektrum for de enkelte temperaturer har samme intensitet i alle kanaler (se figur 6.1). Der er altid en lille forskel, som gør, at intensiteten varierer fra måling til måling, eksempelvis prøveholderens placering i kameraet og koncentrationen af lipid i den del af prøven, som der måles på. En reproduktion af intensitetens størrelse er imidlertid ikke umiddelbart væsentlig for os, idet vi kun er interesserede i toppens placering med hensyn til q -værdien, fordi den angiver repeatafstanden i prøven.

På figur 6.2 ses fire målinger af DMPC i vandig opløsning. En måling er ikke foretaget med samme måleprogram som de øvrige, og en måling er på en prøve, som under prøvepræpareringen blev frosset (jvf. afsnit 6.2). Det ses, at det er svært at reproducere repeatafstanden i ripplefasen, mens der ingen markant afvigelse er mellem målingerne i den flydende krystallinske fase. Det skal dog bemærkes, at den ene af målingerne i overgangen til ripplefasen når op på en repeatafstand, der ligger $\sim 0,3 \text{ \AA}$ højere end de tre andre målinger. Tæt på main faseovergangen er repeatafstanden altså meget følsom over for små temperaturudsving, hvilket giver en usikkerhed på størrelsen af den anomale swelling. I reproduktionen af DPPC i 0,1 M KBr opløsning (vist på figur 6.3), har vi anvendt to forskellige temperaturmåleserier, idet vi i første måling fejlbedømte placeringen af faseovergangstemperaturen, hvorved vi fik for mange målepunkter med i ripplefasen. Selvom vi har anvendt to forskellige måleserier, er det dog tydeligt, at målingerne stemmer overens i den flydende krystallinske fase.

6.1.1 Usikkerheder

I hver måleserie har vi undersøgt tidsudviklingen for de tre målinger på hver temperatur, og vi kan ikke med statistisk belæg konstattere, at der er en tidslig udvikling i systemet indenfor de tre målinger. Vi benytter derfor repeatafstandens gennemsnit i de tre målinger som den målte værdi ved hver temperatur. De tre målinger ved hver temperatur kan med denne antagelse benyttes til at estimere variansen af toppunktets placering ved hver temperatur.

Indenfor hver af de måleserier som præsenteres i kapitel 7, er variansen af toppunktets placering i ripplefasen generelt dobbelt så stor, som variansen i den flydende krystallinske fase. For den flydende krystallinske fase er variansen ved hver temperatur mindre end 0.04 \AA^2 , på nær to outliers på henholdsvis 0.07 \AA^2 og 0.09 \AA^2 . Middelværdien af variansen er 0.027 \AA^2 .

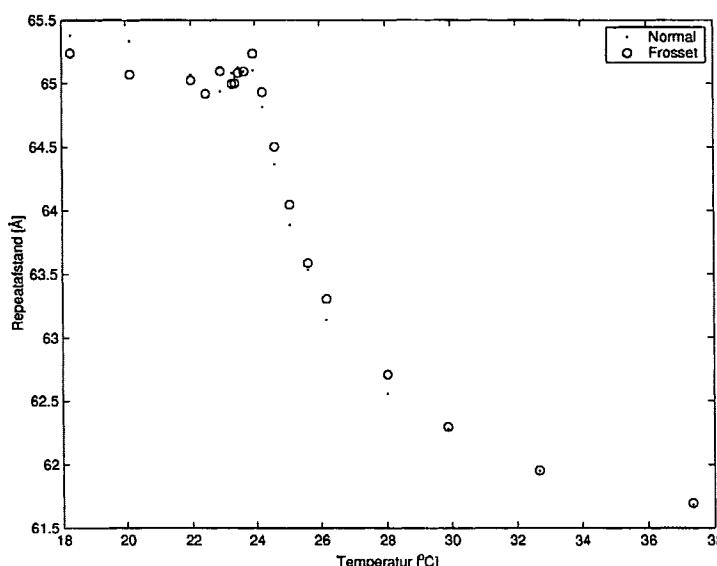
Vi har foretaget i alt 3 reproduktioner af en måleserie på DMPC i rent vand, som vi med god samvittighed kan sammenligne. Det vil sige, vi sammenligner måleserien på prøven, som blev frosset under præpareringen med de øvrige måleserier på DMPC i rent vand (se afsnit 6.2). Målinger i ripplefasen

kan ikke sammenlignes, da de er meget forskellige. Målinger foretaget ved en temperatur, som er en halv grad større end faseovergangstemperaturen, stemmer godt overens. Variansen mellem målingerne er af samme størrelse som variansen indenfor hver måleserie.

For temperaturer, som ligger under en halv grad fra faseovergangstemperaturen, er der stor forskel på den anomale swelling. Størrelsen af swellingen varierer op til $0,3 \text{ \AA}$ mellem målingerne. Dette indikerer, at selv små variationer i prøvens temperaturhistorie har betydning for både ripplefasen og størrelsen af den anomale swelling. Temperaturhistorien har imidlertid ikke så stor betydning for den øvrige del af den flydende krystallinske fase.

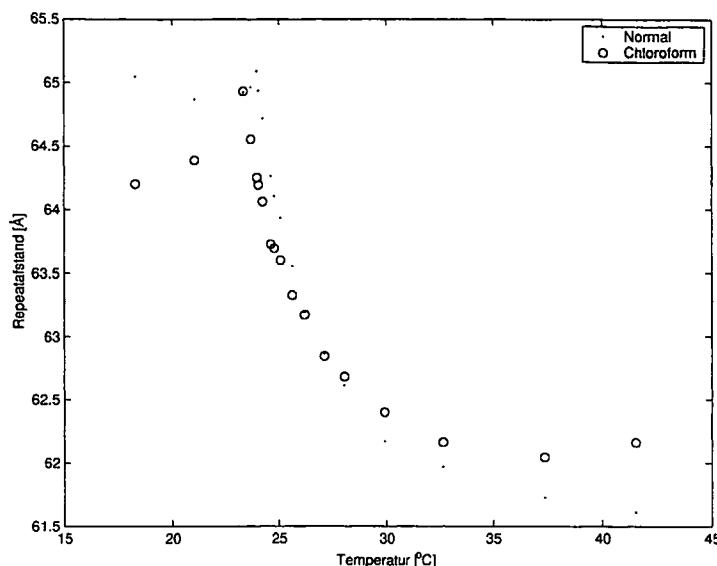
6.2 Prøvepræparerings betydning

Skal vores resultater kunne sammenlignes med resultater opnået ved tidligere eksperimentelle studier er det ikke nok, at vores resultater er reproducerbare. Det er også vigtigt, at vores resultater ikke afhænger af prøvepræpareringsmetoden. Vi har derfor undersøgt om målinger på DMPC i rent vand giver afvigende resultater ved to alternative prøvepræpareringsprocedurer.



Figur 6.4 Måling på DMPC i vand fremstillet ved frysning i flydende nitrogen. Måling på DMPC fremstillet ved standard præpareringsmetoden er plottet som referencemåling.

Den første alternative procedure afviger kun lidt fra vores anvendte procedure, som er beskrevet i afsnit 5.4.1. Efter sammenblandingsproceduren er prøven blevet frosset i flydende nitrogen, inden den hviler i køleskab til



Figur 6.5 Måling på prøve fremstillet ved opløsning i chloroform. Måling på DMPC fremstillet ved standard præpareringsmetoden er plottet som referencemåling.

næste dag. Med dette ekstra trin i proceduren undersøger vi om en strukturel ændring af solventet, som en frysning jo medfører, har indvirkning på vesikernes struktur.

Det ses på figur 6.4, at det ikke har nogen umiddelbar indflydelse, da afvigelsen er sammenlignelig med afvigelsen mellem ens præparerede prøver.

Den anden alternative procedure består i, at lipiderne først opløses i chloroform inden tilsætningen af solventet. Årsagen til, at vi har valgt at undersøge denne præpareringsmetode er, at der i andre relaterede eksperimentelle arbejder, eksempelvis [Markova et al., 2000], anvendes lipider leveret i chloroformopløsning i stedet for på pulverform. Endvidere bruges denne procedure til at undersøge om en strukturel ændring af lipiderne, inden de opløses i vand, har betydning for vesikeldannelsen.

Vores præpareringsprocedure er, at chloroformen efter tilsætningen af lipiden fordampes, hvorved lipiden sætter sig som et lag i bunden af en rundbundet kolbe, som lipiden præparereres i. Solventet tilsættes og prøvepræpareringen følger herefter vores standardprocedure.

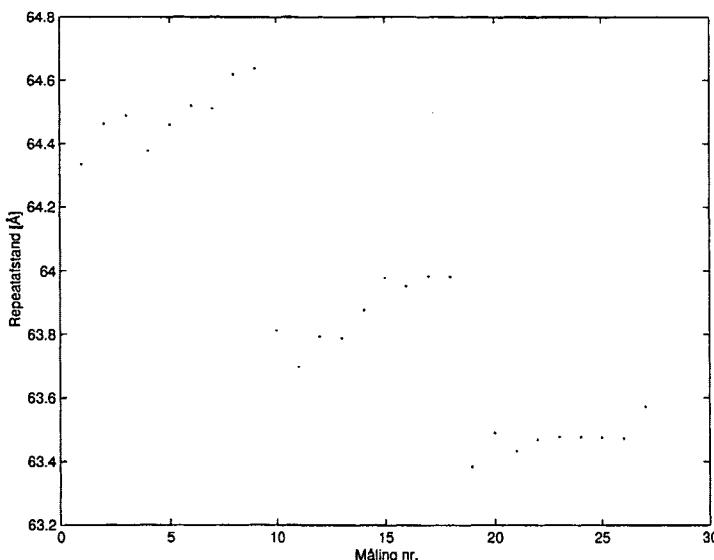
Resultaterne af den anden alternative prøvepræpareringsprocedure er vist i figur 6.5. Det ses, at disse resultater ikke ligner de øvrige målinger på DMPC i rent vand. Målingen afviger både i den flydende krystallinske fases laveste repeatafstand og i main faseovergangstemperatur. Vi har foretaget to målinger med denne præpareringsmetode, hvor den første måling var uanvendelig, idet Braggtoppene forsvandt ved høje temperaturer. Vi formoder, at dette

skyldtes, at der var chloroformrester i prøven, som forstyrrede, mens vi målte. Dette kan måske også forklare, hvorfor målingen i figur 6.5 afviger fra vores øvrige målinger.

Vi foretager os intet yderligere i denne forbindelse, men konstaterer, at vi finder en forskel mellem vores anvendte præpareringsmetode og en præpareringsmetode, hvor lipiderne er opløst i chloroform.

6.3 Ligevægt i systemet

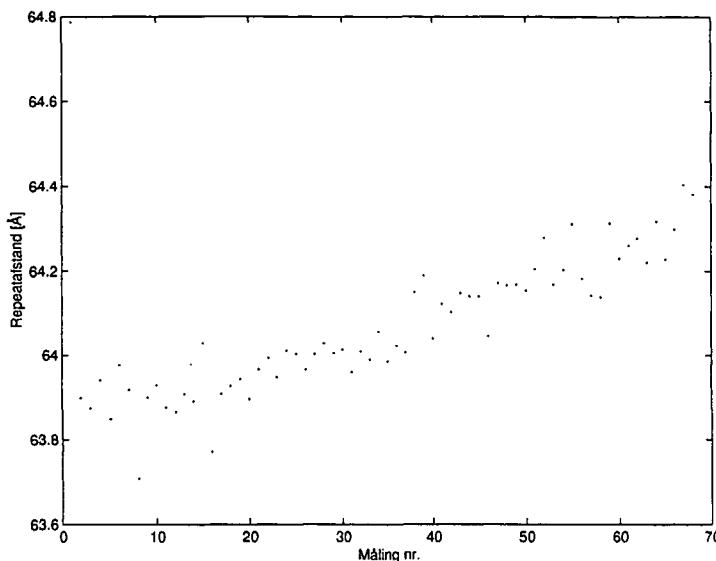
Der er mange metastabile tilstande i det system, vi måler på, og det er derfor ikke sikkert, at lipidsystemet befinner sig i termodynamisk ligevægt. Vi har i denne forbindelse undersøgt, om der forekommer en tidslig udvikling i systemet.



Figur 6.6 Langtidsmåling over 3×10 timer. Først måles ved $24,6^{\circ}\text{C}$, herefter ved $25,6^{\circ}\text{C}$ og til sidst ved $26,6^{\circ}\text{C}$. Bemærk repeatafstandens skala.

Vi har lavet to målinger, som viser den tidslige udvikling af den flydende krystallinske fase i DMPC i rent vand. Ved den første langtidsmåling på 3×10 timer har vi målt ved 3 temperaturer, som alle ligger over main faseovergangstemperaturen (jvf. figur 6.6). I denne måling finder vi en umiddelbar tendens til, at systemet udvider sig undervejs i målingen. For alle tre temperaturer svarer det til en udvidelse på ca. $0.1 - 0.2 \text{ \AA}$ for hver af de 10 timer.

Denne udvikling har motiveret os til at lave en måling over endnu længere tid (se figur 6.7). Målingen starter i ripplefasen ved 22°C således at den er



Figur 6.7 Langtidsmåling over 30 timer. Det første målepunkt er ved 22°C, som angiver ripplefasens niveau på 64,68 Å. Herefter måles ved 25°C. Bemærk repeatafstandens skala.

sammenlignelig med vores øvrige målinger som også starter i ripplefasen. Efter en stabiliseringssperiode på 2,5 time skiftes temperaturen til 25°C og der måles i 30 timer med en måling hver halve time.

Der er visse ting, vi kan observere ved de to langtidsmålinger. Det primære er selvfølgelig, at der indenfor den 30 timers måleperiode (figur 6.7) ses en klar tendens til, at repeatafstanden øges, selvom spredningen er af en vis størrelse.

Denne udvikling kan ikke skyldes, at systemet muligvis ikke har stabiliseret sig i den flydende krystallinske fase. Var dette tilfældet skulle tendensen have været med modsat hældning, idet repeatafstanden er mindre i den flydende krystallinske fase end i ripplefasen.

På 30 timers målingen har vi testet den statistiske hypotese, om tendensen i udviklingen er signifikant. Samlet kan måledata ikke beskrives ved en lineær regressionslinie med hældning nul. Der er således evidens for, at systemet udvikler sig. Vi har testet om der sker en udvikling i de første 3 timer, men på grund af den store spredning kan vi ikke afvise, at systemet udvikler sig allerede i de første 3 timer.

I [Korreman, 2000b] og [Pedersen & Jalving, 1998] er der observeret, at målingen af lipidsystemet er afhængigt af om der varmes op eller køles ned under målingen. Det vil sige, at der er en hystereseopførsel, hvor skiftet i repeatafstand under den anomale swelling er større, når systemet køles ned end når

systemet varmes op. Denne opførsel kan eventuelt forklare, hvorfor systemet vokser, når det fastholdes ved en temperatur nær main faseovergangen.

Ifølge [Korreman, 2000a] vil repeatafstanden vokse uforandret i en måling på 50 timer. [Korreman, 2000a] har imidlertid også observeret at hvis prøven får lov at hvile udenfor kameraet efter en langtidsmåling, vil systemet vende tilbage til sin oprindelige tilstand og vil ved endnu en langtidsmåling begynde at vokse igen.

Udviklingen kunne også være et udtryk for, at røntgenstrålingen ændrer vesiklerne. Denne hypotese forestiller vi os kan undersøges ved at foretage en langtidsmåling, hvor røntgenstrålingen afbrydes, når der alligevel ikke måles, hvorved røntgenstrålingsekspóneringen mindskes.

Vi har ikke korrigeret for denne observation i vores målinger, idet vi ikke har tilstrækkelig information om fænomenet. Da alle målinger er foretaget med samme måleprogram, forventer vi dog, at forskydningen af repeatafstanden er den samme for alle målinger.

7 Datapræsentation

I dette kapitel fremlægger vi systematisk resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i henholdsvis rent vand, KBr-opløsning, NH₄Cl-opløsning og NaCl-opløsning. Grundlaget for præsentationen af de forskellige målinger med saltopløsning er målingerne på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i rent vand. Ved en sammenligning af målingerne med rent vand og målingerne med saltopløsning kan vi udtale os kvalitativt om den relative forskydning af den anomale swelling.

Vores rådata findes i appendiks B, mens vi i dette kapitel præsenterer vores data ved at plotte repeatafstanden mod temperaturen.

Der er ved denne fremstilling af vores data primært to størrelser, som er relevante at fokusere på. Disse størrelser kan aflæses direkte af vores grafer. Det er repeatafstandens laveste niveau i den flydende krystallinske fase, som vi benævner D_{min} , og størrelsen af den anomale swelling, som vi benævner ΔD .

Størrelsen af den anomale swelling udregner vi ved forskellen mellem D_{min} og repeatafstandens maksimumværdi på højtemperatursiden af main faseovergangen. Vi kommenterer ikke de repeatafstande, vi ser i ripplefasen, fordi der er meget dårlig reproducerbarhed af disse data (jvf. afsnit 6.1).

De forskellige ΔD - og D_{min} -værdier er vist både i tabel 7.1, og ved siden af de figurer, hvor den pågældende måling er plottet.

Måling	D_{min}	ΔD
DMPC i rent vand	61,6	3,5
DMPC i KBr	65,5	6,5
DMPC i NH ₄ Cl	62,2	3,6
DMPC i NaCl	61,1	4,8
DC ₁₅ PC i rent vand	63,2	3,0
DC ₁₅ PC i KBr	64,8	4,2
DC ₁₅ PC i NH ₄ Cl	65,1	2,4
DC ₁₅ PC i NaCl	62,3	3,5
DPPC i rent vand	64,7	2,1
DPPC i KBr	66,0	3,3
DPPC i NH ₄ Cl	67,3	1,6
DPPC i NaCl	65,0	2,8

Tabel 7.1 D_{min} - og ΔD -værdierne for de systemer vi har målt på.

Dobbeltlag af de tre forskellige lipider DMPC, DC₁₅PC og DPPC har forskellige faseovergangstemperaturer, og vi præsenterer derfor målingerne med en reduceret temperatur ($T - T_m$) for at lette overskueligheden.

Vi har bestemt faseovergangstemperaturerne udfra vores rådata (jvf. appendiks B). Intensiteten og skarpheden falder ved overgangen til ripplefasen, samtidig med at positionen af Braggtoppene ændres. I rent vand finder vi faseovergangstemperaturer på 23,8°C, 33,8°C og 41,5°C, for henholdsvis DMPC, DC₁₅PC og DPPC. Disse værdier afviger med under en grad fra, hvad vi ellers har set rapporteret [Wack & Webb, 1988].

Tilsætning af salt forskyder faseovergangstemperaturerne med mindre end 0,1 grad.

I nogle tilfælde får vi Braggtoppe ved T_m , som hverken ligner toppe fra ripplefasen eller toppe fra den flydende krystallinske fase. Vi antager, at målingen er foretaget så tæt på faseovergangstemperaturen, at vi har målt på en sammenblanding af de to faser. Vi medtager derfor ikke disse punkter i vores dataanalyse.

I de forskellige plot af repeatafstanden som funktion af temperaturen har vi for hver enkel måleserie indtegnet linier mellem punkterne. Disse linier er kun indtegnet for de punkter, som vi inddrager i dataanalysen.

7.1 Rent vand

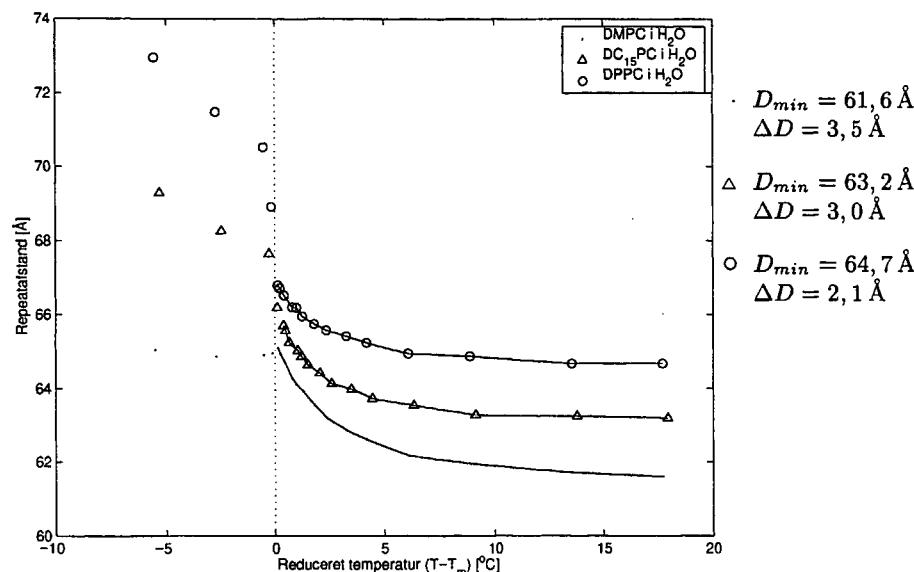
Målingerne i rent vand er udgangspunktet for en vurdering af saltes betydning for den anomale swelling ved de forskellige lipider (se figur 7.1).

Målingerne stemmer ved første blik overens med intuitionen, idet repeatafstanden vokser som funktion af kædelængden. Der er dog nogle detaljer ved de viste målinger i figur 7.1, som kræver en kommentar.

For det første er repeatafstandens forskydning mellem målingerne forskellig i ripplefasen og i den flydende krystallinske fase, henholdsvis 3 – 4 Å og 1,5 Å. Dette skyldes, at halerne er mere udstrakte i ripplefasen end i den flydende krystallinske fase.

Dernæst er også karakteren af den anomale swelling forskellig. Størrelsen af den anomale swelling falder fra 3,5 Å for DMPC til 3,0 Å for DC₁₅PC og sidst er den 2,1 Å for DPPC. Som en sidste bemærkning kan det ses, at den anomale swelling ikke starter i samme afstand fra faseovergangstemperaturen. For DC₁₅PC og DPPC skal man længere ned i temperatur, før swellingen begynder, end man skal for DMPC.

Målingerne i den flydende krystallinske fase, som er vist i figur 7.1, er alle i overensstemmelse med [Korreman & Posselt, 2000a]. Det er derfor fornuftigt at sammenholde vores øvrige resultater med disse målinger.



Figur 7.1 I figuren ses repeatafstanden plottet mod den reducerede temperatur for målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i rent vand.

7.2 Fastholdt kædelængde med varierende salte

Vi starter med at sammenholde de målinger, hvor der er målt på lipider med samme kædelængde i forskellige saltopløsninger.

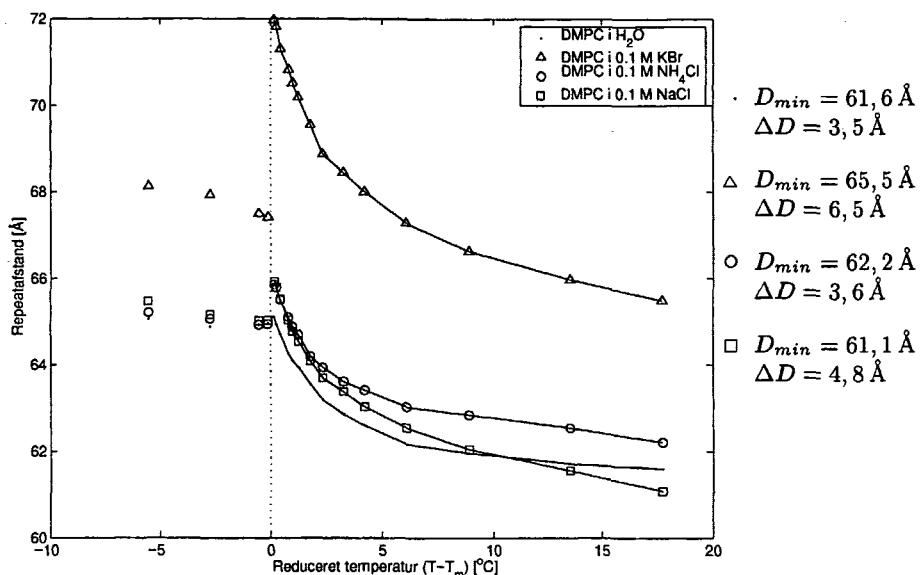
7.2.1 DMPC

I figur 7.2 er resultaterne for målinger på DMPC i de forskellige saltopløsninger sammenholdt med målingen for vand. Her observeres en række interessante fænomener.

Værdierne af D_{min} i systemet forskydes tydeligvis forskelligt ved de forskellige saltopløsninger. Især er det iøjnefaldende, at D_{min} i prøven med KBr-opløsning er meget større end de øvrige målinger. Sammenlignet med vand svarer det til en forskydning på 3,9 Å.

Størrelsen af den anomale swelling er også den mest ekstreme for målingen på KBr-opløsningen. ΔD for målingen på KBr-opløsningen er på 6,5 Å, hvilket er næsten dobbelte af den anomale swelling i rent vand og NH₄Cl-opløsningen, mens den er en halv gang større end for målingen på NaCl-opløsningen.

Interessant er det også, at værdien af D_{min} for prøven med NaCl ligger lavere end målingen med rent vand, omend det kun drejer sig om ca. 0,5 Å. Saltet påvirker dog den anomale swelling kraftigt, således at den omkring



Figur 7.2 I figuren er vist resultater af målinger på DMPC i rent vand og i saltopløsninger.

12 grader over faseovergangstemperaturen 'overhaler' målingen på rent vand. Repeatafstanden i målingen på NaCl-opløsningen kommer derved op på en værdi, der er højere end for rent vand, inden main faseovergangen.

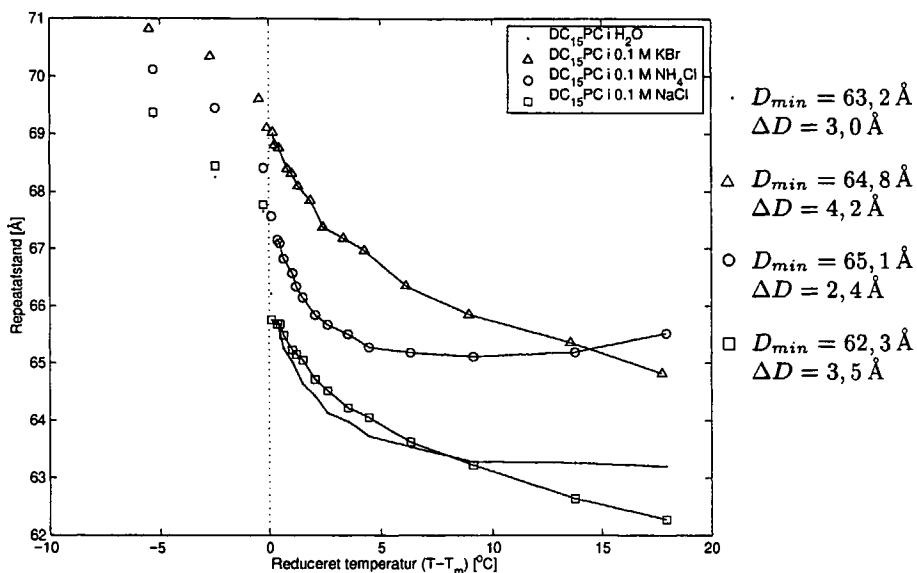
D_{min} for prøven med NH_4Cl -opløsning ligger kun svagt højere end for vand. Størrelsen af den anomale swelling er tæt på størrelsen af swellingen i rent vand, og generelt ser det ud til, at resultaterne er en parallelforskydning på ca. 0,6 Å af den, der ses i rent vand.

7.2.2 DC₁₅PC

I figur 7.3 er resultaterne af vores målinger på DC₁₅PC præsenteret. Disse resultater adskiller sig på flere måder både kvalitativt og kvantitativt fra resultaterne af målingerne på DMPC.

Igen ses en tydelig forskel mellem målingen med rent vand og de forskellige målinger med saltopløsning. Målingen med NH_4Cl -opløsning er her den måling med den største D_{min} -værdi på 65,1 Å, hvilket er ca. 1,9 Å større end for målingen på rent vand. Størrelsen af den anomale swelling på kun 2,4 Å er imidlertid den mindste i forhold til de øvrige målinger. Målingen med NH_4Cl -opløsning adskiller sig yderligere fra de øvrige målinger, idet repeatafstanden begynder at vokse igen ved høje temperaturer.

Målingen med KBr-opløsning har en D_{min} -værdi på 64,8 Å, hvilket er den næststørste værdi. Den ringe størrelse af den anomale swelling ved målingen



Figur 7.3 I figuren er vist resultater af målinger på DC₁₅PC i rent vand og i saltopløsninger.

på NH₄Cl-opløsning gør, at dennes repeatafstand undervejs i den anomale swelling 'overhales' af målingen på KBr-opløsningen, som ender med en ΔD værdi på 4,2 Å.

Ved målingen med NaCl-opløsningen er D_{min} 0,9 Å mindre end for målingen med rent vand. Samtidig giver målingen med NaCl-opløsningen den næststørste ΔD på 3,5 Å.

7.2.3 DPPC

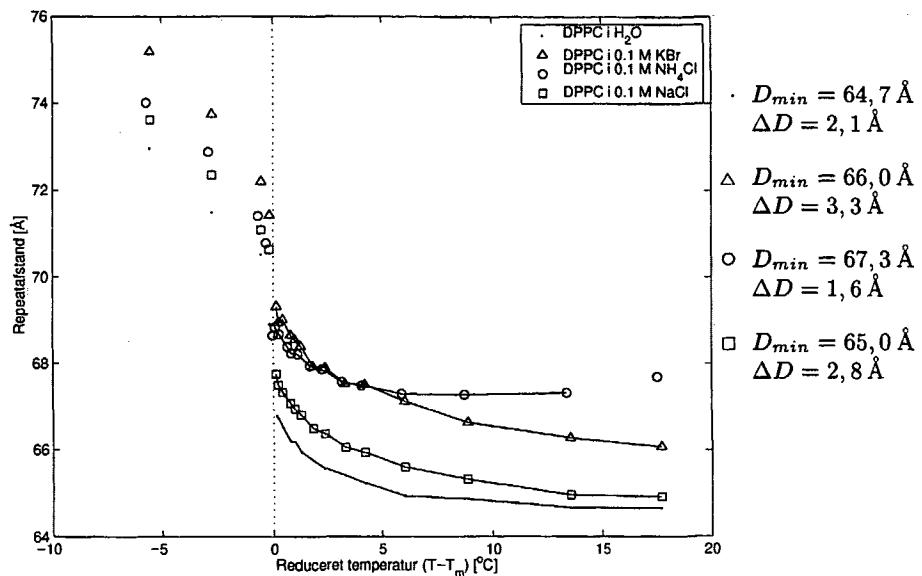
I figur 7.4 vises resultaterne af vores målinger på DPPC.

Den højeste temperatur i målingen med NH₄Cl-opløsningen er ikke anvendelig, da Bragtoppen er meget bred. Der var derfor ikke noget ordentligt fit med Lorentz-funktionen, og den fittede topplacering varierede meget mellem de tre målinger ved denne temperatur (jvf. afsnit 5.3.2 og 6.1).

Målingen på NH₄Cl har igen den største D_{min} -værdi på 67,3 Å. Størrelsen af ΔD er for denne måling 1,6 Å, hvilket er den mindste swelling, vi ser blandt målingerne på DPPC.

For målingen på KBr-opløsningen finder vi, at størrelsen af den anomale swelling stadig er den største på 3,3 Å. D_{min} er stadig større end vand, omend den er betydeligt mindre end for NH₄Cl-opløsningen.

D_{min} -værdien for målingen med NaCl-opløsning er her større end for målingen med rent vand, i modsætning til hvad vi så for de andre kædelængder.



Figur 7.4 Figuren viser resultater af målinger på DPPC i rent vand og i saltopløsninger.

D_{min} værdien for målingen med NaCl-opløsning og målingen med rent vand er sammenlignelige på henholdsvis 65,0 Å og 64,7 Å.

Samtidig giver målingen med NaCl-opløsning igen den næststørste ΔD -værdi, og denne er på 2,8 Å.

7.3 Fastholdt salt med varierende kædelængde

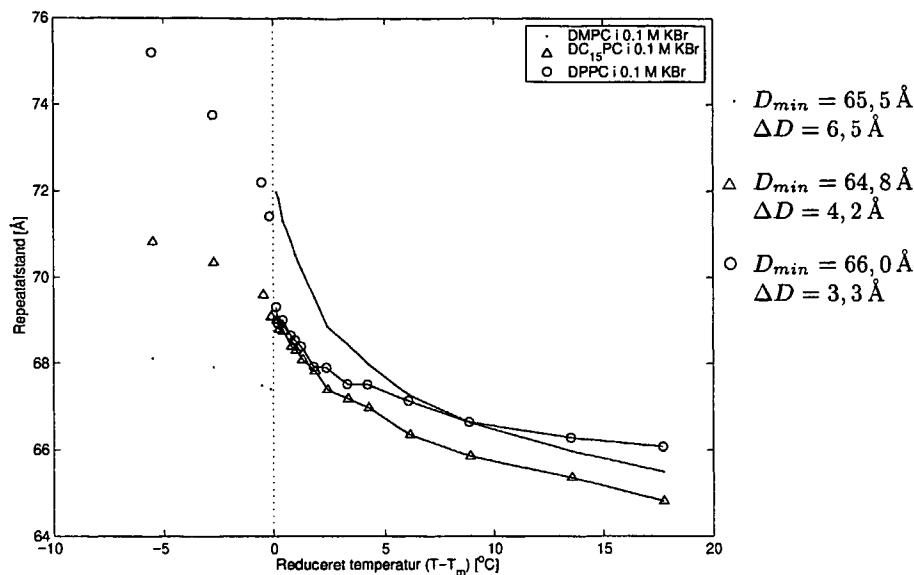
I dette afsnit sammenholder vi målinger, hvor der er målt på lipider med forskellige kædelængder i den samme saltopløsning.

7.3.1 Kaliumbromid

I figur 7.5 har vi vist resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i KBr-opløsning.

Det er bemærkelsesværdigt, at værdien af D_{min} på 65,5 Å for målingen på DMPC ligger over D_{min} for målingen på DC₁₅PC, som er 64,8 Å. Sammenholdes disse resultater med resultaterne i figur 7.1, hvor solventet er rent vand, ses markante forskelle i de skift i D_{min} , der sker imellem de forskellige kædelængder.

I rent vand øges D_{min} næsten konstant med ca. 1,5 Å for hver kædelængde, hvor DPPC har den højeste værdi og DMPC den laveste. For systemerne med



Figur 7.5 I figuren vises resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i 0,1 M KBr-opløsning.

KBr-opløsning er det derimod DC₁₅PC, der har den mindste D_{min} -værdi og DPPC, der har den største.

Størrelsen af swellingen, ΔD , er langt større end de tilsvarende målinger med rent vand. I forbindelse med kædelængdeafhængigheden af ΔD er der konsistens i forhold til figur 7.1, idet ΔD falder, når kædelængden vokser.

7.3.2 Natriumchlorid

I figur 7.6 har vi vist resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i 0,1 M NaCl-opløsning.

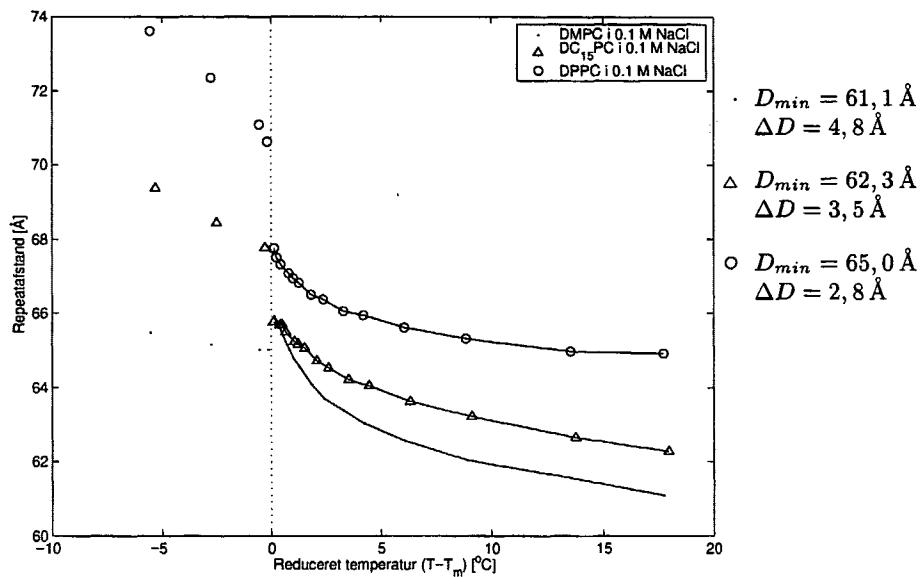
Her er det i første omgang værd at bemærke, at der sker en en væsentlig mindre ændring af værdien af D_{min} fra DMPC til DC₁₅PC end fra DC₁₅PC til DPPC.

ΔD falder som ved de øvrige målinger ved øget kædelængde. Endvidere er værdierne af ΔD større end for de tilsvarende målinger i rent vand.

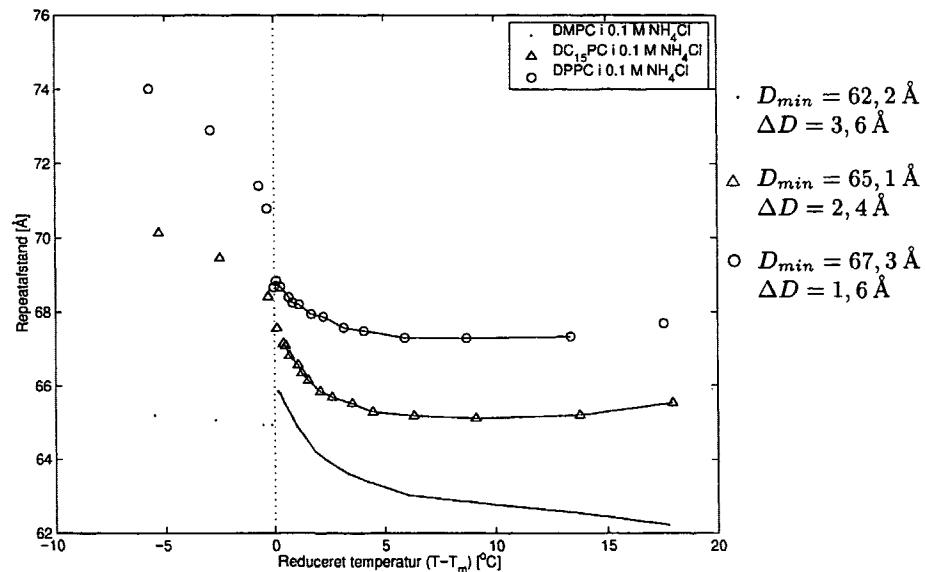
7.3.3 Ammoniumchlorid

I figur 7.7 har vi vist resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i 0,1 M NH₄Cl-opløsning.

Det skal igen bemærkes, at målingen ved den højeste temperatur for DPPC er uanvendelig (jvf. afsnit 7.2.3).



Figur 7.6 I figuren ses resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i 0,1M NaCl-opløsning.



Figur 7.7 I figuren viser resultaterne af vores målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC i 0,1M NH₄Cl-opløsning.

Det ses, at D_{min} er større jo større, kædelængden er, og forskellene mellem D_{min} for de forskellige kædelængder er større end for vand. D_{min} for DPPC er ca. 2 Å højere end for DC₁₅PC og ca. 5 Å større end for DMPC. I rent vand er D_{min} for DPPC kun 1,5 Å større end for DC₁₅PC og ca. 3 Å større

end for DMPC.

Kædelængdens betydning for den anomale swelling bevirker, at størrelsen af swellingen falder som funktion af kædelængden, sådan som det også ses i rent vand. Desuden er der en tendens til, at den anomale swelling er mindre end for de tilsvarende målinger på rent vand.

Endelig sker der det bemærkelsesværdige, at repeatafstanden begynder at stige igen ved høje temperaturer for DC₁₅PC og DPPC.

8 Analyse og diskussion af data

Vi vil i første omgang analysere, hvordan vores resultater stemmer overens med [Korreman, 2000b]’s hypoteser om saltenes specifikke påvirkning af hydreringskraften og den anomale swellings afhængighed af kædelængden. Afslutningsvis ser vi på, hvordan vores resultater passer i forhold til resultaterne fra [Korreman, 2000b], når de sammenholdes med DTU-modellen. Det første afsnit skal derfor ses i direkte forlængelse af kapitel 4.

Dernæst karakteriserer vi mere overordnet hvert salts effekt ved de forskellige kædelængder. Vi har observeret visse systematikker i saltenes påvirkning af repeatafstanden ved varierende kædelængder, og i forbindelse med at vi redegør for disse, kommer vi med bud på, hvad der kunne ligge bag dem.

For at lette læseligheden i de følgende afsnit har vi valgt kun at henvise til [Korreman, 2000b], idet denne inkluderer indholdet fra de to andre publikationer [Korreman & Posselt, 2000a] og [Korreman & Posselt, 2000b].

8.1 Sammenligning af resultater

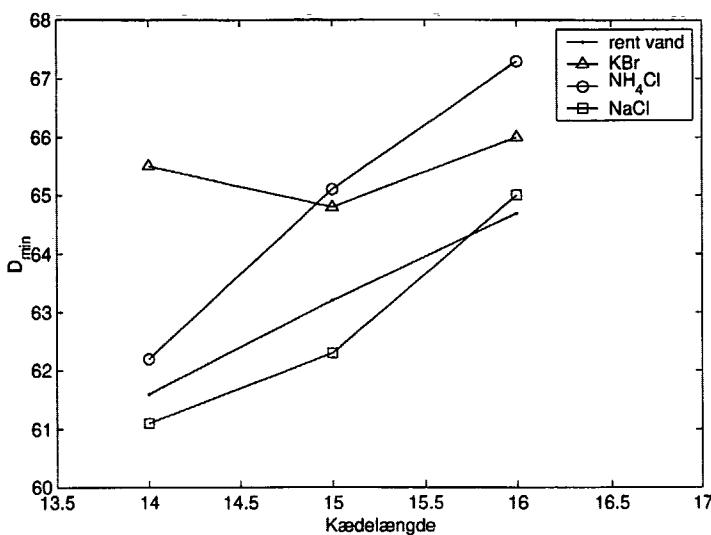
Vi opstiller i dette afsnit saltene i rækkefølger, svarende til de rækkefølger som præsenteres i afsnit 4.3, og sammenligner dem i forhold til vores resultater. Dette gør vi først med udgangspunkt i de observerede D_{min} - og ΔD -værdier, som blev præsenteret i forrige kapitel. Derefter ser vi på, hvad vi får ud af at fitte vores resultater med den af DTU-modellen forudsagte potensfunktion for den anomale swellings temperaturafhængighed (jvf. ligning 3.4.3).

8.1.1 Forskydning af D_{min} -værdierne

Fastholdt kædelængde med varierende salte

På baggrund af de i forrige afsnit præsenterede data, kan vi opstille følgende serier for saltenes effekt på D_{min} -værdierne ved de forskellige kædelængder:

- DMPC: NaCl < rent vand < NH₄Cl < KBr
DC₁₅PC: NaCl < rent vand < KBr < NH₄Cl
DPPC: rent vand < NaCl < KBr < NH₄Cl



Figur 8.1 De observerede værdier for D_{min} i saltopløsninger sammenholdt med de forskellige kædelængder.

Der ses en vis systematik i rækkefølgen af saltene for de tre kædelængder, idet systemerne med NaCl og rent vand har de mindste værdier af D_{min} , mens systemerne med NH₄Cl og KBr giver de største værdier. For målinger med lipider i rent vand, KBr-opløsning og NaCl-opløsning er dette i overensstemmelse med den rækkefølge, der kan opstilles på baggrund af data fra målinger på DC₁₃PC [Korreman, 2000b]:

$$\text{DC}_{13}\text{PC}: \text{ rent vand} = \text{NaCl} < \text{KF} < \text{KCl} < \text{NaBr} \lesssim \text{NaF} < \text{KBr}$$

Det mest bemærkelsesværdige med hensyn til de salte, som både vi og [Korreman, 2000b] har målt på, er, at hos [Korreman, 2000b] ligger DC₁₃PC i NaCl-opløsning på samme niveau som DC₁₃PC i rent vand. Vores målinger på DMPC og DC₁₅PC i NaCl-opløsning har derimod en lavere D_{min} -værdi end tilsvarende målinger med rent vand. Denne tendens skifter ved målingen på DPPC i NaCl-opløsning.

Foretages en vurdering af de fundne rækker i forhold til saltenes kaotropigraad, er der flere ting, der er interessante og anderledes end forventet ud fra hypotesen i [Korreman, 2000b] om saltenes effekt.

Det kosmotrope salt NH₄Cl vil skærme for van der Waals kraften og samtidigt svække hydreringskraften. Da alle saltene vil skærme for van der Waals kraften, forventer vi en D_{min} -værdi for systemer med NH₄Cl, der både ligger under systemer med KBr og NaCl. I modstrid med denne forventning ligger NH₄Cl-opløsningen på det næsthøjeste niveau ved DMPC og på det højeste niveau for DC₁₅PC og DPPC (se figur 8.1).

En tilsvarende observation findes i [Korreman, 2000b] for det kosmotrope salt NaF, men som beskrevet i kapitel 4, søges dette forklaret ved, at der muligvis er en højere koncentration af fluoridioner i det interlamellare vand, og det pointeres samtidig, at fluoridioner kan optræde som en base i systemet. Disse effekter kan ikke bruges til at forklare vores høje D_{min} -værdier for NH₄Cl, da der ikke er nogle fluoridioner, og da NH₄Cl i modsætning til NaF skaber et svagt surt miljø. Man kan derfor godt forestille sig, at der ligger en anden egenskab ved de kosmotrope salte til grund for de høje observerede værdier af D_{min} .

Fastholdt salt med varierende kædelængde

Ved måling på de forskellige kædelængder i rent vand genfinder vi den systematik, som [Korreman, 2000b] har fundet ved tilsvarende målinger. Det vil sige mindre D_{min} -værdier for kortere kædelængder. Vores værdier er imidlertid nogle Ångstrøm mindre, end dem [Korreman, 2000b] rapporterer. Som beskrevet i afsnit 5.3.4, kan niveauforskellen formodentlig forklares ved anvendelse af forskellige databehandlingsprocedurer.

Kædelængdesystematikken fra [Korreman, 2000b] genfindes for NH₄Cl og NaCl. KBr hæver derimod D_{min} niveauet så meget for DMPC, at dennes D_{min} -værdi bliver højere end den tilsvarende værdi for DC₁₅PC. [Korreman, 2000b] rapporterer en endnu større effekt på D_{min} ved tilsetningen af KBr til DC₁₃PC, og dette resultat peger altså på, at KBr's effekt er større ved kortere kædelængder. Dette kan ikke umiddelbart forklares ud fra [Korreman, 2000b]'s hypotese, men er heller ikke i modstrid med denne.

8.1.2 Ändring i ΔD -værdierne

Fastholdt kædelængde med varierende salte

På baggrund af de præsenterede data i forrige kapitel kan vi også opstille serier for, hvordan saltene ændrer på størrelsen af den anomale swelling, ΔD .

$$\begin{aligned} \text{DMPC: } & \text{rent vand} \lesssim \text{NH}_4\text{Cl} < \text{NaCl} < \text{KBr} \\ \text{DC}_{15}\text{PC: } & \text{NH}_4\text{Cl} < \text{rent vand} < \text{NaCl} < \text{KBr} \\ \text{DPPC: } & \text{NH}_4\text{Cl} < \text{rent vand} < \text{NaCl} < \text{KBr} \end{aligned}$$

Disse observationer ligger i klar forlængelse af resultaterne i [Korreman, 2000b], hvor der opstilles følgende række:

$$\text{DC}_{13}\text{PC: } \text{NaF} < \text{rent vand} < \text{KF} < \text{NaCl} < \text{KCl} < \text{NaBr} < \text{KBr}$$

Generelt ses, at de systemer med kaotrope salte har en øget anomal swelling i forhold til vand, mens systemer med kosmotrope salte har en svækket anomal swelling. Den eneste afvigelse i vores målinger fra dette er vores måling på DMPC i NH_4Cl -opløsning, hvor det ses, at ΔD er større end ΔD for DMPC i rent vand. Hos [Korreman, 2000b] ses det tilsvarende med KF, som formentlig er et mindre kosmotrop salt end NH_4Cl , hvor DC_{13}PC i en KF-opløsning her giver en større ΔD -værdi end DC_{13}PC i rent vand.

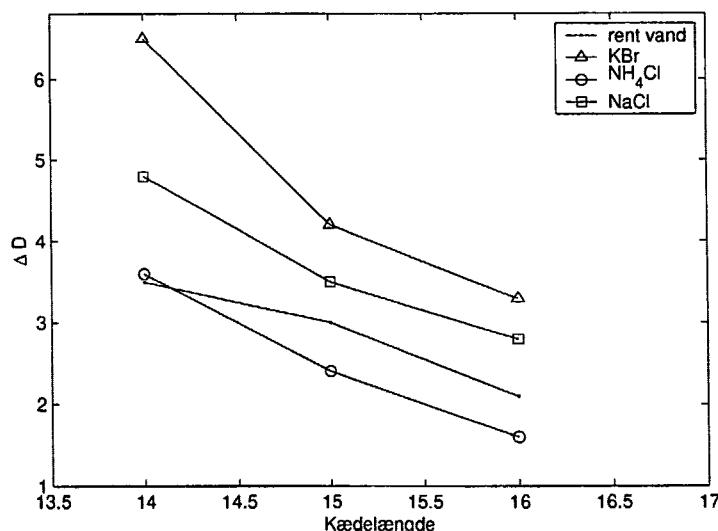
Systemer med den neutrale NaCl -opløsning giver både i vores resultater og i [Korreman, 2000b]'s resultater en højere værdi af ΔD end systemer med rent vand. Dette kan forklares ved, at NaCl skærmer for van der Waals kraften.

Den eneste afvigelse fra hypotesen i [Korreman, 2000b] om saltenes effekt på hydreringen og den anomale swelling er DMPC i NH_4Cl -opløsningen. Værdien for ΔD ligger imidlertid meget tæt på den tilsvarende værdi for DMPC i rent vand.

Samlet finder vi, at der her er en god overensstemmelse mellem vores resultater, hvad angår ΔD -værdierne og resultaterne fra [Korreman, 2000b], i forhold til hypotesen i [Korreman, 2000b] om saltenes effekt på den anomale swelling.

Fastholdt salt med varierende kædelængder

På figur 8.2 har vi plottet ΔD -værdierne for DMPC, DC_{15}PC og DPPC i rent vand og i de tre saltopløsninger. Såvel for rent vand som for alle tre



Figur 8.2 ΔD som funktion af kædelængden ved forskellige salte.

salte genfinder vi følgende rækkefølge for ΔD :

$$\text{DMPC} > \text{DC}_{15}\text{PC} > \text{DPPC}$$

Dette er i fuldstændig overensstemmelse med det, [Korreman, 2000b] finder ved målinger i rent vand. [Korreman, 2000b] peger på, at denne rækkefølge skyldes, at main faseovergangen er mere kritisk for lavere kædelængder. Dette er i overensstemmelse med DTU-modellen, som forudsiger, at de kritiske fluktuationer øges ved lavere kædelængde, hvorved størrelsen af den anomale swelling stiger.

Udover at vores målinger underbygger formodningen om, at størrelsen af den anomale swelling stiger ved lavere kædelængder, tyder vores resultater også på, at kædelængdens effekt på den anomale swelling er meget stabil trods andre påvirkninger af systemet. Dette bekræfter hypotesen om, at kritikaliteten af main faseovergangen er en grundlæggende faktor for den anomale swelling.

8.1.3 DTU-modellen

Som beskrevet i afsnit 4.2, fitter [Korreman, 2000b] sine resultater med potensfunktionen

$$D = D_0 + k(T - T_c)^{-1} \quad (8.1.1)$$

hvorved der findes, at der er en sammenhæng mellem rækkefølgen stillet op efter ΔD -værdierne, og hvor tæt de fittede T_c -værdier ligger på faseovergangstemperaturen. For at teste om denne systematik kan genfindes ved målinger på DMPC, DC₁₅PC og DPPC, har vi fittet den samme funktion til vores resultater.

Udfra $(T_m - T_c)$ -værdierne i tabel 8.1 ses det, at vi ikke kan genfinde den samme systematik i vores resultater ved disse kædelængder, som der er fundet for DC₁₃PC. På baggrund af tabellen får vi følgende række ved ordning af systemerne efter $(T_m - T_c)$ -værdierne:

$$\begin{aligned} \text{DMPC: } & \text{NaCl} \gtrsim \text{KBr} > \text{rent vand} = \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{DC}_{15}\text{PC: } & \text{NaCl} > \text{KBr} > \text{rent vand} \gtrsim \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{DPPC: } & \text{KBr} > \text{NaCl} > \text{rent vand} > \text{NH}_4\text{Cl} \end{aligned}$$

Som det ses, er der en god systematik mellem kædelængderne i rækkefølgen af rent vand og de tre salte, hvor systemerne med NaCl og KBr giver de største $(T_m - T_c)$ -værdier, og systemerne med rent vand og NH₄Cl-opløsningen giver de mindste værdier. Det er dog meget bemærkelsesværdigt, at der ikke er nogen sammenhæng mellem denne rækkefølge, og hvilke systemer der

Måling	D_0	k	T_c	$T_m - T_c$
DMPC i rent vand	61.0511	10.4115	21.3718	2.4
DMPC i KBr	64.2829	28.2765	20.2485	3.5
DMPC i NH_4Cl	61.8434	10.1785	21.431	2.4
DMPC i NaCl	60.2739	21.1972	20.159	3.6
DC ₁₅ PC i rent vand	62.8725	5.3461	32.2814	1.5
DC ₁₅ PC i KBr	63.3933	37.7385	27.3421	6.4
DC ₁₅ PC i NH_4Cl	64.5812	4.6166	32.3763	1.4
DC ₁₅ PC i NaCl	60.8896	37.0773	26.3613	7.4
DPPC i rent vand	64.3542	5.4541	39.3833	2.1
DPPC i KBr	64.9077	23.5939	36.0259	5.5
DPPC i NH_4Cl	66.8628	3.8033	39.7854	1.7
DPPC i NaCl	64.3916	11.0209	38.2071	3.3

Tabel 8.1 I tabellen ses de fittede værdier af D_0 , k og T_c samt størrelsen ($T_m - T_c$), der angiver, hvor mange grader faseovergangstemperaturen ligger fra temperaturen for kritisk unbinding. Faseovergangstemperaturen er til $T_m = 23,8^\circ\text{C}$ for DMPC, $T_m = 33,8^\circ\text{C}$ for DC₁₅PC og $T_m = 41,5^\circ\text{C}$ for DPPC (jvf. kapitel 7).

sweller mest, angivet ved ΔD -værdierne. Dette er i direkte modstrid med resultaterne fra [Korreman, 2000b], hvor der findes en sammenhæng mellem værdierne af ΔD og størrelsen af $T_m - T_c$.

Sammenlignes kædelængderne ved fastholdt solvent, findes der ikke nogen form for orden i værdierne af $T_m - T_c$:

$$\begin{array}{ll} \text{Rent vand:} & \text{DC}_{15}\text{PC} \lesssim \text{DPPC} < \text{DMPC} \\ \text{KBr:} & \text{DMPC} < \text{DPPC} < \text{DC}_{15}\text{PC} \\ \text{NH}_4\text{Cl:} & \text{DC}_{15}\text{PC} \lesssim \text{DPPC} < \text{DMPC} \\ \text{NaCl:} & \text{DPPC} < \text{DMPC} \lesssim \text{DC}_{15}\text{PC} \end{array}$$

Disse rækkefølger virker meget tilfældige, og det ser hverken ud til, at der er noget slægtskab mellem de enkelte salte, eller at der er nogen kædelængdeafhængighed af, hvor tæt faseovergangstemperaturen ligger på den kritiske temperatur for unbinding. Det skal i den forbindelse nævnes, at i [Korreman, 2000b] faldt DC₁₅PC i rent vand udenfor den kædelængdeafhængige systematiske opførsel. Selv med dette for øje er der dog stadig ingen fornuft i rækkefølgen, idet der i tre ud af de fire tilfælde findes en mindre værdi af $T_m - T_c$ for DPPC end for DMPC.

8.1.4 Vurdering af DTU-modellen og [Korreman, 2000b]'s hypoteser

Af de gennemgåede effekter ved tilstedeværelsen af salt ved forskellige kædelængder har vi nu gjort en række interessante iagttagelser.

Den rækkefølge, vi har fundet for de forskellige saltes betydning for værdierne af ΔD ved de tre kædelængder, er i overensstemmelse med målingerne på DC₁₃PC i [Korreman, 2000b] og med hypotesen for saltenes indvirkning på de interlamellare kræfter. Kvalitativt er disse observationer, sammenholdt med hypotesen om saltenes betydning, i overensstemmelse med DTU-modellen. Kvantitativt er der i vores resultater ingen indikation for, at disse observationer kan beskrives med teorien for kritisk unbinding, som det er tilfældet i [Korreman, 2000b].

Denne uoverensstemmelse er et udtryk for, at der i vores målinger ikke er nogen direkte sammenhæng mellem stejlheden af den anomale swelling og størrelsen af swellingen. Dette er umiddelbart i modstrid med vores forestilling om sammenhængen mellem størrelsen af swellingen og nærheden af en kritisk temperatur for unbinding. Vi har haft en forventning om, at en stor anomal swelling ville indikere, at det kritiske punkt lå tæt på faseovergangstemperaturen.

Der kan være flere grunde til, at dette ikke er tilfældet. Som det første kan man gætte på, at vores data ikke er præcise nok, og at usikkerhederne på de fittede værdier derfor bliver for store. Dernæst kan det skyldes, at DTU-modellen med brugen af teorien for kritisk unbinding ikke giver en fyldestgørende beskrivelse af det komplekse system. Og i kombination med disse ting kan det være, at saltenes betydning for systemet ikke er dækket helt ind med hypotesen i [Korreman, 2000b].

En diskussion af reproducerbarheden af vores resultater er allerede foretaget i afsnit 6.1, men vi har i den sammenhæng ikke diskuteret, hvor stor betydning selv små forskelle kan have, når man fitter et udtryk med tre frie parametre. For at vurdere dette har vi foretaget os tre ting.

Som det første har vi prøvet at undersøge, hvor stor spredningen er på værdierne for $T_m - T_c$ ved de fire målinger vi har foretaget på DMPC i rent vand (jvf. afsnit 6.1). Fitteparametrene for denne undersøgelse er angivet i tabel 8.2, hvor det ses, at værdierne for $T_m - T_c$ varierer mellem 2,1 og 2,6 grader. Hvis det antages, at dette kan bruges som et overslag på usikkerheden ved fittene, kan det ikke forklare usystematikken i tabel 8.1.

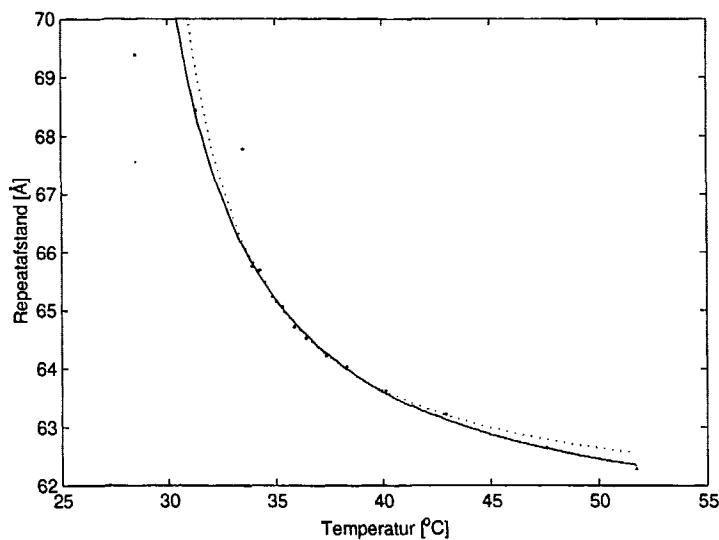
Måling	D_0	k	T_c	$T_m - T_c$
DMPC 1. måling	60,9319	11,9326	21,2050	2,6
DMPC 2. måling	61,0456	10,0110	21,7218	2,1
DMPC 3. måling	61,0229	10,3609	21,4454	2,4
DMPC 4. måling	61,0511	10,4115	21,3718	2,4

Tabel 8.2 I tabellen ses værdierne af de fittede parametre for vores fire målinger på DMPC. Faseovergangstemperaturen er bestemt til at være til $T_m = 23,8^\circ\text{C}$ (jvf. kapitel 7).

I den oprindelige teori for kritisk unbinding [Lipowsky & Leibler, 1986] blev den kritiske eksponent $\gamma = 1$ beregnet udfra vekselvirkningen mellem to dobbeltlag. I et senere arbejde [Netz & Lipowsky, 1993] er der blevet regnet på stakke af dobbeltlag, hvor det er fundet, at γ bliver mindre. Da en stak af dobbeltlag formodentlig er en bedre model af en multilamellar vesikel end blot to vekselvirkende dobbeltlag, har vi prøvet at fitte med en ændret kritisk eksponent for at se, hvordan det påvirker resultatet. Fittes vores resultater med en kritisk eksponent, $\gamma = 0,9$, forekommer der ingen ændring i de rækkefølger, vi har opstillet på baggrund af det oprindelige fit.

Uoverensstemmelsen mellem den kvalitative og kvantitative fortolkning af vores måleresultater kan forklares ved en forestilling om, at andre fænomener end den kritiske unbinding er dominerende ved temperaturer langt fra faseovergangen. Som en sidste ting har vi derfor prøvet at ændre antallet af punkter, der medtages i de enkelte fit.

I figur 8.3 har vi vist, hvordan det ændrer på fittet at gå fra at medtage alle punkter i den flydende krystallinske fase til 20 grader over faseovergangstemperaturen til i stedet kun at medtage punkter indtil ca. 6 grader over faseovergangstemperaturen. Det ses, at dette ændrer fittet, og det ændrer



Figur 8.3 I figuren ses, hvordan det ændrer på fittet at mindske antallet af fittepunkter. Måling på DC₁₅PC i NaCl-opløsning. Faseovergangstemperaturen er ved 33,8 °C.

derfor også på de fittede parametre. Konkret får det reducerede antal fittepunkter værdierne af $(T_m - T_c)$ for forskellige systemer til at ligge tættere, og hvis der kun fittes til punkter til 6 grader over faseovergangstemperaturen, kan der med en usikkerhed på 0,5 grader ikke opstilles nogen rækkefølge for

systemerne.

Vi har med potensfunktionsfitningerne af vores måledata vist, at der ikke umiddelbart findes en sammenhæng mellem størrelsen af swellingen og nærheden af en kritisk temperatur. Når der fittes med potensfunktionen er det primært kurvens form, det vil sige stejlheden, der afgør nærheden af det kritiske punkt, og derved kritikaliteten af den anomale swelling. Dette ses også illustreret ved figur 8.3, hvor en reducering af fittepunkter ændrer formen af den kurve, der fittes til, hvilket medfører ændringer i de fittede parametre. En fitning med potensfunktionen vil derfor ikke direkte benytte størrelsen af swellingen i beregningen af den kritiske temperaturs placering.

Fitningen med potensfunktionen forekommer derfor at være en ufuldstændig måde at analysere den anomale swelling i vesiklerne på, idet den ikke direkte tager højde for størrelsen af swellingen.

I [Korreman, 2000b] er der overensstemmelse mellem størrelsen af swellingen og placeringen af den kritiske temperatur; det vil sige, at der er en sammenhæng mellem det kvalitative billede og det kvantitative udregnet på baggrund af DTU-modellen.

En mulig forklaring kan være, at DTU-modellen er en simpel beskrivelse af det komplekse system, som kun er dækkende, når kritikaliteten overskygger andre faktorer, som også har betydning for swellingen. Ved DC₁₃PC er den anomale swelling betydelig større end ved de kædelængder, vi har målt på, og indenfor vores målinger ser vi også at størrelsen af den anomale swelling falder ved længere kæder. Dette kan måske være en medvirkende forklaring på den manglende systematik i vores resultater ved potensfunktionsfitningen.

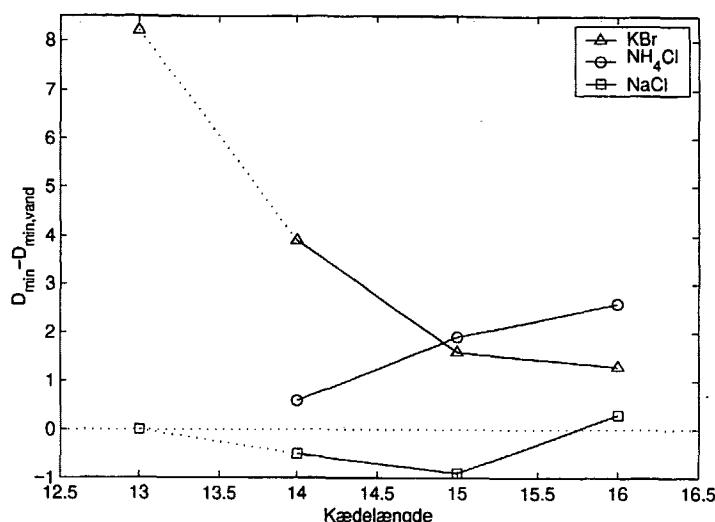
Overordnet kan saltenes store betydning for karakteren af den anomale swelling dog tyde på, at den anomale swelling hovedsageligt foregår i vandlaget og er et resultat af en forskydning i de interlamellare vekselvirkninger.

8.2 Kædelængdens betydning for saltets effekt

I mange tilfælde ser det ud til, at saltenes effekt afhænger systematisk af kædelængden, og disse systematikker redegør vi for i dette afsnit. Som vi forklarede i kapitel 4, havde vi ikke med udgangspunkt i [Korreman, 2000b],[Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a] nogen præcis forestilling om, hvordan de forskellige saltes effekt ville variere med kædelængderne.

Vi ønsker at skelne kædelængdeafhængigheden af saltenes effekt fra den direkte kædelængdeafhængighed af D_{min} og ΔD i rent vand. Derfor viser vi D_{min} -værdierne for målingerne på prøverne i de forskellige saltopløsninger fraregnet D_{min} for målingen af samme kædelængde i rent vand i figur 8.4.

Tilsvarende viser vi i figur 8.5 ΔD -værdierne for målingerne på prøverne i de forskellige saltopløsninger fraregnet ΔD -værdierne for målingen af samme kædelængde i rent vand. I figur 8.4 og figur 8.5 har vi i de to tilfælde, hvor det var muligt medtaget resultaterne af målinger på DC₁₃PC fra [Korreman, 2000b].



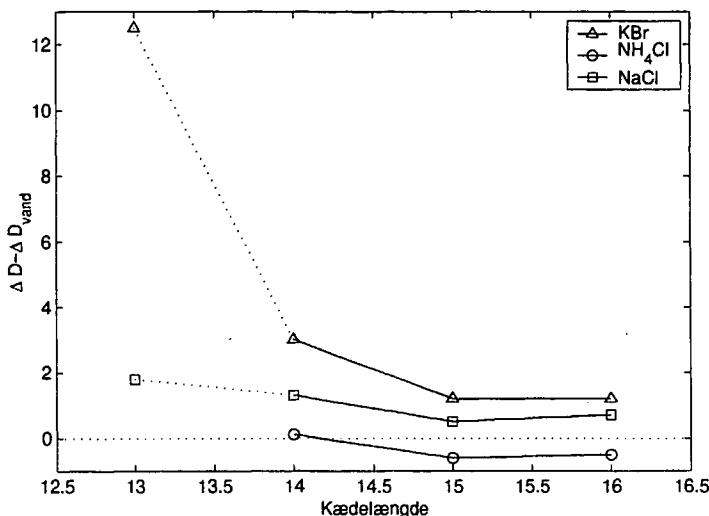
Figur 8.4 Den kædelængdeafhængige forskel på D_{min} målt i et system med rent vand og i de forskellige saltopløsninger. Punkterne for DC₁₃PC er bestemt ved aflæsning af grafer i [Korreman, 2000b].

Som nævnt i afsnit 5.3.4 får vi lidt forskudte repeatafstande i forhold til [Korreman, 2000b] i de tilfælde, hvor vi har målt på ækvivalente systemer. Imidlertid ser det ud til, at der blot er tale om en parallelforskydning af de opnåede resultater. Da de anvendte punkter viser differenser mellem to af [Korreman, 2000b]'s egne målinger, mener vi ikke, at parallelforskydningen har nogen stor effekt, og det er derfor rimeligt at inddrage de pågældende resultater.

Formålet med at inddrage [Korreman, 2000b]'s data er selvfølgelig at få nogle ekstra punkter som udgangspunkt for vores diskussion af kædelængdeafhængigheden af saltenes effekt.

8.2.1 Kaliumbromid

KBr hæver D_{min} markant i forhold til systemer med rent vand. Denne effekt er større jo mindre kædelængde, hvilket blandt andet fremgår af figur 8.4. Faktisk er KBr's effekt på repeatafstanden i DMPC så stor, at vi her, i modsætning til for alle andre målinger, får et fald i D_{min} i forbindelse med en



Figur 8.5 Den kædelængdeafhængige forskel på ΔD i målt rent vand og i de forskellige saltopløsninger. Punkterne for DC₁₃PC er bestemt ved aflæsning af grafer i [Korreman, 2000b].

ændring i kædelængden fra DMPC til DC₁₅PC (jvf. figur 8.1). Fra DC₁₅PC til DPPC stiger D_{min} -værdien lidt, men denne stigning er stadig mindre end stigningen i systemet i rent vand.

At KBr, som er kaotrop, hæver repeafstanden, er som vi beskrev i foregående afsnit helt i forlængelse af resultater og hypoteser i [Korreman, 2000b]. Der er imidlertid ikke direkte noget, der forudsiger den markante kædelængdeafhængighed.

KBr øger også den anomale swelling markant, og her genfinder vi den systematik, at kortere kædelængder giver større effekt af KBr (på nær når vi går fra DC₁₅PC til DPPC, hvor $\Delta D - \Delta D_{min}$ ikke ændrer sig). Denne kædelængdeafhængighed bliver tydelig, hvis man, som vi har gjort i figur 8.5, medtager målingen på DC₁₃PC fra [Korreman, 2000b]. Det ser endvidere ud til, at det betyder mere at gå et trin ned i kædelængde jo mindre kædelængden er.

Disse observationer er en god indikation af, at saltet ikke blot rykker repeafstanden, men øger effekten af et allerede eksisterende fænomen – den anomale swelling.

Vi har overordnet to forestillinger omkring, hvordan denne kædelængdeafhængighed af tilslætning af det kaotrope KBr, kan forklares. Begge disse forklaringer er i overensstemmelse med [Korreman, 2000b]'s forklaring af saltenes betydning for hydreringskraften.

Forklaring 1

Vi tager udgangspunkt i forestillingen om, at tilslætningen af det kaotrope

salt forskyder balancen mellem de interlamellare kræfter således, at den resulterende kraft bliver mere frastødende. Denne forskydning mindsker afstanden til den kritiske temperatur for unbinding.

I den simpleste forestilling vil den absolutte ændring af afstanden til den kritiske temperatur, der fås ved at tilføre systemet KBr, være uafhængig (eller svagt afhængig) af kædelængden. Det vil betyde, at den relative ændring af afstanden til den kritiske temperatur vil være størst for de korte kædelængder, hvor afstanden til den kritiske temperatur for unbinding som udgangspunkt er mindst. Det vil igen betyde, at den øgede swelling ved tilsætning af det kaotrope salt, som vi også har set det, vil være mest markant for korte kædelængder.

Det største problem med den ovenfor skitserede forklaring af den kædelængdeafhængige effekt af KBr er, at vi, trods det at KBr øger swellingen, ikke finder, at den mindsker afstanden til den kritiske temperatur for unbinding. Som beskrevet i afsnit 8.1.4 mener vi imidlertid, at vores resultater stemmer godt overens med DTU-modellens kvalitative forudsigelser. Ligesom vi overordnet set mener, at de store effekter ved tilsætning af salt understøtter forestillingen om, at balancen mellem de interlamellare kræfter er afgørende for den anomale swelling.

Forklaring 2

Som vi tidligere har været inde på, arbejder vi ved forskellige temperaturer, når vi mäter på lipider med forskellige kædelængder. [Korreman, 2000b]'s hypotese er som nævnt flere gange, at de kaotrope salte øger hydreringen af overfladen således, at hydreringskraften øges. Denne forklaring bygger på en klassisk forståelse af hydreringskraften.

Som nævnt i afsnit 2.4 mener [Lipowsky & Grotehans, 1993], at den eksperimentelt observerede eksponentielt aftagende kraft, der kaldes hydreringskraften, stammer fra både den klassiske hydreringskraft og protrusionkraften. Den klassiske hydreringskraft skulle endvidere have størst betydning ved lave temperaturer, og ifølge [Korreman, 2000b]'s hypotese er det den klassiske hydreringskraft, der styrkes ved tilsætning af KBr. Vi forestiller os, at en påvirkning af hydreringskraften, kan have størst betydning, når denne er kraftig. Hvis hydreringskraften virkelig har størst betydning ved lave temperaturer, og endvidere ikke er direkte afhængig af kædelængden, ville det i givet fald kunne forklare, at KBr har størst effekt ved lave kædelængder.

Den egentlige forklaring på den kædelængdeafhængige effekt af de kaotrope salte, kan være en kombination af de to forklaringer, vi her har præsenteret, idet der ikke er nogen modstrid imellem dem.

Alt i alt konkluderer vi, at KBr effekt på både D_{min} og ΔD er i overensstemmelse med hypoteserne omkring kaotrope salte i [Korreman, 2000b]. Desuden

er disse effekter større jo mindre kædelængde.

8.2.2 Natriumchlorid

Effekten af NaCl ser ikke ud til at være systematisk afhængig af kædelængden i samme grad som effekten af KBr.

For DMPC og DC₁₅PC ligger D_{min} lavere efter tilslætning af NaCl-opløsning end med rent vand. For DPPC ligger D_{min} imidlertid lidt højere for målingen med NaCl end målingen med rent vand, og endelig ser [Korreman, 2000b] ikke nogen effekt af NaCl på D_{min} -værdien for DC₁₃PC (se figur 8.4).

ΔD -værdierne ligger lidt højere for målinger med NaCl-opløsning end for målinger med rent vand. For både DMPC og DC₁₅PC ser vi altså, at målingen på et system med NaCl ved høje temperaturer har mindre repeatafstand end ved den tilsvarende måling for vand, mens det modsatte er tilfældet ved lavere temperaturer (jvf. figur 7.2 og figur 7.3).

De lavere D_{min} -værdier ville kunne være i overensstemmelse med hypotesen om kosmotropgradens betydning [Korreman, 2000b], hvis NaCl er en smule kosmotrop (jvf. afsnit 1.3). Dette vil så betyde, at NaCl skulle være så kosmotrop, at hydreringskraften svækkes mere end van der Waals kraften. Det vil imidlertid ikke forklare, at D_{min} -værdien er større for målingen med DPPC i NaCl end for målingen på DPPC i rent vand.

Vi har overvejet, om afvigelsen i NaCl's effekt på DPPC i forhold til effekten på de øvrige kædelængder kan skyldes koncentrationsforskelle. Som beskrevet i afsnit 5.4.1 opvarmede vi prøverne til over main faseovergangstemperaturen, før vi førte dem over i prøveholderen. For DPPC betød det, at der var en del vand kondenseret under låget på det glas, hvori prøven blev opvarmet. Det har betydet, at koncentrationen af salt har været højere for målingerne på DPPC, end ved de andre målinger. I den sammenhæng skal det dog nævnes, at effekten af en øget koncentration også burde komme til udtryk ved målingen på DC₁₅PC. Dette ser vi ingen tegn på.

Den højere koncentration af ioner vil kunne give en større skærmning af van der Waals kraften. Naturligvis kan den højere koncentration samtidig give en større svækkelse af hydreringskraften. Der er imidlertid ingen speciel grund til, at koncentrationsafhængigheden af de to effekter skal være den samme. Desuden er det, som vi påpegede i forrige afsnit muligt, at effekten af at påvirke hydreringskraften bliver mindre ved højere temperaturer og dermed ved højere kædelængder.

[Korreman, 2000b] rapporterer, at saltenes effekt på DC₁₃PC er koncentrationsafhængig. For eksempel giver en ændring af NaBr koncentrationen fra 0,1 M til 0,2 M ca. en ændring på 2 Å i repeatafstanden. Der er imidlertid

ikke målt på NaCl, så vi kan ikke bruge disse resultater til direkte at afgøre, om det vi ser er en konsekvens af ændringer i koncentrationen.

Selvom det altså ikke er umuligt, at D_{min} -værdierne for målingerne på NaCl kan forklares ud fra hypotesen om saltenes effekt på de interlamellare kræfter, er der stadig ting, der ikke stemmer med hinanden. For det første hæver andre kosmotrope salte D_{min} -værdierne markant. Desuden øger NaCl ΔD -værdierne, hvilket peger på, at dette salt har en nettoeffekt, der giver større frastødende kræfter.

8.2.3 Ammoniumchlorid

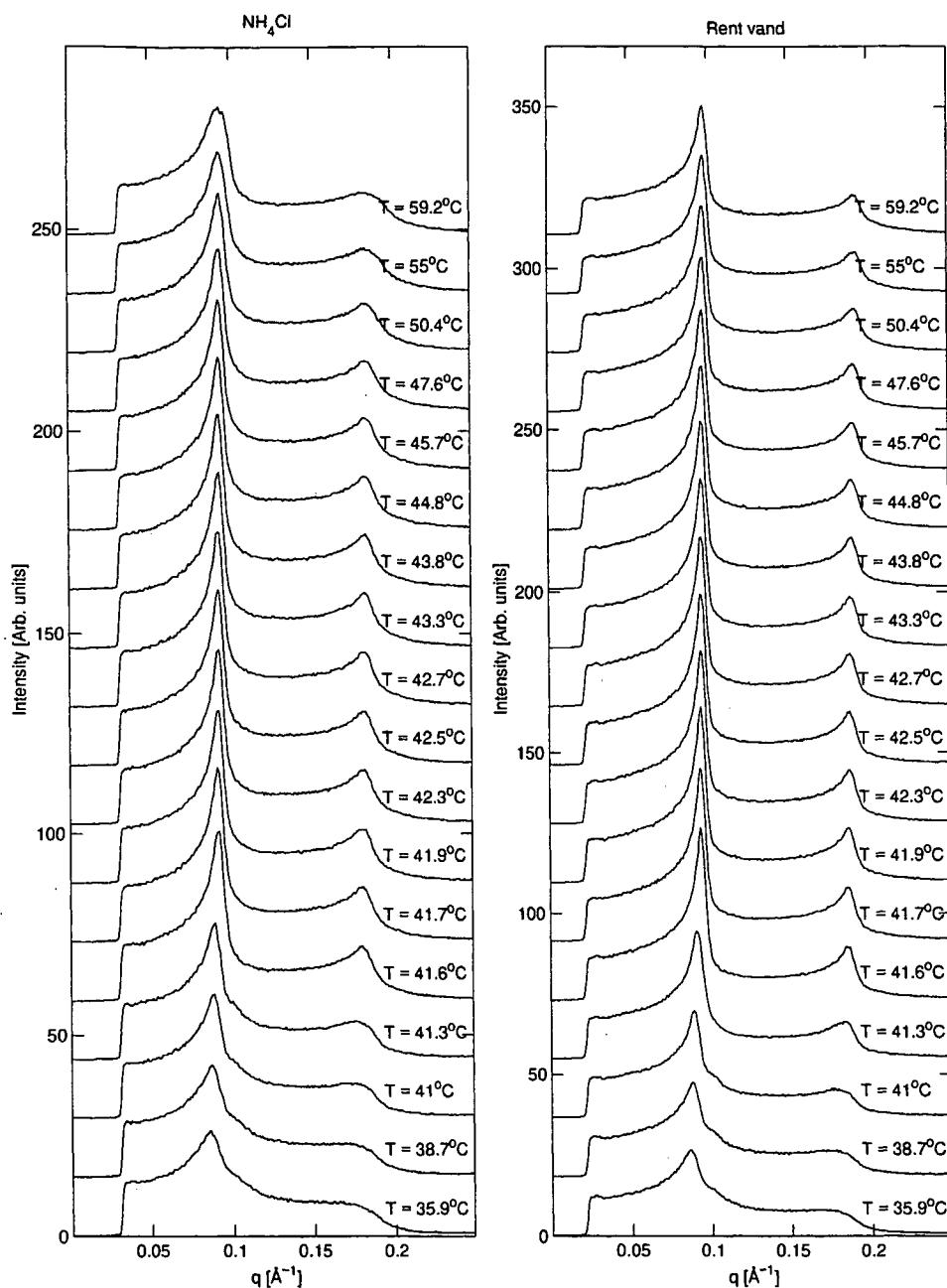
Vi ser, at NH₄Cl har en tendens til at mindske den anomale swelling, hvilket som nævnt svarer til forudsigelserne fra [Korreman, 2000b]. Vi ser endvidere det overraskende på baggrund af [Korreman, 2000b]’s hypotese, at repeatafstanden i den flydende krystallinske fase øges ved tilsætning af NH₄Cl sammenlignet med systemer med rent vand og de to andre saltopløsninger (undtaget DMPC i KBr-opløsning) (jvf. figur 8.1 og figur 8.4). Dette er, som vi har været inde på, i direkte modstrid med hypotesen om, at det kosmotrope salt svækker hydreringskraften.

Effekten, der giver anledning til en stigning i D_{min} , øges når kædelængden øges (jvf. figur 8.5). Samtidig med at NH₄Cl øger repeatafstanden i den flydende krystallinske fase, mindske det den anomale swelling. Dette virker overraskende, idet vi forventede, at en forskydning i retning af mere frastødende kræfter, og en deraf større repeatafstand, ville give større anomal swelling.

Det interessante er, at observationerne måske har tilknytning til NH₄Cl’s kosmotrope egenskaber. Dette understøttes af, at der i [Korreman, 2000b] ses en tilsvarende effekt af det mest kosmotrope af de anvendte salte, NaF. Det vil sige, at NaF mindske den anomale swelling men øger repeatafstanden i den flydende krystallinske fase mere end flere af de andre mere kaotrope salte.

Der er nogle observationer, som har ført os på den tanke, at de kosmotrope salte har en effekt på andre fænomener end den anomale swelling, når vi hæver temperaturen et stykke over main faseovergangstemperaturen.

Ved målingen på DC₁₅PC i NH₄Cl-opløsning ser vi, at repeatafstanden stiger svagt ved den sidste måling ca. 18 grader over main faseovergangstemperaturen. For DPPC i NH₄Cl er vi ikke i stand til at finde en fornuftig repeatafstand for det tilsvarende punkt ca. 18 grader over faseovergangstemperaturen, men vi ser antydningen af en stigning allerede ca. 12 grader over den. Det gælder endvidere for såvel [Korreman, 2000b]’s DC₁₃PC i NaF, som for alle vores målinger med NH₄Cl, at repeatafstanden ser ud til at stabiliseres hurtigere efter main faseovergangen end ved tilsætning af de andre



Figur 8.6 I figuren til venstre ses Braggtoppene fra vores måling på DPPC i NH₄Cl-opløsning og til højre Braggtoppene fra måling på DPPC i rent vand. Det ses, at toppene bliver bredere ved høje temperaturer, når solventet er NH₄Cl-opløsning, end når det er rent vand. Skalaen for de to spektre er forskellige, fordi intensiteterne ikke er lige store.

salte. Desuden giver saltene, som nævnt flere gange, en stigning i repeatafstanden i forhold til vand, og denne effekt øges med længere kæder.

I [Kirchner & Cevc, 1993] rapporteres det, at repeatafstanden stiger for DMPC fra ca. 20 grader over mainfaseovergangen (det vil sige ved lidt over 40°C), samt at denne stigning skyldes en forskydning i balancen mellem de interlamellare kræfter. Det er muligt, at tilsætningen af kosmotrope salte bringer denne stigning i repeatafstand nærmere, og at det er det, der giver tendensen til en stigning i repeatafstand for DC₁₅PC og DPPC i NH₄Cl-opløsning.

Et gæt på en forklaring af dette kunne være, at de kosmotrope saltes effekt kan være relaterede til de termiske fluktuationer i systemet. Dette bygger vi dels på, at effekten af de kosmotrope saltet stiger når kædelængden og dermed måletemperaturen stiger. Desuden ser det ud til, at vores Braggtoppes er mindre skarpe ved tilsætning af NH₄Cl end ved tilsætning af andre saltet eller for systemer i rent vand (se figur 8.6). Dette er specielt tydeligt for målingen af DPPC i NH₄Cl-opløsning. De bredde Braggtoppes kunne være relaterede til, at termiske fluktuationer gør dobbeltlagenes afgrænsning mere udefineret. Hvis de kosmotrope saltet øger de termiske fluktuationer ved højere temperaturer, vil det også øge de steriske kræfter og dermed kunne det forklare den øgede repeatafstand, vi observerer for NH₄Cl.

En teoretisk forklaring på, at en tilsætning af kosmotrope saltet kunne medføre øgede termiske fluktuationer kunne være, at de kosmotrope saltet ved at sænke entropien i vandet, gør det favorabelt for det samlede system, at entropien øges i lipiddobbeltlaget.

Det er også muligt at effekten af NH₄Cl på D_{min} -værdierne ikke er knyttet til saltets kosmotrope egenskaber, men skyldes andre specifikke egenskaber ved NH₄Cl. Vi er ikke gået nærmere ind i at undersøge, hvilke andre egenskaber NH₄Cl har, og vi kan selvfølgelig ikke afvise [Korreman, 2000b]'s hypotese om de kosmotrope saltes effekt på hydreringskraften alene på baggrund af målinger med NH₄Cl.

I forbindelse med både den generelle effekt af KBr og betydningen af NH₄Cl for den anomale swelling får vi resultater, der er i overensstemmelse med hypotesen i [Korreman, 2000b].

Betydningen af NH₄Cl for D_{min} -værdierne og [Korreman, 2000b]'s tilsvarende resultater for KF er imidlertid i modstrid med hypotesen i [Korreman, 2000b]. Vi finder det derfor usandsynligt, at denne hypotese giver en fyldestgørende forklaring på betydningen af kosmotrope saltet for de interlamellare kræfter.

Konklusion

Vi observerer i overensstemmelse med [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a], at jo mindre kædelængden er, jo større er den anomale swelling, ΔD . Denne systematik genfindes uafhængigt af, om vi tilslætter KBr, NaCl eller NH₄Cl, hvilket peger på, at kædelængdens betydning for den anomale swelling er bibeholdt trods andre ændringer af systemet. Dette er i overensstemmelse med formodningen om, at kritikaliteten af main faseovergangen er afgørende for den anomale swelling.

Vi finder, at ΔD generelt mindskes ved tilslætning af det kosmotrope salt NH₄Cl, og at ΔD vokser lidt ved tilslætning af det neutrale salt NaCl. Endvidere observerer vi, at ΔD stiger ved tilslætning af det kaotrope salt KBr, samt at denne effekt øges med kortere kædelængder. Systematikken i de udvalgte saltes effekt på ΔD stemmer endvidere overens med observationer og forklaringer i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b].

Vi konkluderer derfor, at vores udvalgte saltes indflydelse på ΔD i forlængelse af hypotesen i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b] kan karakteriseres ved deres kosmotrope og kaotrope egenskaber.

I overensstemmelse med resultater og hypoteser i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b] observerer vi, at repeatafstandens niveau i den flydende krystallinske fase, D_{min} , øges ved tilslætning af det kaotrope salt KBr. Samtidig ser vi, at det kosmotrope salt NH₄Cl har en tilsvarende effekt, og at effekten er større for NH₄Cl end for KBr ved målinger på DC₁₅PC og DPPC. Dette resultat er i modstrid med den foreslæde forklaring af saltenes betydning i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b]. Endelig har NaCl en usystematisk og relativ lille betydning for D_{min} .

Generelt er resultaterne for vores udvalgte saltes indflydelse på D_{min} altså ikke i overensstemmelse med den foreslæde forklaring i [Korreman, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000b].

D_{min} -værdiernes afhængighed af kædelængden ændres ved tilslætningen af salt, og de forskellige salte har forskellig betydning. For målinger med KBr falder størrelsen ($D_{min} - D_{min,vand}$) ved større kædelængde, mens den for målinger med NH₄Cl stiger ved større kædelængde. Størrelsen ($D_{min} - D_{min,vand}$) har en usystematisk kædelængdeafhængighed for målinger med NaCl.

Vi mener, at de store effekter, der ses på den anomale swelling ved at til sætte salt, og dermed forskyde de interlamellare kræfter, peger på, at ændringen af vandlagets tykkelse bidrager betydeligt til den anomale swelling. Sammenholdt med forklaringerne af salte og kædelængders betydning i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a] stemmer vores resultater desuden kvalitativt overens med DTU-modellen.

Vi har imidlertid ikke genfundet den sammenhæng mellem ΔD og $(T_m - T_c)$, som observeres i [Korreman, 2000b], [Korreman & Posselt, 2000b] og [Korreman & Posselt, 2000a]. Vi mener, at denne manglende sammenhæng indikerer, at DTU-modellen ikke kan give en fuldstændig forklaring af den anomale swelling.

Litteratur

- Adkins, C. J. [1983]. *Equilibrium Thermodynamics*, 3 edn, Cambridge University Press, Cambridge.
- Avanti Polar Lipids Inc. [2000]. Phosphatidylcholine (technical information).
URL: <http://www.avantilipids.com/pdf/Page69-70.pdf>
- Binder, H., Kohlstrunk, B. & Heerklotz, H. [1999]. A humidity titration calorimetry technique to study thermodynamics of hydration, *Chem. Phys. Lett.* **304**: 329–335.
- Bockris, J. O. & Reddy, A. K. N. [1970]. *Modern Electrochemistry - An Introduction to Interdisciplinary Area*, Vol. 1, Plenum Publishing Corporation, New York, USA.
- Callen, H. B. [1985]. *Thermodynamics and An Introduction to Thermostatistics*, 2 edn, John Wiley & sons.
- Cevc, G. (ed.) [1993]. *Phospholipids Handbook*, Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York.
- Cevc, G. & Marsh, D. [1987]. *Phospholipid Bilayers - Physical Principles and Models*, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
- Chapman, D., Peel, W. E., Kingston, B. & Lilley, T. H. [1977]. Lipid phase transitions in model biomembranes – the effect of ions on phosphatidylcholine bilayers, *Biochim. Biophys. Acta* **464**: 260–275.
- Franks, F. (ed.) [1973]. *Water – A Comprehensive Treatise – Aqueous Solutions of Simple Electrolytes*, Vol. 3, Plenum Publishing Corporation, New York, USA, chapter 5 Infrared Spectroscopy of Aqueous Electrolyte Solutions.
- Franks, F. (ed.) [1975]. *Water – A Comprehensive Treatise – Aqueous Solutions of Amphiphiles and Macromolecules*, Vol. 4, Plenum Publishing Corporation, New York, USA, chapter 1 The Hydrophobic interaction.
- Griffiths, D. J. [1999]. *Introduction to Electrodynamics*, Prentice Hall.

- Helfrich, W. [1978]. Steric interaction of fluid membranes in multilayer systems, *Z. NaturForsch.* **33a**: 305–315.
- Hønger, T., Mortensen, K., Ipsen, J. H., Lemmich, J., Bauer, R. & Mouritsen, O. G. [1994]. Anomalous swelling of multilamellar lipid bilayers in transition region by renormalisation of curvature elasticity, *Phys. Rev. Lett.* **72**(24): 3911–3914.
- Hong, M., Schmidt-Rohr, K. & Zimmermann, H. [1996]. Conformational constraints on the headgroup and *sn*-2 chain of bilayer DMPC from NMR dipolar couplings, *Biochem.* **35**: 8335–8341.
- Huang, T. C., Toraya, H., Blanton, T. N. & Y.Wu [1993]. X-ray powder diffraction analysis of silver behenate, a possible low-angle diffraction standard, *J. Appl. Cryst.* **26**: 180–184.
- Israelachvili, J. [1992]. *Intermolecular and surface forces*, 2 edn, Academic press, Bury St. Edmunds, Suffolk, England.
- Israelachvili, J. N. & Wennerström, H. [1992]. Entropic forces between amphiphilic surfaces in liquids, *J. Phys. Chem* **96**: 520–531.
- Janiak, M. J., Small, D. M. & Shipley, G. G. [1979]. Temperature and compositional dependences of the structure of hydrated dimyristoyl lecithin, *J. Bio. Chem.* **254**(13): 6068–6078.
- Kirchner, S. & Cevc, G. [1993]. Temperature variation of lipid membrane structure and the hydration force in fluid lamellar phase: Experimental studies with dimyristoylphosphatidylcholine multibilayers, *Europhys. Lett.* **23**(3): 229–235.
- Korreman, S. S. [1997]. *Anomal swelling af lipide dobbeltlag*, Master's thesis, RUC. Imfufa-tekst nr. 332.
- Korreman, S. S. [2000a]. Pers. komm.
- Korreman, S. S. [2000b]. *Structure and dynamics close to the main transition in phospholipid bilayers*, PhD thesis, IMFUFA, RUC.
- Korreman, S. S. & Posselt, D. [2000a]. Chain length dependence of anomalous swelling in multilamellar lipid vesicles, *Eur. Phys. J. E* **1**: 87–91.
- Korreman, S. S. & Posselt, D. [2000b]. Modification of anomalous swelling in multilamellar vesicles induced by alkali halide salts. To be published in *Eur. Biophys. J.*
- Koryta, J. [1991]. *Ions, electrodes, and membranes*, 2 edn, John Wiley & sons.

- Koynova, R., Brankov, J. G. & Tenchov, B. [1997]. Modulation of lipid phase behavior by kosmotropic and chaotropic solutes, *Eur. Biophys. J.* **25**: 261–274.
- Lemlich, J., Ipsen, J. H., Hønger, T., Jørgensen, K., Mouritsen, O. G., Mortensen, K. & Bauer, R. [1994]. Soft and repulsive: Relationship between lipid membrane in-plane fluctuations, bending rigidity, and repulsive undulation forces, *Mod. Phys. Lett. B* **8**(29): 1803–1814.
- Lemlich, J., Mortensen, K., Ipsen, J. H., Hønger, T., Bauer, R. & Mouritsen, O. G. [1995]. Pseudocritical behavior and unbinding of phospholipid bilayers, *Phys. Rev. Lett.* **75**(21): 3958–3961.
- Levine, I. N. [1995]. *Physical Chemistry*, 4 edn, McGraw-Hill, New York, USA.
- Lipowsky, R. & Grotehans, S. [1993]. Hydration vs. protrusion forces between lipid bilayers., *Europhys. Lett.* **23**(8): 599–604.
- Lipowsky, R. & Leibler, S. [1986]. Unbinding transitions of interacting membranes, *Phys. Rev. Lett.* **56**(23): 2541–2544.
- Marcelja, S. & Radic, N. [1976]. Repulsion of interfaces due to boundary water, *Chem. Phys. Lett.* **42**(1): 129–130.
- Marcus, Y. [1985]. *Ion solvation*, John Wiley & sons.
- Markova, N., Sparr, E., Wadsö, L. & Wennerström, H. [2000]. A calorimetric study of phospholipids hydration. simultaneous monitoring of enthalpy and free energy, *J. Phys. Chem. B* **104**: 8053–8060.
- Marra, J. & Israelachvili, J. [1985]. Direct measurement of forces between phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine bilayers in aqueous electrolyte solutions, *Biochem.* **24**: 4608–4618.
- Morrow, M. R., Whitehead, J. P. & Lu, D. [1992]. Chain-length dependence of lipid bilayer properties near the liquid crystal to gel phase transition, *Biophys. J.* **63**: 18–27.
- Mouritsen, O. G. [1991]. Theoretical models of phospholipid phase transitions, *Chem. Phys. Lip.* **57**: 179–194.
- Nagle, J. [1998]. Critical role of fluctuations in lipid bilayers, "Phase Transitions in Complex Fluids"(World Scientific, 1998) Eds. P. Toledano and A.M.F. Neto, pp. 247-269. .
- URL:** <http://bilayer.phys.cmu.edu/>
- Netz, R. R. & Lipowsky, R. [1993]. Unbinding og symmetric and asymmetric stacks og membranes, *Phys. Rev. Lett.* **71**(21): 3596–3599.

- Pedersen, H. B. & Jalving, J. [1998]. Salte i DMPC-dobbeltslag, Student report, IMFUFA, Roskilde University Center.
- Pedersen, J. S., Posselt, D. & Mortensen, K. [1990]. Analytical treatment of the resolution funktion for small-angle scattering, *J. Appl. Cryst.* **23**: 321–333.
- Rand, R. P. [1981]. Interacting phospholipid bilayers: Measured forces and induced structural changes, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **10**: 277–314.
- Simon, S. A., Fink, C. A., Kenworthy, A. K. & McIntosh, T. J. [1991]. The hydration pressure between lipid bilayers, *Biophys. J.* **59**: 538–546.
- Wack, D. C. & Webb, W. W. [1988]. Synchrotron x-ray study of the modulated lamellar phase $P_{\beta'}$ in the lecithin-water system, *Phys. Rev. A* **40**(5): 2712–2730.
- Weast, R. C. (ed.) [1980]. *Handbook of Chemistry and Physics*, 60 edn, Chemical Rubber Publishing Company, Florida, USA.
- Zhang, R., Sun, W., Tristam-Nagle, S., Headrick, R., Suter, R. M. & Nagle, J. F. [1994]. Critical fluctuations in membranes, *Phys. Rev. Lett.* **74**(14): 2832–2835.

A Elektrostatiske kræfter

I det følgende gennemgår vi de beregninger, som vi har foretaget for at få en forståelse af, hvorfor de elektrostatiske kræfter mellem de zwitterioniske overflader ikke er af væsentlig betydning. Resultaterne og diskussionerne af disse er gennemgået i afsnit 2.2.

Vi tager udgangspunkt i følgende idealiserede situation. Zwitterionerne kan beskrives ved ideelle dipoler, der ligger i hver deres plan. Dipolerne flyder rundt således, at der i ethvert punkt i planen er lige stor sandsynlighed for at finde en dipol. Derudover er enhver orientering i planen lige sandsynlig. Sidstnævnte betyder, at tangentialkomposanten af dipolerne midlet over tid og sted er nul. I modsætning hertil antages det, at middelværdien af normalkomposanten er forskellig fra nul.

I vakuum er feltet fra en dipol \mathbf{P} givet ved:

$$\mathbf{E}_{dipol} = \frac{3(\mathbf{P} \cdot \hat{\mathbf{R}})\hat{\mathbf{R}} - \mathbf{P}}{4\pi\epsilon_0 R^3}, \quad (1)$$

hvor \mathbf{R} er stedvektoren fra \mathbf{P} til det punkt, hvor feltet evalueres. R angiver normen af \mathbf{R} og $\hat{\mathbf{R}} = \mathbf{R}/R$. [Griffiths, 1999, side 155]

I de multilamellare vesikler vekselvirker zwitterionerne gennem vand. Da hele området mellem dipolerne er opfyldt af vandet, bevirket dette blot, at ϵ_0 skal udskiftes med dielektricitetskonstanten for vand, ϵ .

Da elektrostatiske felter er additive, er det oplagt, at feltet fra en dipol kan adskilles i feltet fra henholdsvis dipolens tangential- og normalkomposant, hvilket man også kan overbevise sig om ud fra ligning 1.

Den nettokraft et elektrisk felt, \mathbf{E} , påvirker en ideel dipol, \mathbf{P} , med er givet ved

$$\mathbf{F} = (\mathbf{P} \cdot \nabla)\mathbf{E} \quad (2)$$

[Griffiths, 1999, side 165].

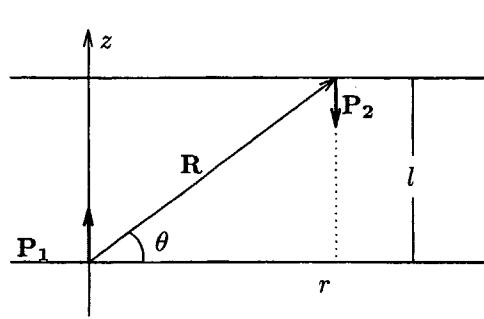
Denne kraft kan også opdeles i en sum af kraften på normalkomposanten og kraften på tangentialkomposanten.

Den ovenfor beskrevne additivitet af kræfterne mellem dipolerne betyder, at den samlede kraft på dipolen kan behandles opdelt mellem de normale

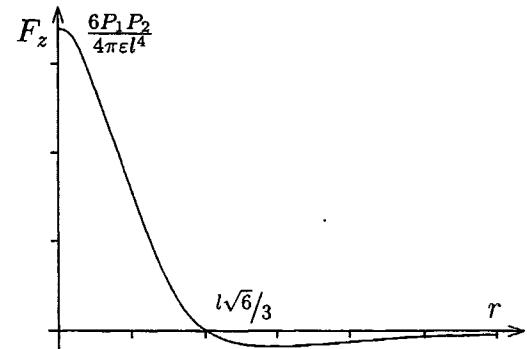
komposanters påvirkning af henholdsvis normal- og tangentialkomposanter og omvendt. Det giver i alt fire bidrag.

I sidste ende er vi interesserede i den samlede kraft på et dobbeltlag fra et andet dobbeltlag, beregnet som et middel over tid og sted. Derfor giver de tre tilfælde som involverer tangentialkomposanterne ikke noget bidrag. Dette skyldes, at middelværdien af tangentialkomposanterne er nul.

For enhver kraft virkende på eller hidrørende fra en tangentialkomposant findes en modsatrettet kraft fra en anden modsatrettet og lige så sandsynlig placering af en tangentialkomposant.



Figur A.1 Skitse over to dipoler hvis indbyrdes elektrostatiske kraftpåvirkning vi betragter.



Figur A.2 F_z angivet som funktion af r .

Vi vil derfor nøjes med at beregne kræften mellem de normalrettede dipoler. Som udgangspunkt betragter vi to ideelle dipoler, hvis placering og orientering er som skitseret i figur A.1. Vi beregner z -komposanten af den kraft \mathbf{P}_1 påvirker \mathbf{P}_2 med, idet det kun er z -komposanten, der giver anledning til en tiltrækkende eller frastødende kraft på laget af dipoler betragtet som helhed. Det giver følgende udtryk:

$$F_z = \frac{3lP_1P_2}{4\pi\epsilon} \left(\frac{-3r^2 + 2l^2}{(r^2 + l^2)^{(7/2)}} \right). \quad (3)$$

Denne krafts afhængighed af r er skitseret i figur A.2. Kraften bliver positiv og dermed frastødende for $r < (l\sqrt{6})/3$, mens den for større værdier af r bliver negativ og altså tiltrækkende. Positionen af skiftet mellem tiltrækkende og frastødende kræfter er uafhængig af P_1 , P_2 og ϵ , og $r = (l\sqrt{6})/3$ svarer uafhængigt af l til en vinkel $\theta = 0,28\pi$. Ikke overraskende går kraften mod nul, for r gående mod uendelig.

For at opnå \mathbf{P}_1 's påvirkning af hele den flade som \mathbf{P}_2 tænkes at befinde sig

i integreres F_z op over planen, hvilket giver et samlet bidrag på:

$$\int_0^\infty \int_0^{2\pi} F_z r d\varphi dr = \int_0^\infty F_z 2\pi r dr = 0, \quad (4)$$

hvor φ er azimutalvinklen, og det første lighedstegn følger af, at F_z ikke afhænger af denne.

For at få den samlede kraft fra det plan P_1 befinder sig i, på det plan P_2 befinder sig i, skal der principielt også integreres op over P_1 -planen. Dette ændre selvfølgelig ikke på, at den samlede kraft bliver nul.

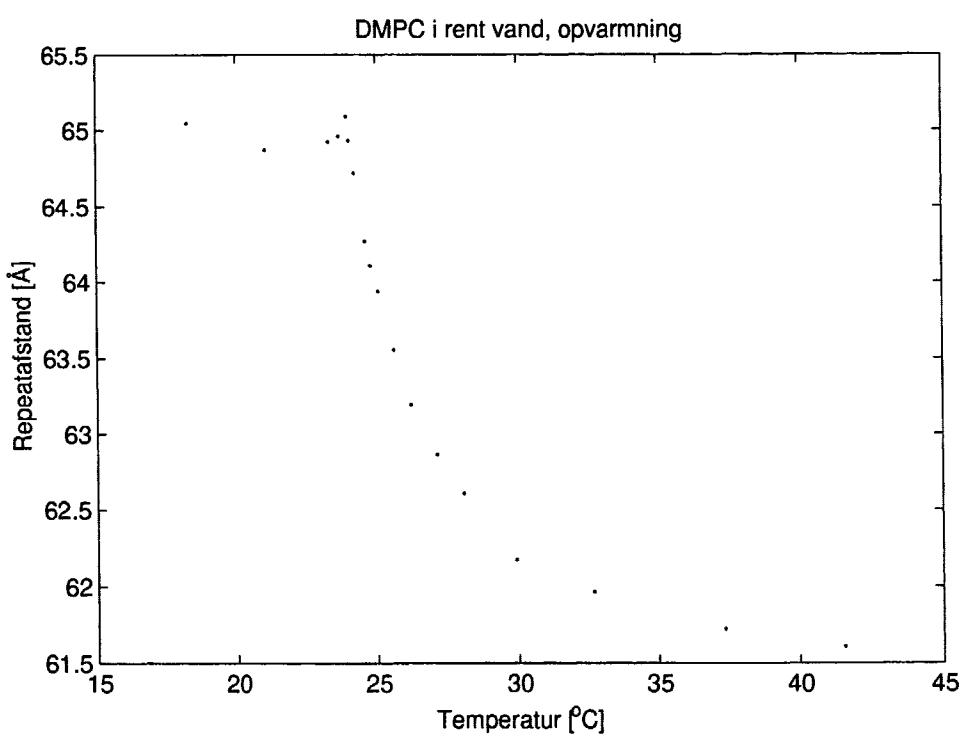
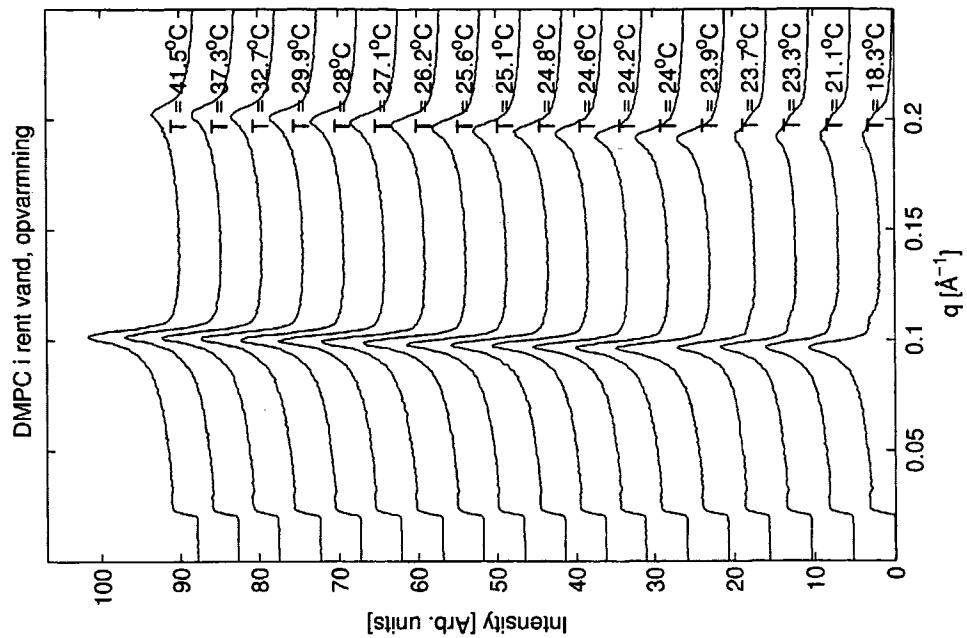
B Resultater

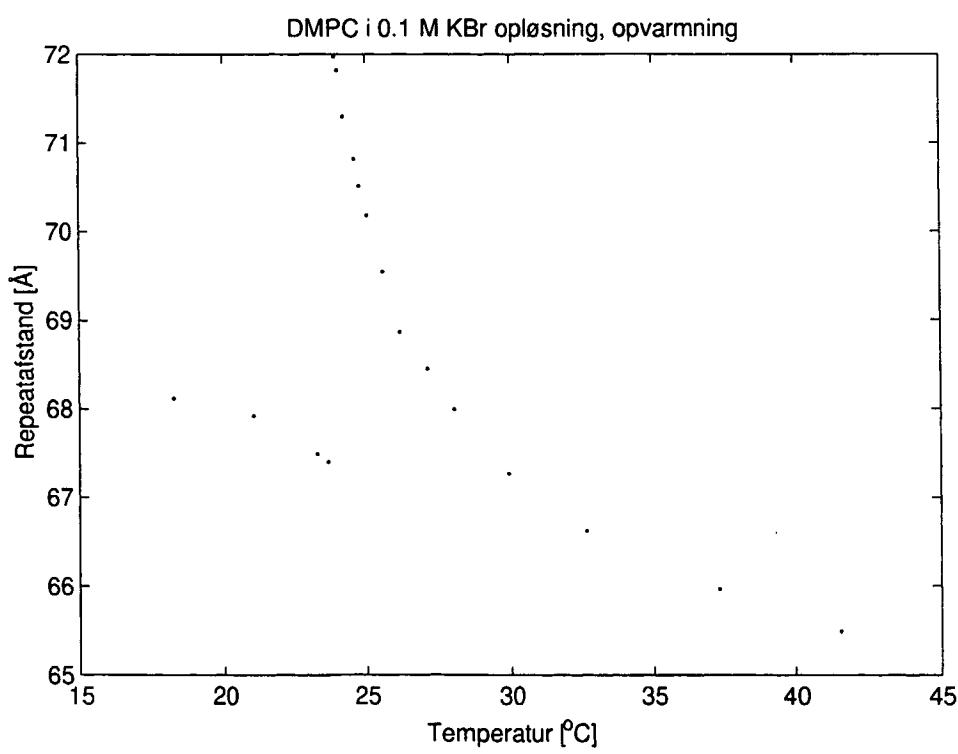
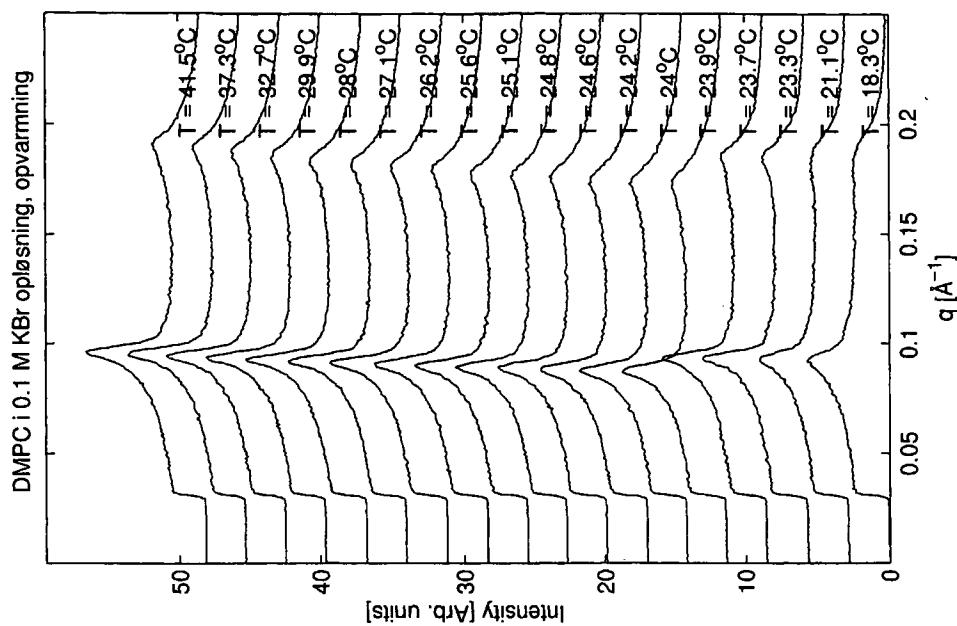
På de følgende sider vises resultaterne af alle vores målinger. For hver måle-serie er der vist en (I, q) -graf for hver temperatur, og den tilsvarende repeat-afstand er afbilledet på en (T, D) -graf.

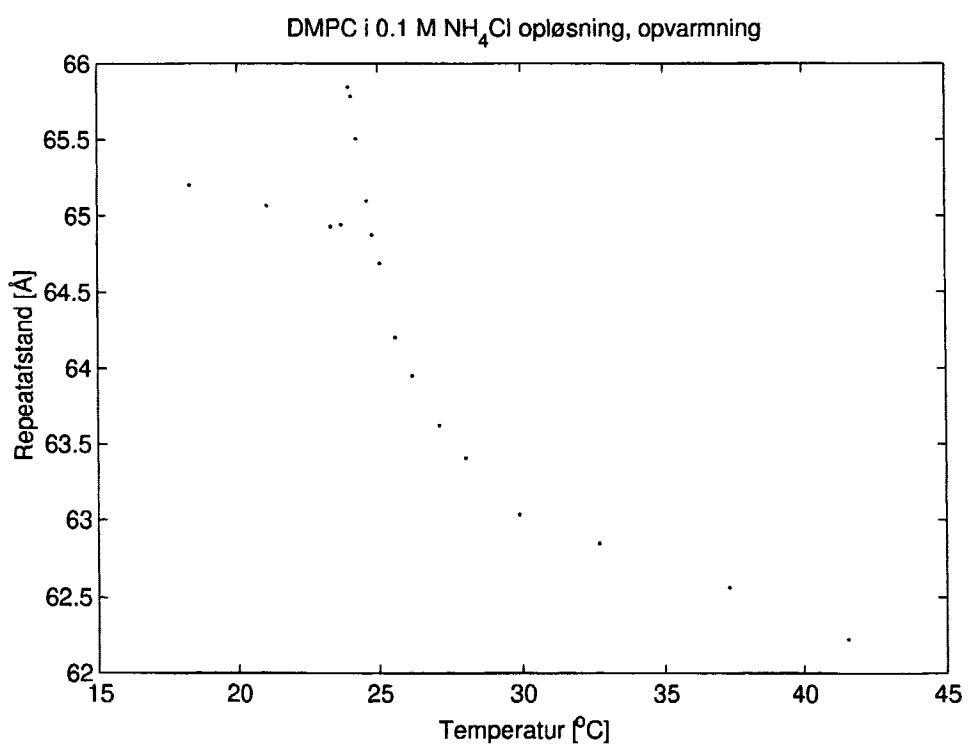
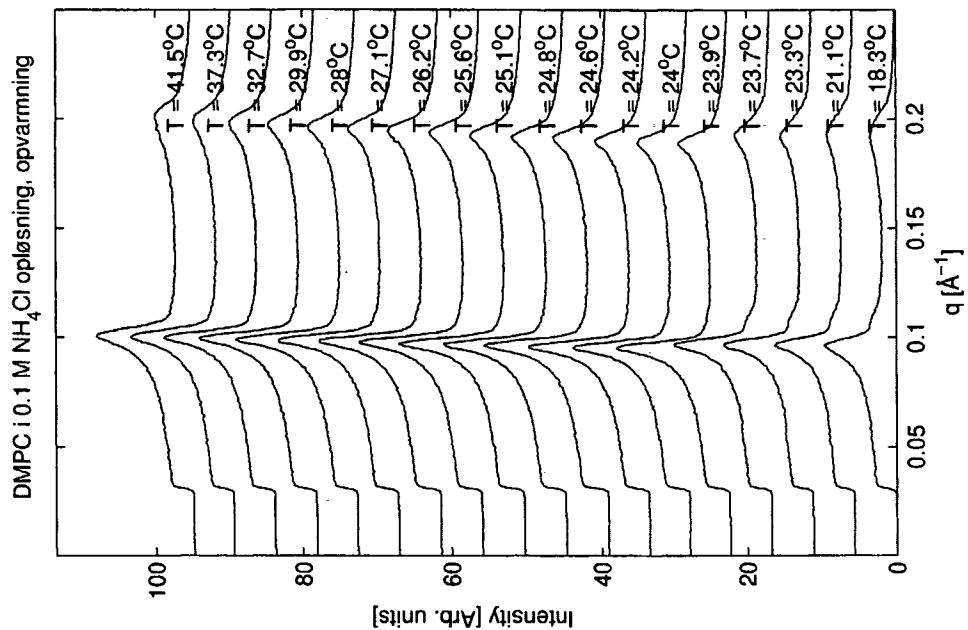
Først vises de målinger, som blev præsenteret og analyseret i kapitel 7 og 8, i følgende rækkefølge DMPC, DC₁₅PC og DPPC. For hver kædelængde vises først målingen i rent vand og derefter i KBr-opløsning, NH₄Cl-opløsning og sidst NaCl-opløsning.

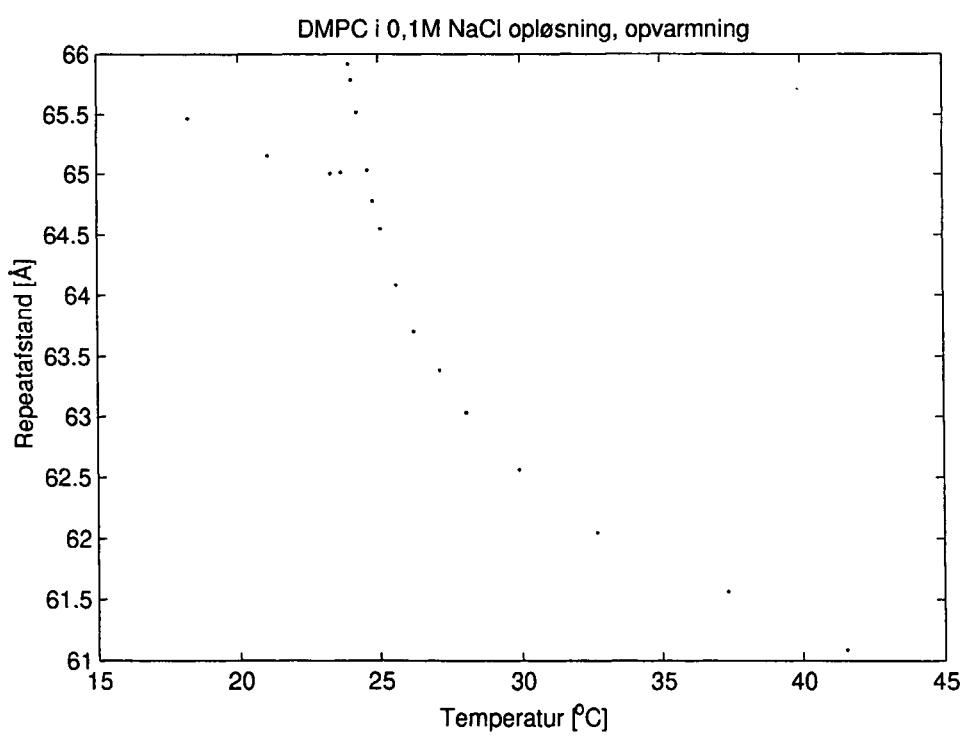
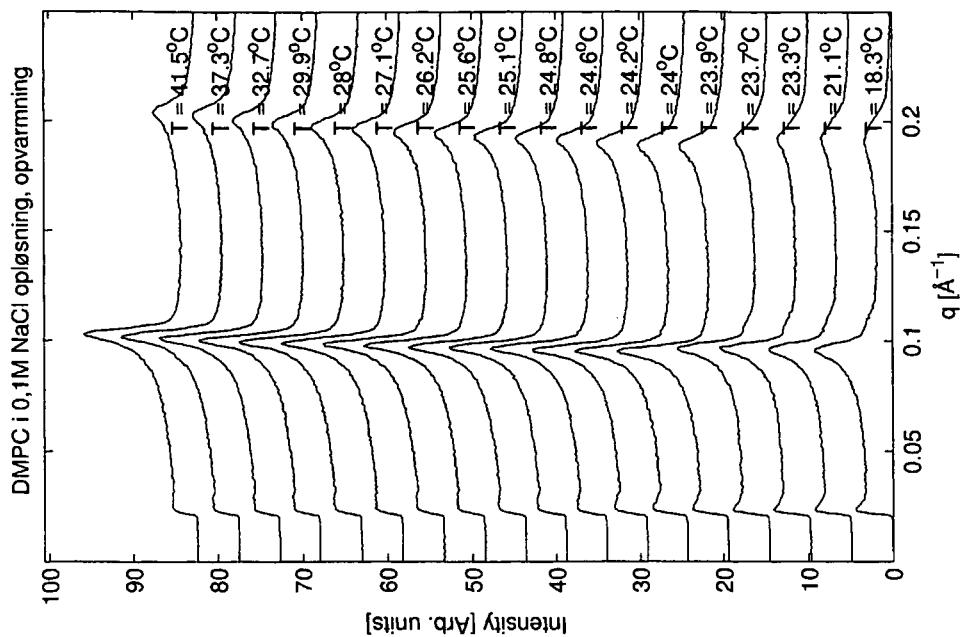
Sidst vises resultaterne fra de sideløbende undersøgelser.

B.1 DMPC

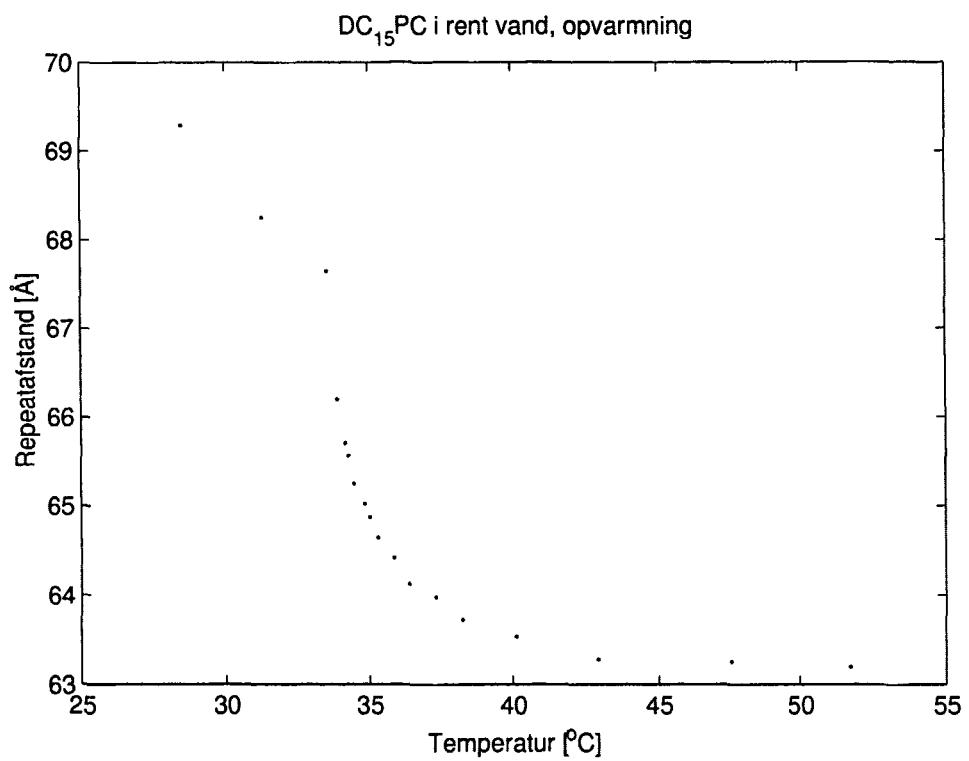
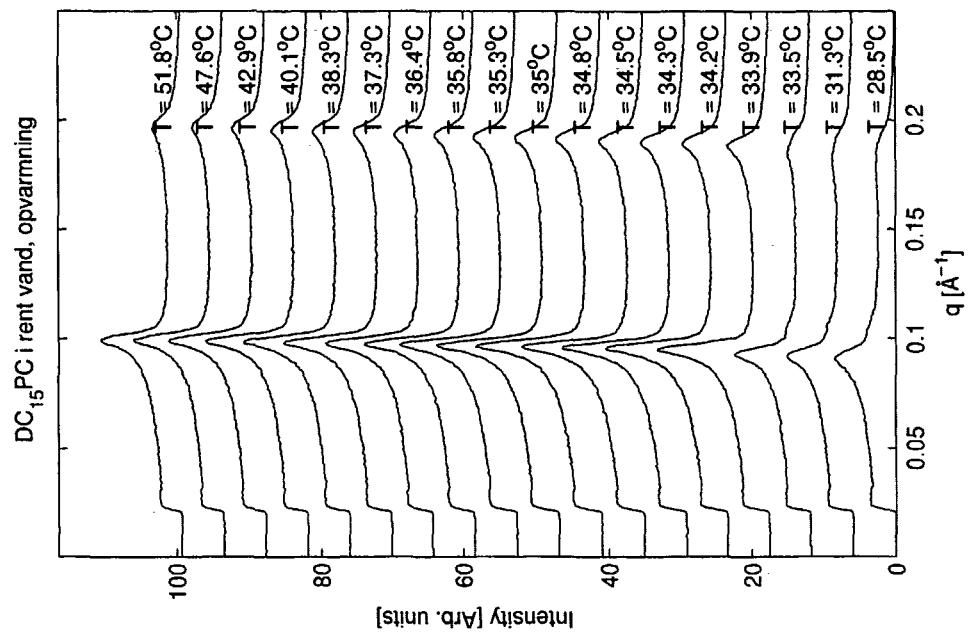


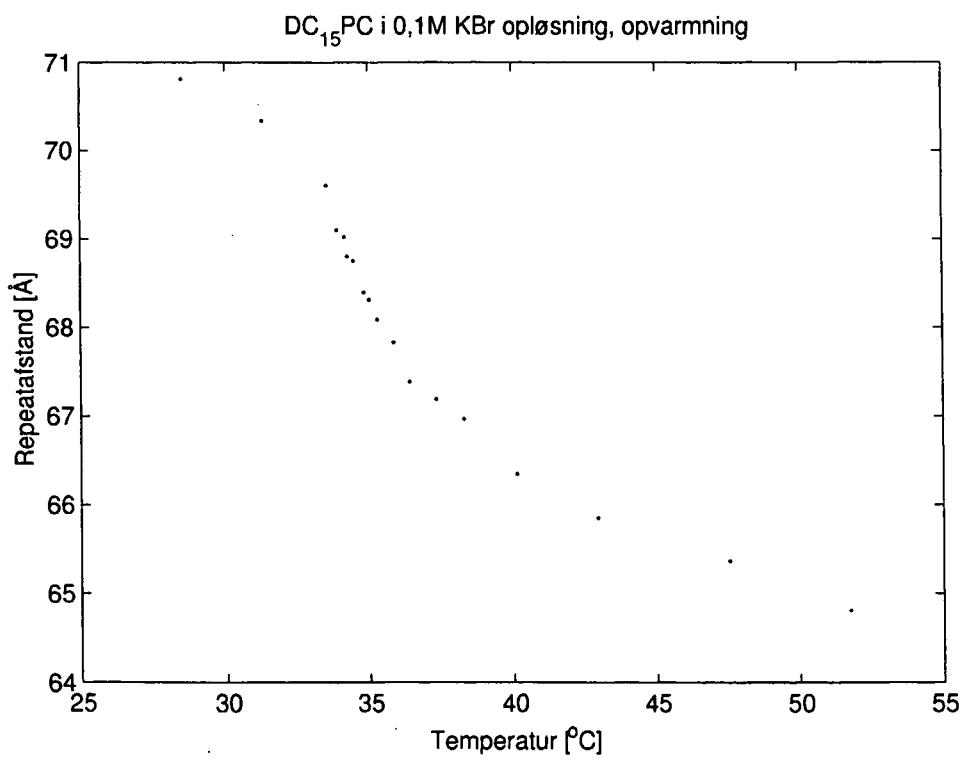
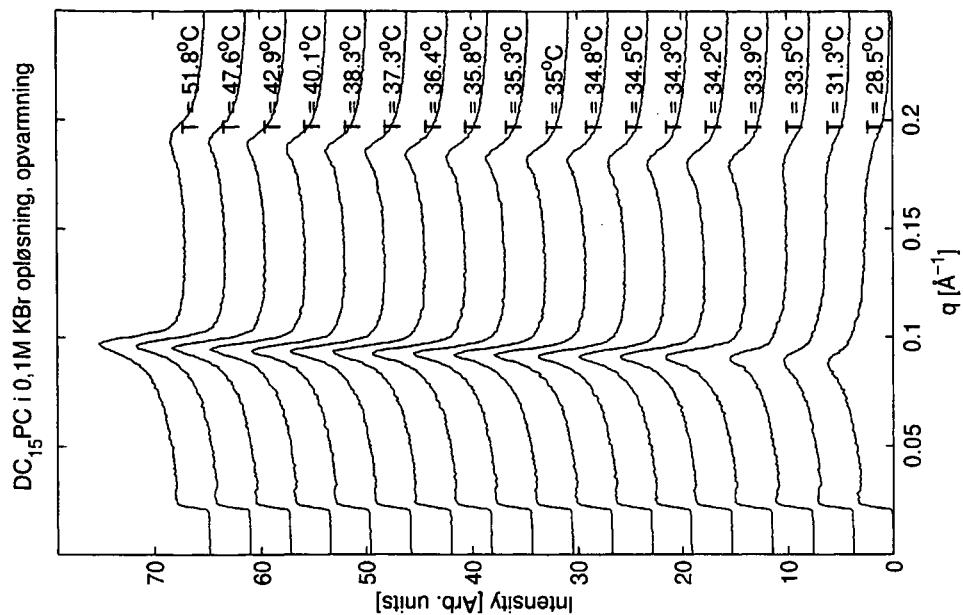


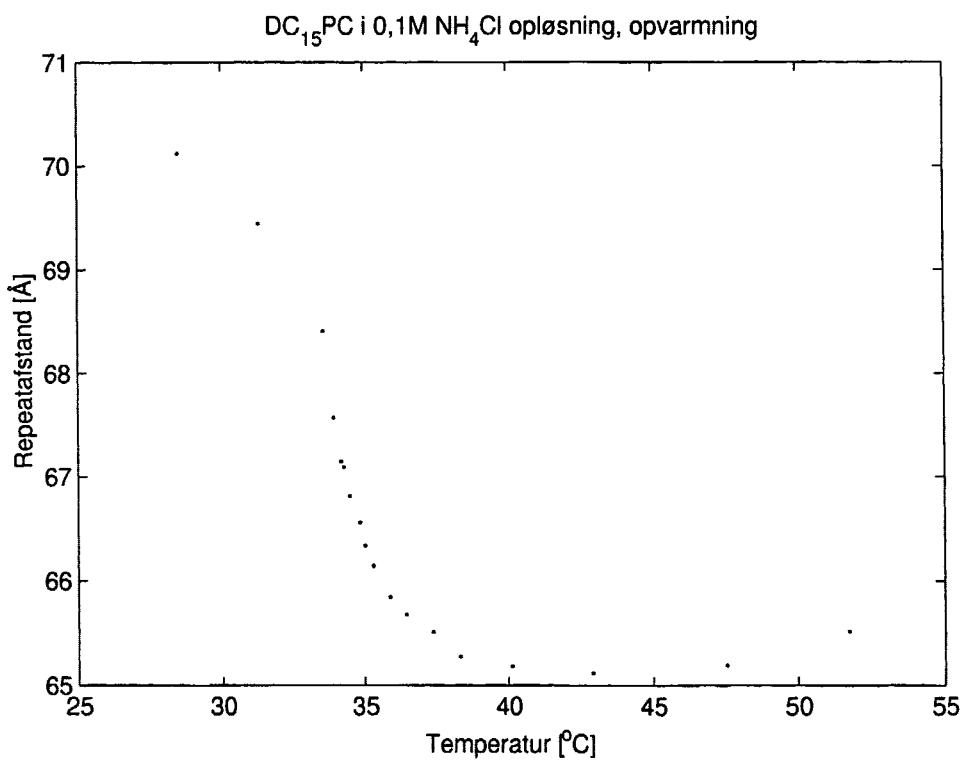
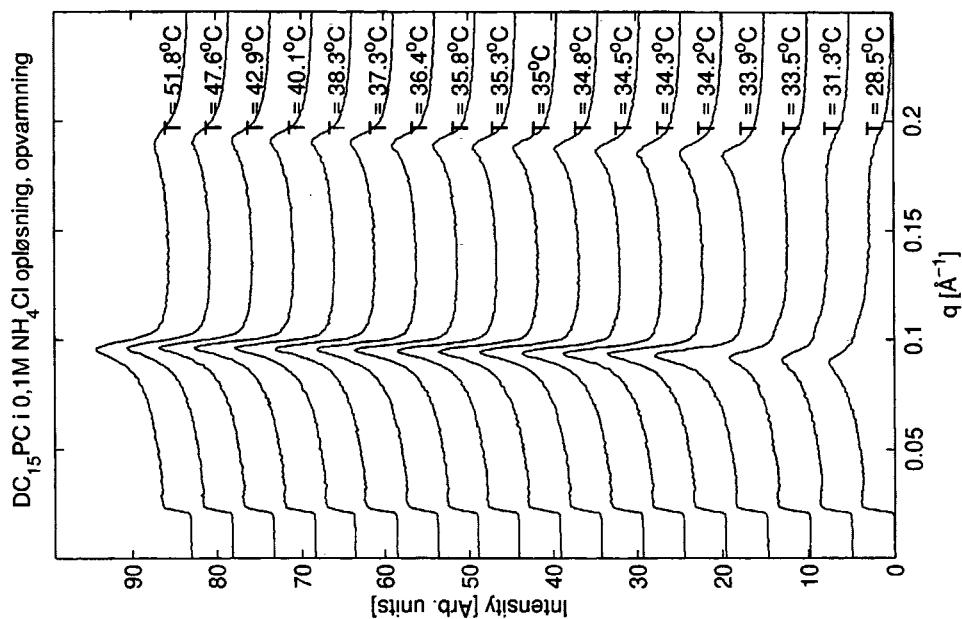


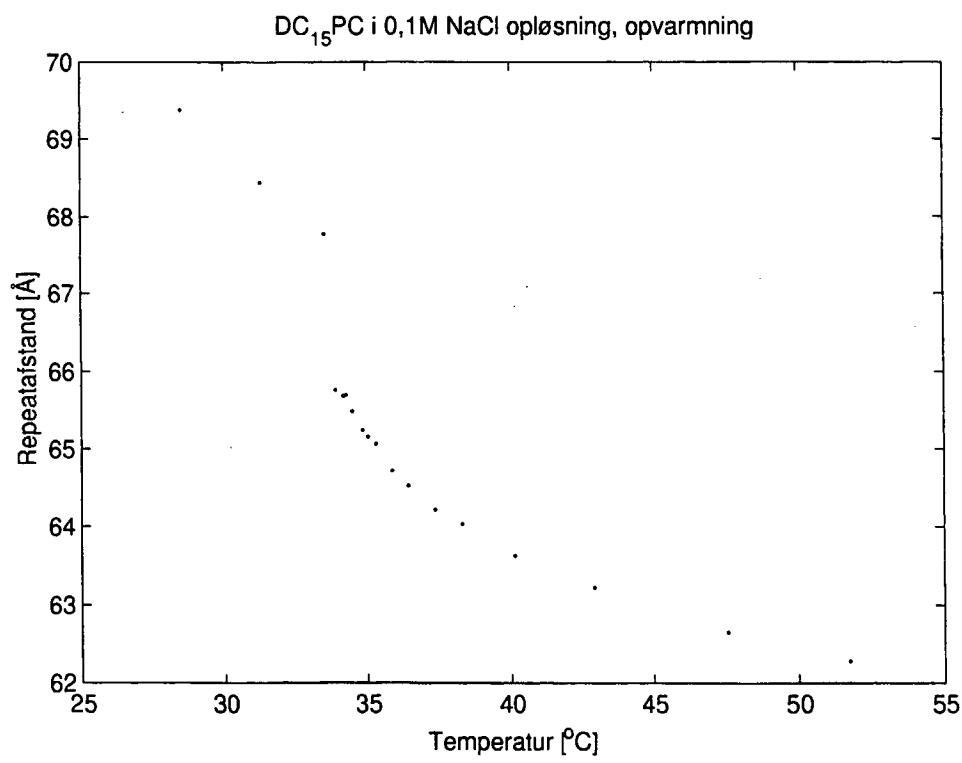
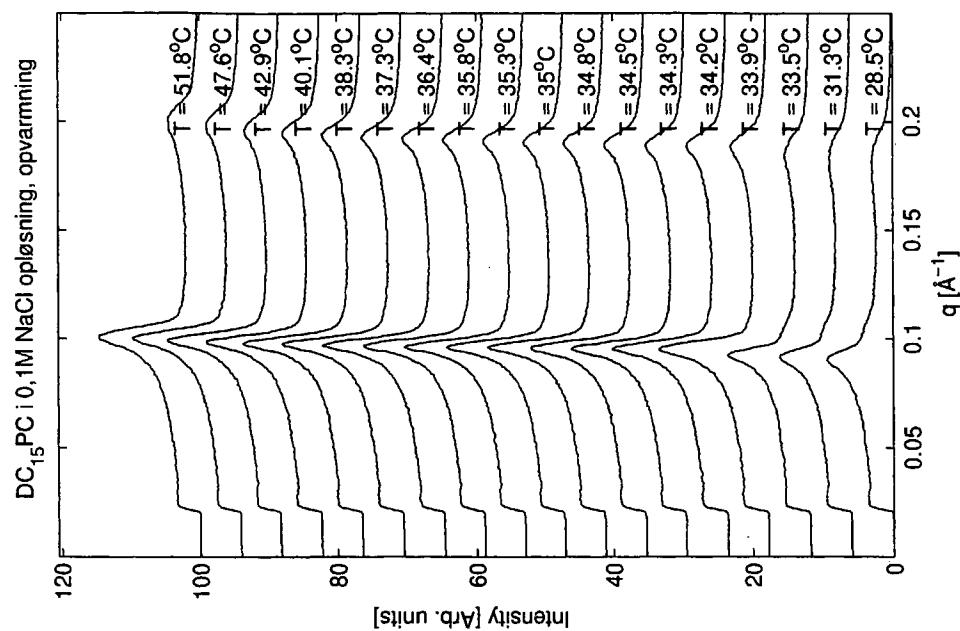


B.2 DC₁₅PC

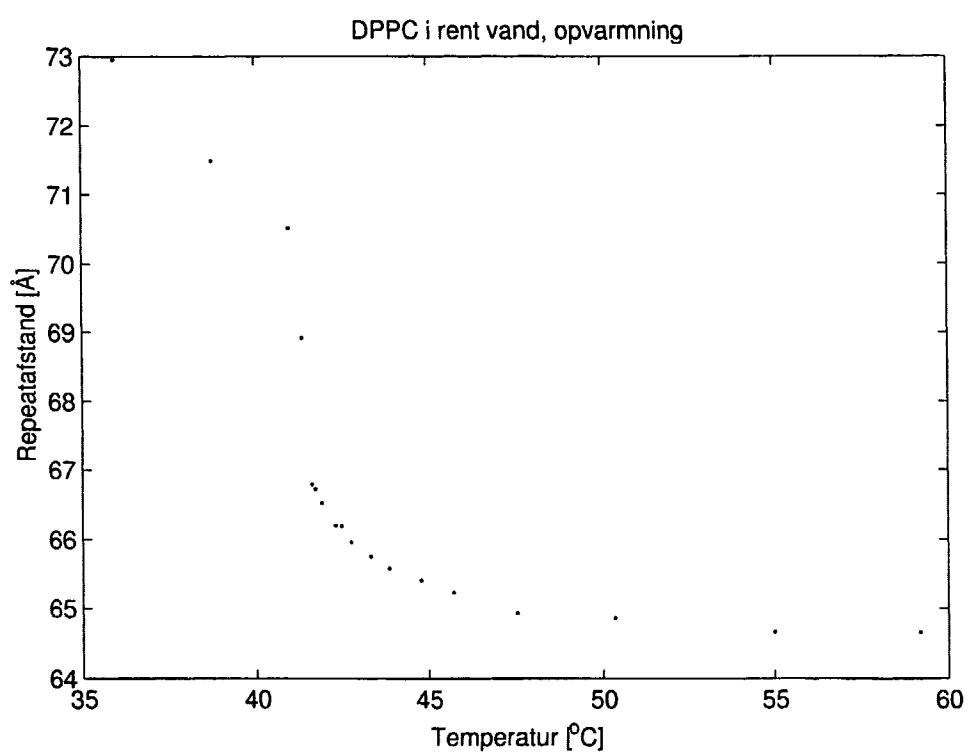
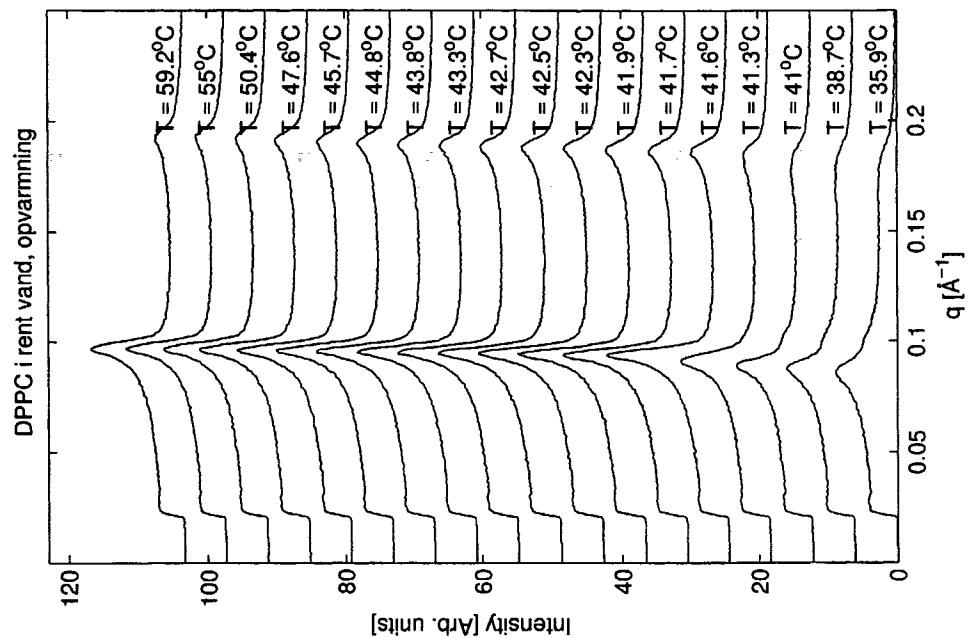


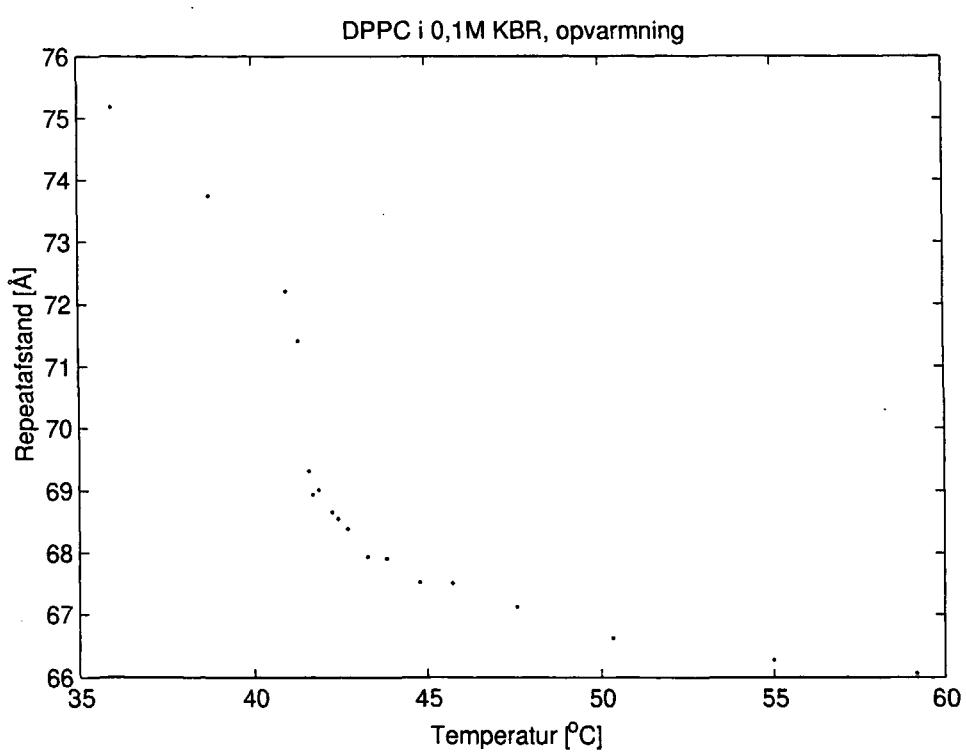
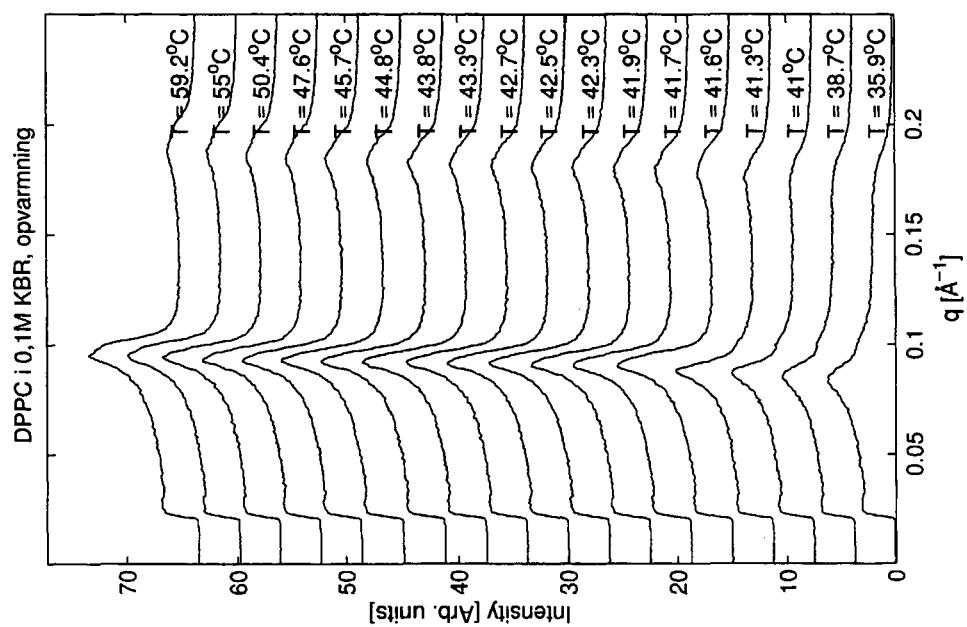


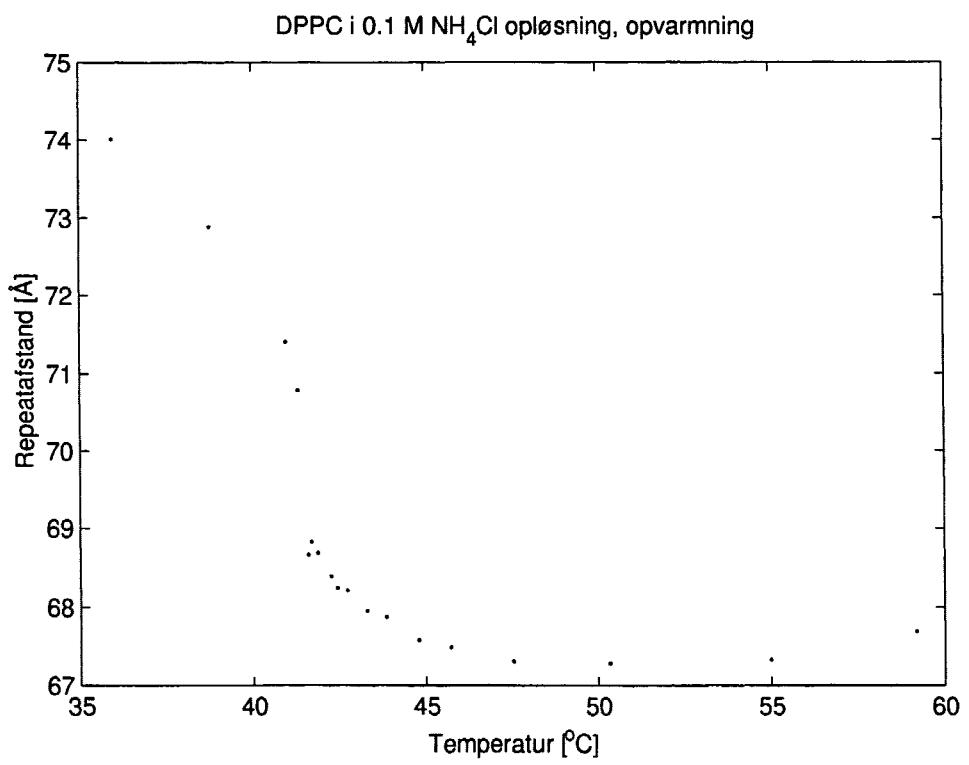
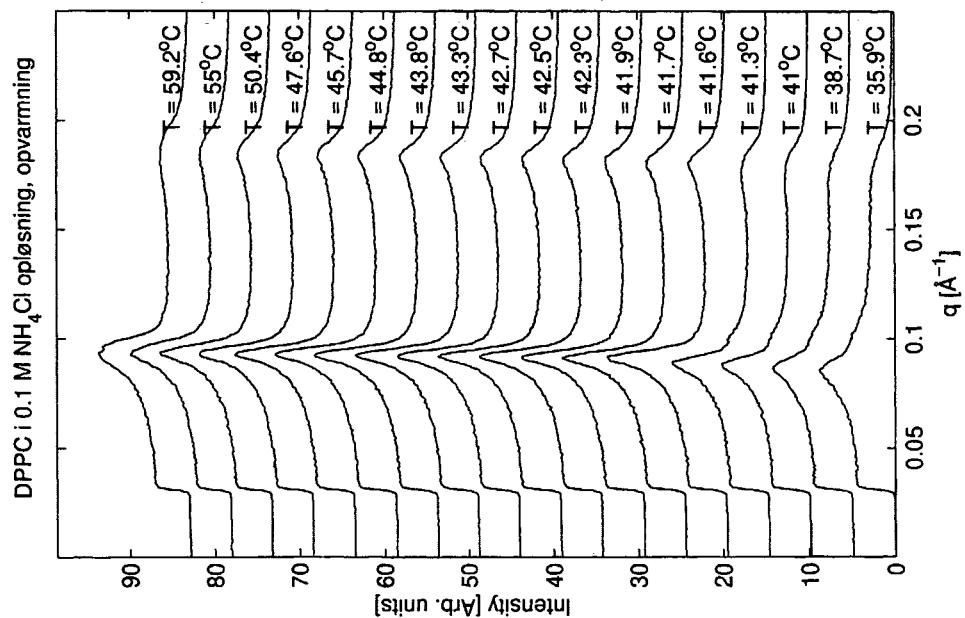


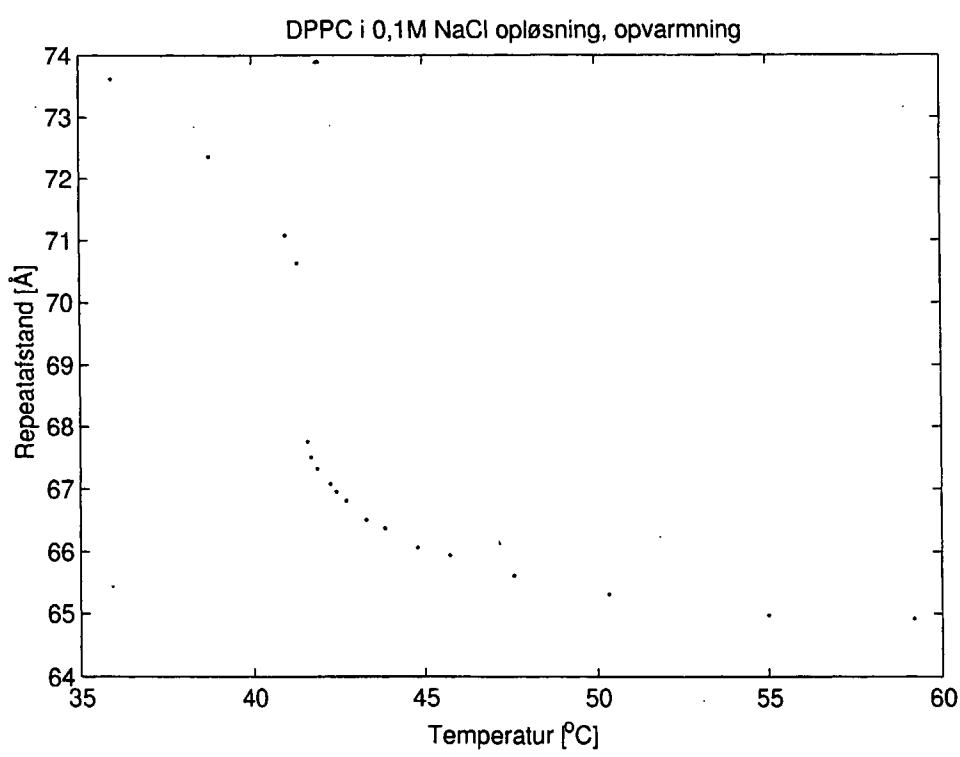
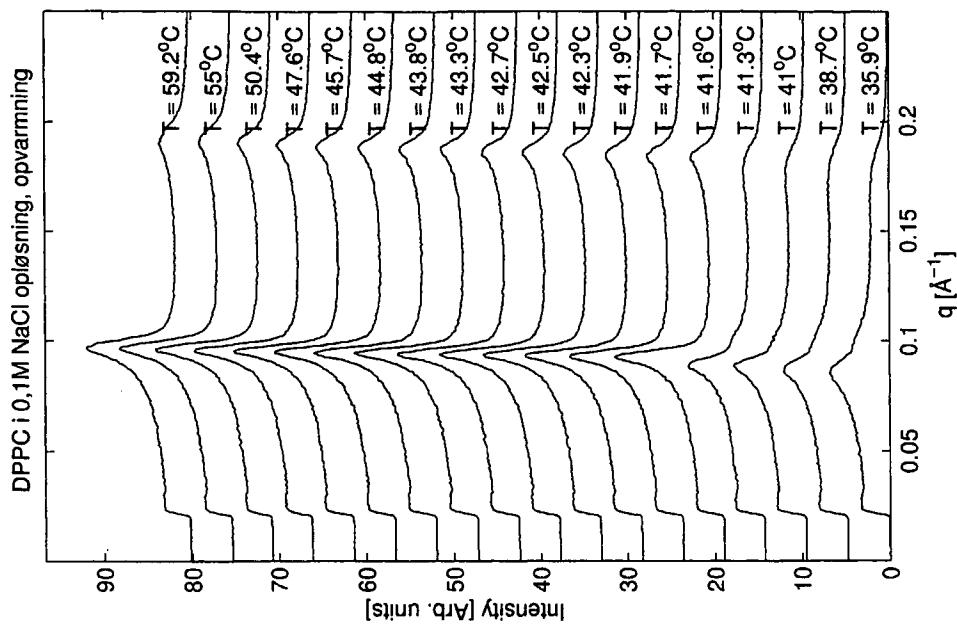


B.3 DPPC

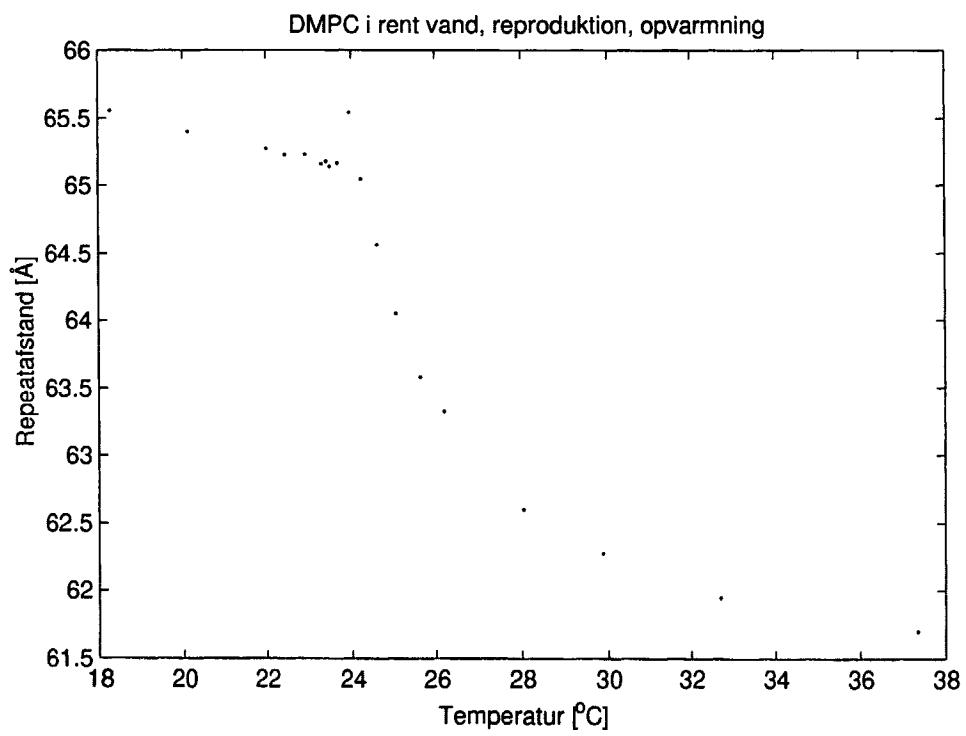
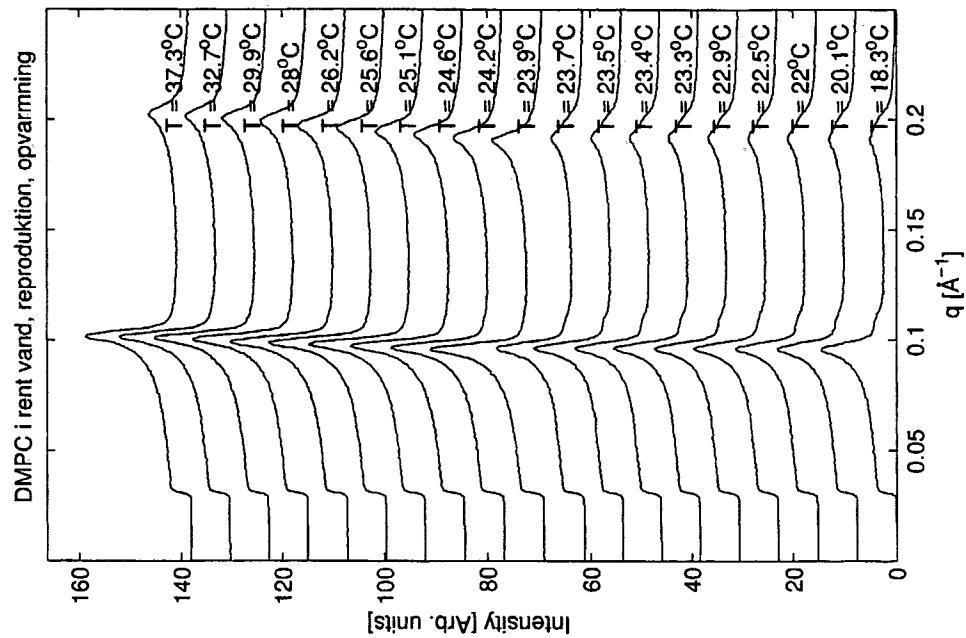


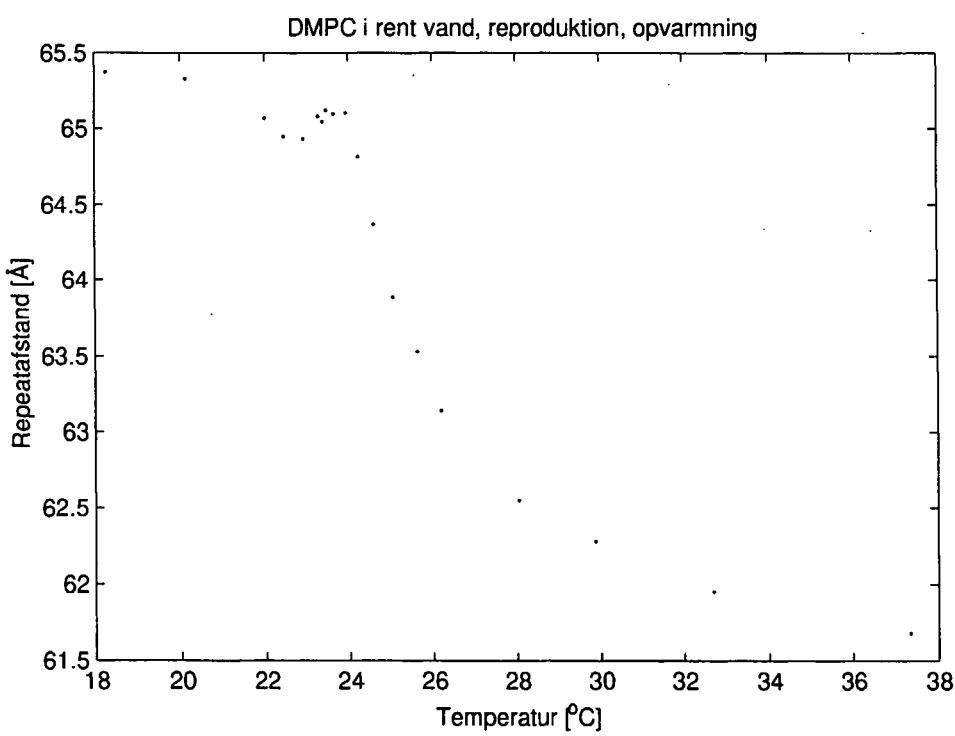
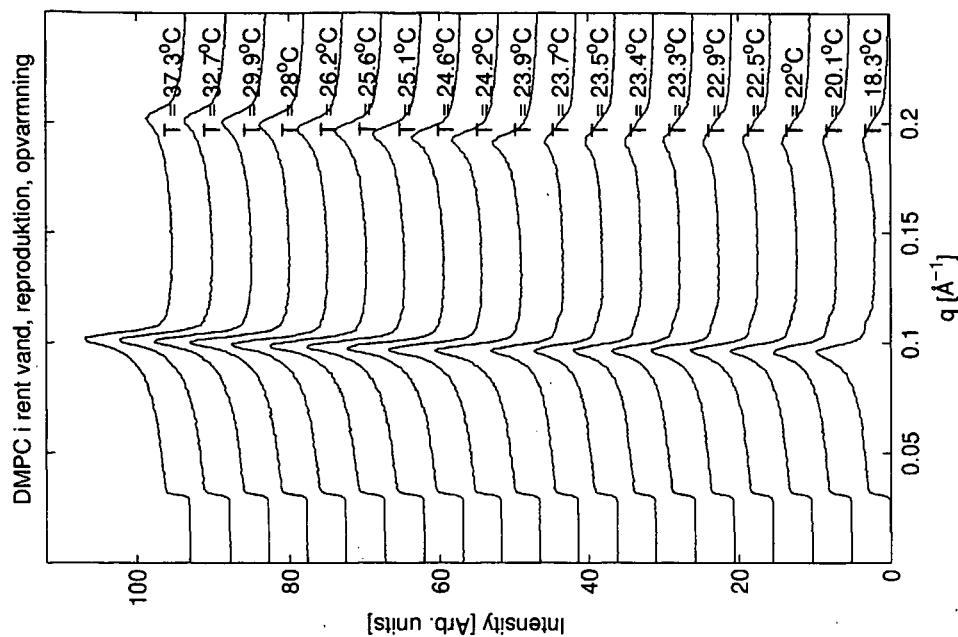


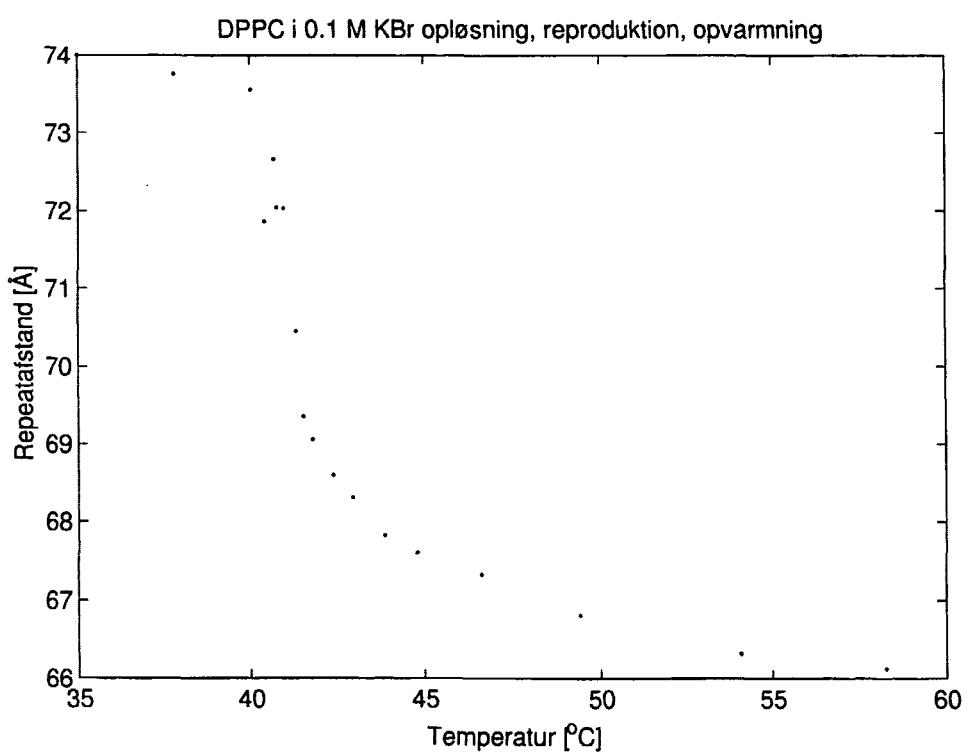
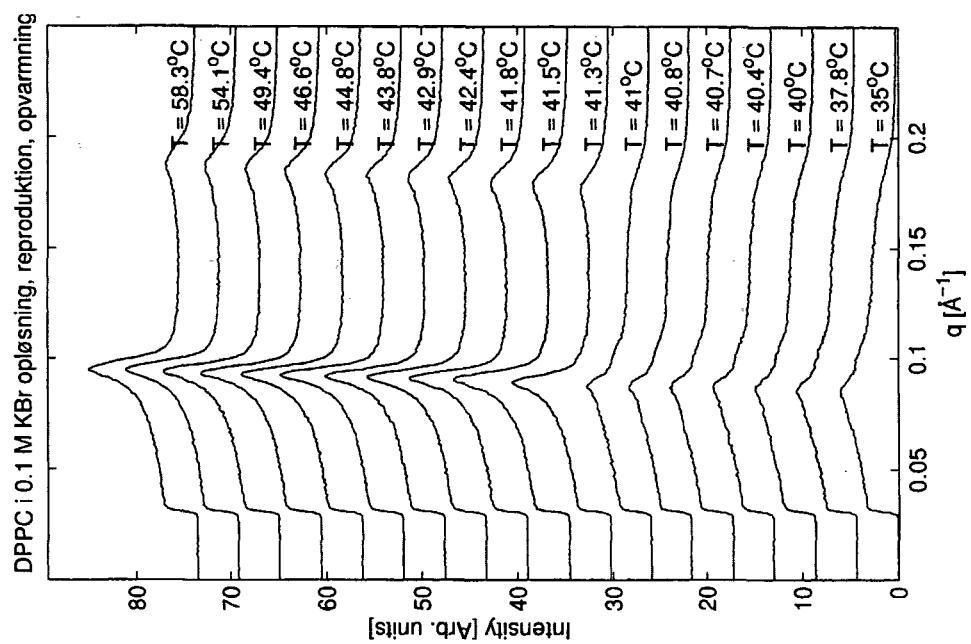


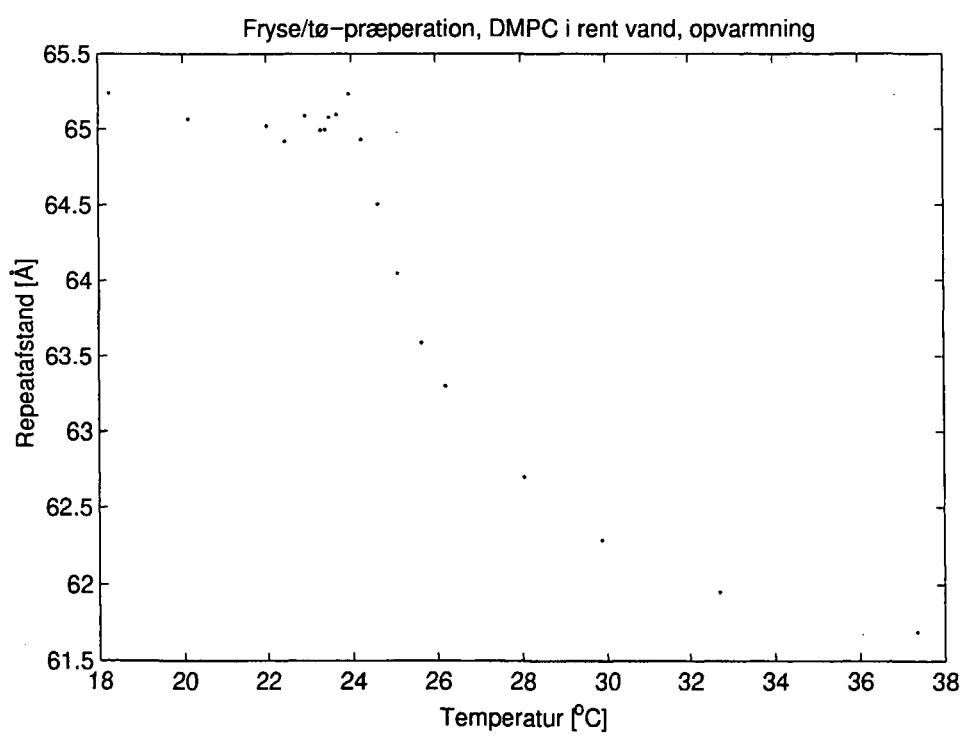
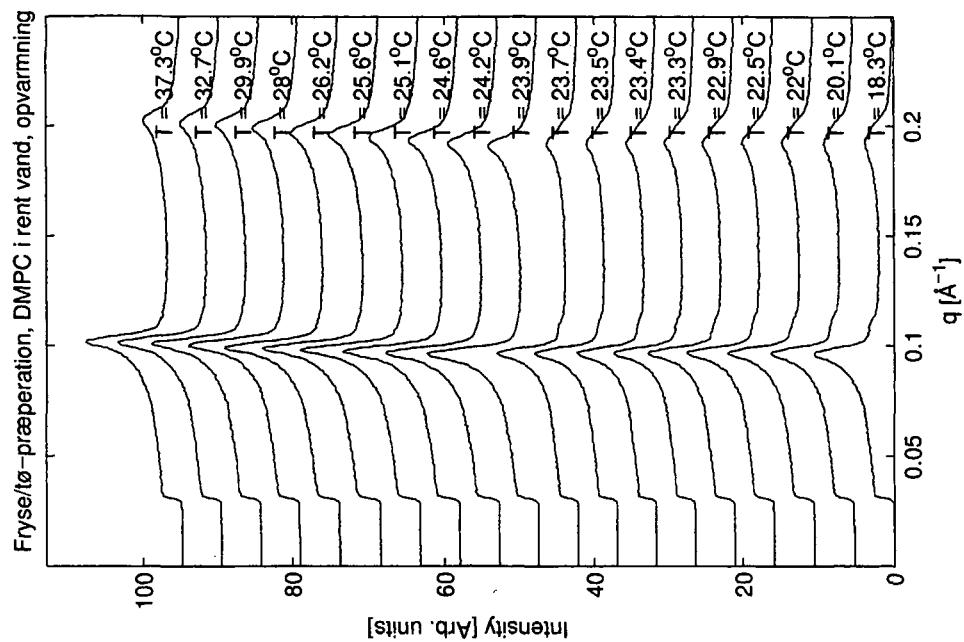


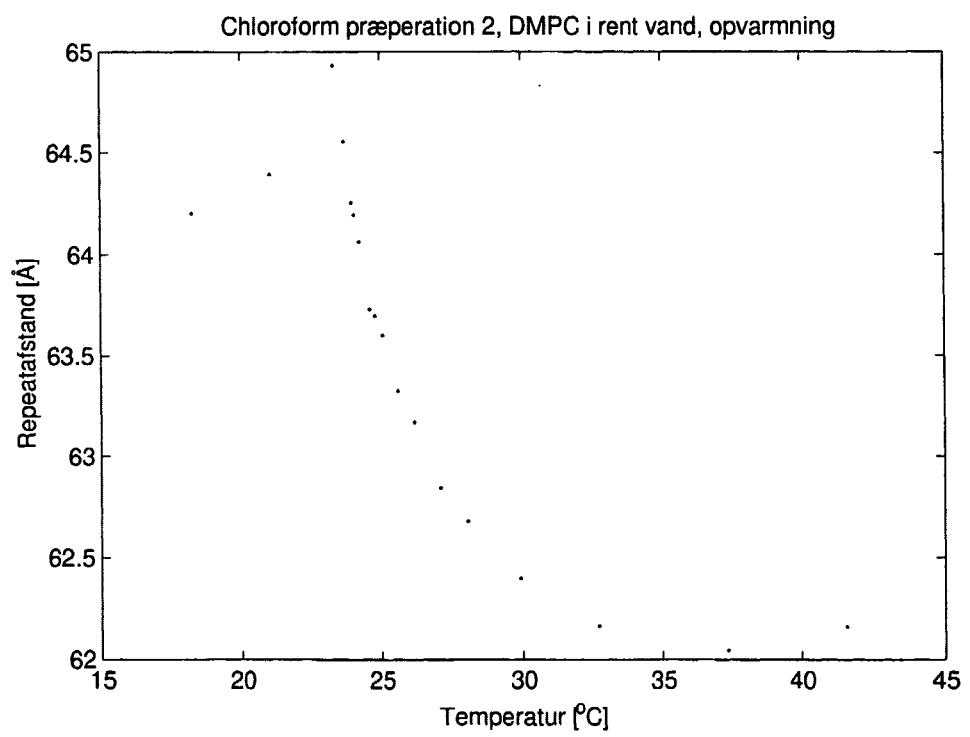
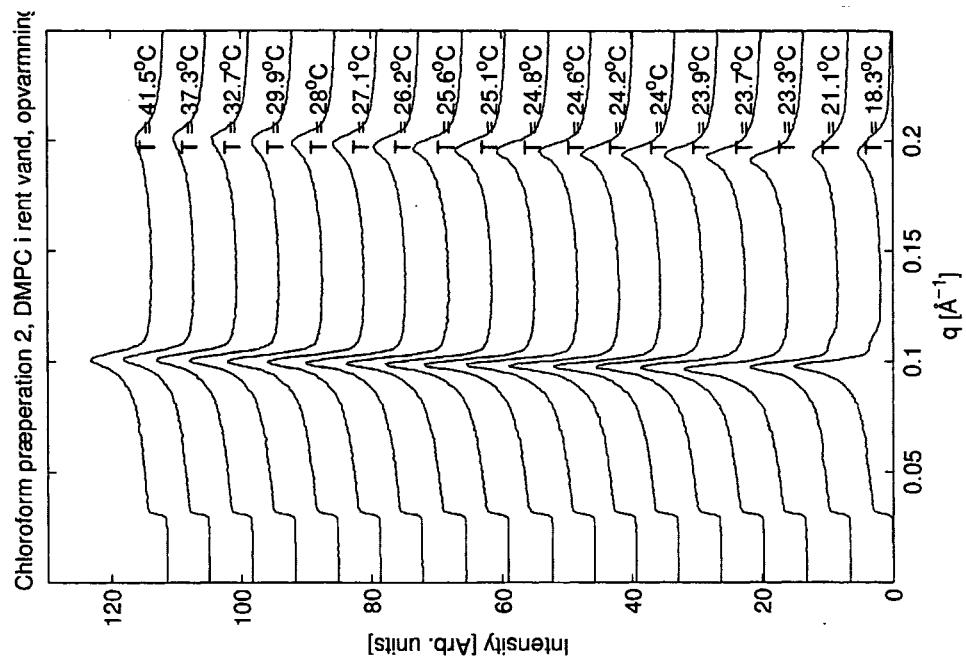
B.4 Sideløbende undersøgelser

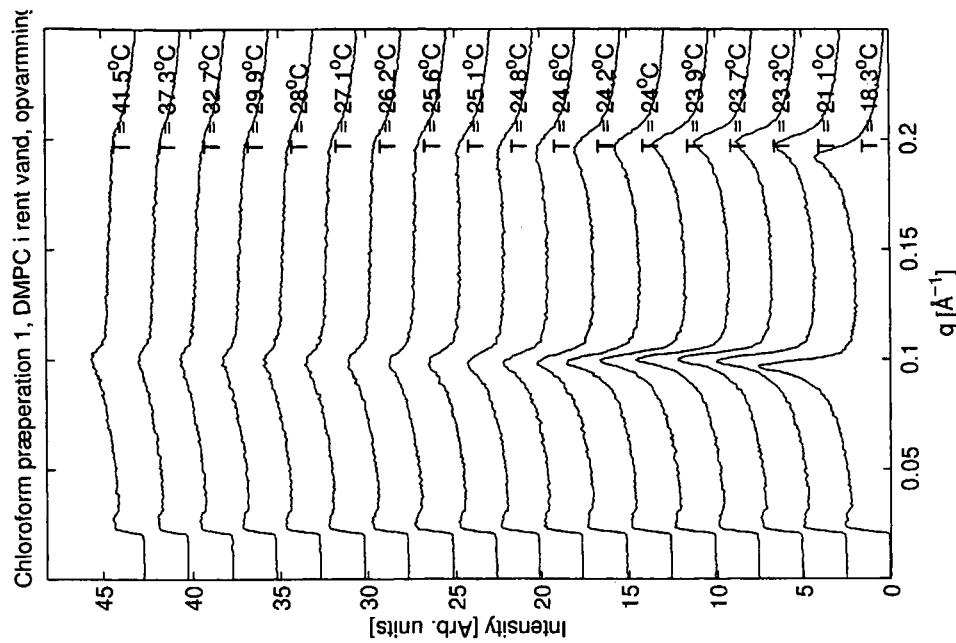


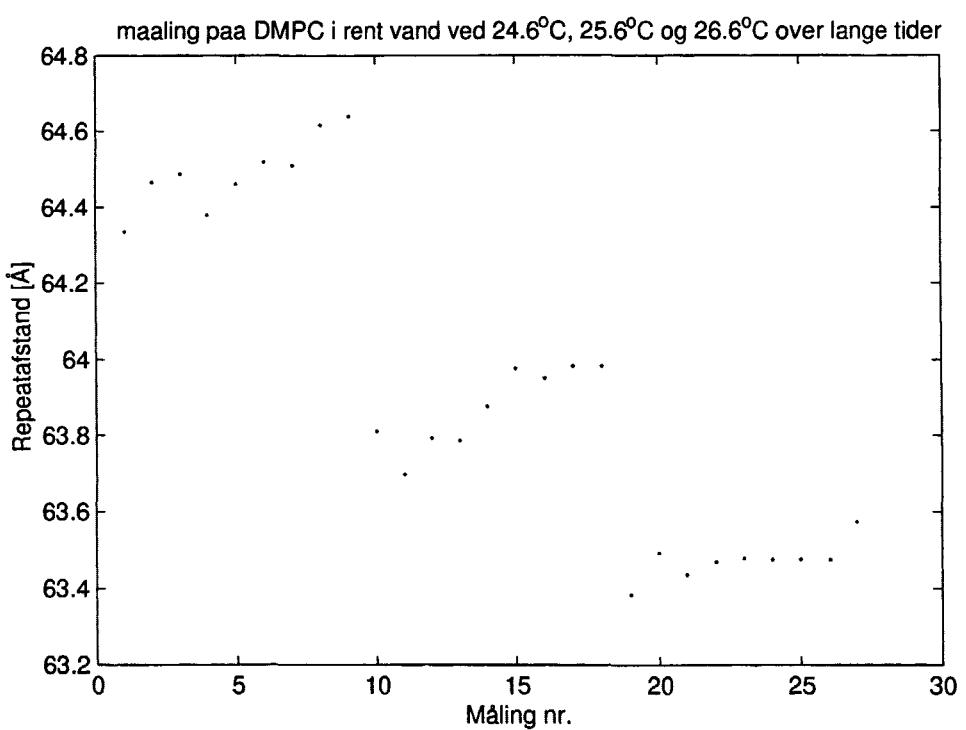
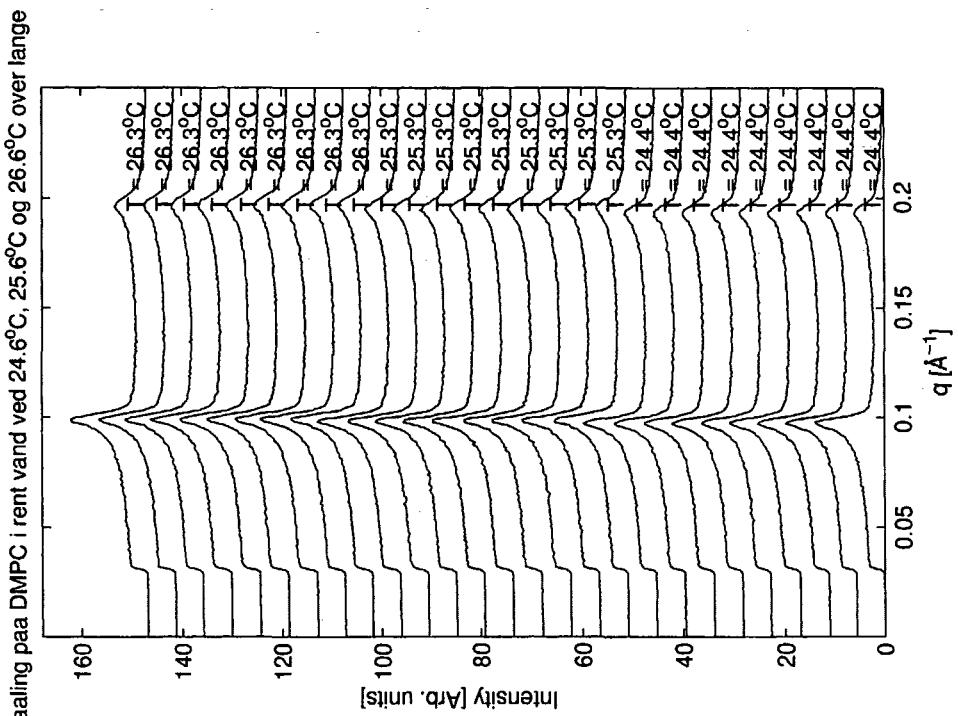


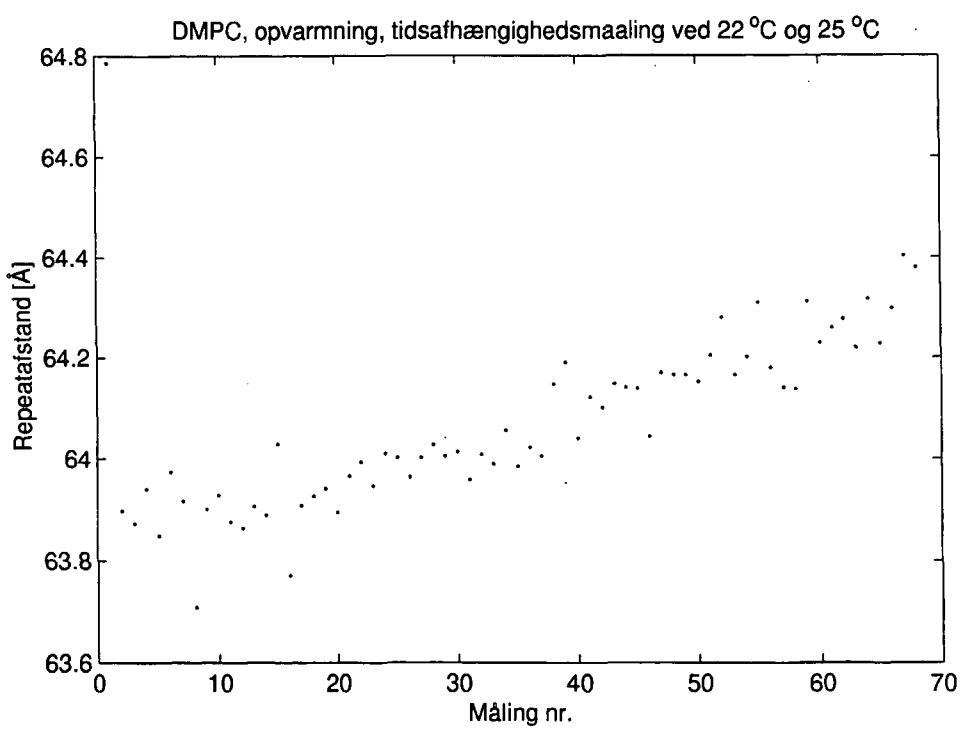
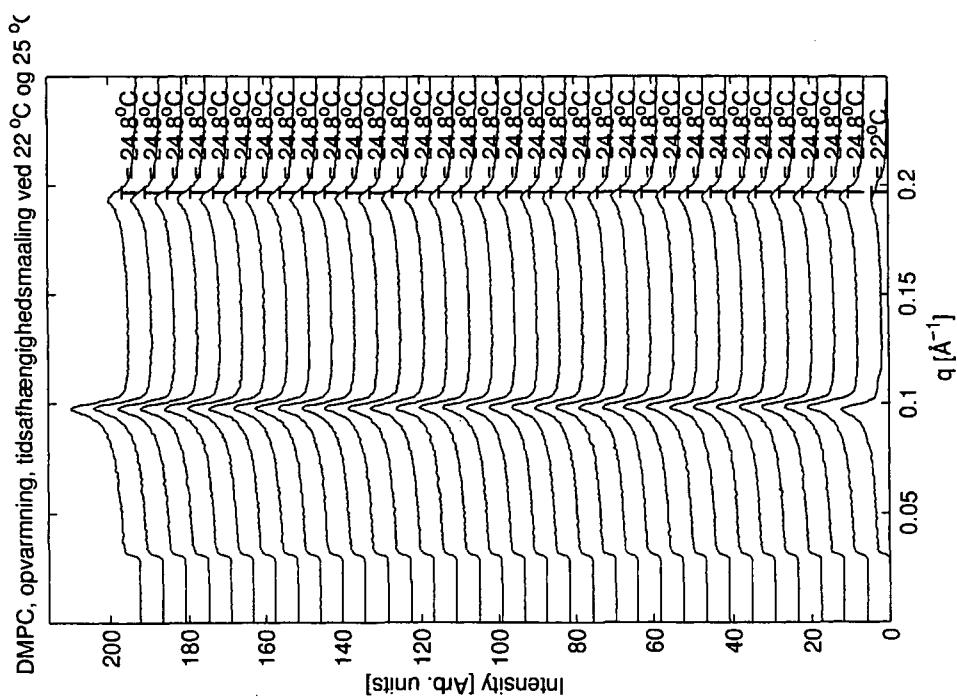












Liste over tidligere udsendte tekster kan ses på IMFUFA's hjemmeside: <http://mmf.ruc.dk>
eller rekvires på sekretariatet, tlf. 46 74 22 63 eller e-mail: imfufa@ruc.dk.

332/97	ANOMAL SWELLING AF LIPIDE DOBBELTLAG Specialrapport af: Stine Korremann Vejleder: Dorthe Posselt	344/97 Puzzles and Siegel disks by: Carsten Lunde-Petersen
333/97	Biodiversity Matters an extension of methods found in the literature on monetisation of biodiversity by: Bernd Kuemmel	345/98 Modeling the Arterial System with Reference to an Anesthesia Simulator Ph.D. Thesis by: Mette Sofie Olufsen
334/97	LIFE-CYCLE ANALYSIS OF THE TOTAL DANISH ENERGY SYSTEM by: Bernd Kuemmel and Bent Sørensen	346/98 Klyngedannelse i en hulkatode-forstørningsproces af: Sebastian Horst Vejleder: Jørn Borggren, NBI, Niels Boye Olsen
335/97	Dynamics of Amorphous Solids and Viscous Liquids by: Jeppé C. Dyre	347/98 Verification of Matematiske Modeler - en analyse af Den Danske Euleriske Model af: Jonas Blomqvist, Tom Pedersen, Karen Timmermann, Lisbet Øhlenschläger Vejleder: Bermelhm Boos-Bavnbek
336/97	Problem-orientated Group Project Work at Roskilde University by: Kathrine Legge	348/98 Case study of the environmental permission procedure and the environmental impact assessment for power plants in Denmark by: Steffan Krüger Nielsen project leader: Bent Sørensen
337/97	Verdenbankens globale befolkningsprognose - et projekt om matematisk modellering af: Jørn Chr. Bendtsen, Kurt Jensen, Per Pauli Petersen	349/98 Tre rapporter fra FAGIMAT - et projekt om tal og faglig matematik i arbejdsmarkedssuddanneiserne af: Lena Lindenskov og Tine Wedege
338/97	Kvantisering af nanolederes elektriske ledningsevne Første modul fysikprojekt af: Søren Dam, Esben Danielsen, Martin Niss, Esben Friis Pedersen, Frederik Resen Steenstrup Vejleder: Tage Christensen	350/98 OPGAVESAMLING - Breddede-Kursus i Fysik 1976 - 1998 Erstatter teksterne 3/78, 26/1/93 og 3/2/96
339/97	Defining Discipline by: Wolfgang Coy	351/98 Aspects of the Nature and State of Research in Mathematics Education by: Mogens Niss
340/97	Prime ends revisited - a geometric point of view - by: Carsten Lunde Petersen	352/98 The Herman-Swiatec Theorem with applications by: Carsten Lunde Petersen
341/97	Two chapters on the teaching, learning and assessment of geometry by: Mogens Niss	353/98 Problemløsning og modellering i en almændende matematikundervisning Specialerapport af: Per Gregersen og Tomas Højgaard Jensen
342/97	A global clean fossil scenario DISCUSSION PAPER prepared by Bernd Kuemmel for the project LONG-TERM SCENARIOS FOR GLOBAL ENERGY DEMAND AND SUPPLY	354/98 A Global Renewable Energy Scenario by: Bent Sørensen and Peter Melbom
343/97	IMPORT/EKSPORT-POLITIK SOM REDSKAB TIL OPTIMERET UDNYTTELSE AF EL PRODUCERET PÅ VE-ANLÆG af: Peter Melbom, Torben Svendsen, Bent Sørensen	355/98 Convergence of rational rays in parameter spaces by: Carsten Lunde Petersen and Gustav Ryd

356/98	Terrænmodellering Analyse af en matematisk model til konstruktion af digitale terrænmodeller Modelprojekt af: Thomas Frommelt, Hans Ravnkjær Larsen og Arnold Skimminge Vejleder: Johnny Ottesen	
357/98	Cayleys Problem En historisk analyse af arbejdet med Cayleys problem fra 1870 til 1918 Et matematisk videnskabsprojekt af: Rikke Degen, Bo Jakobsen, Bjarke K.W. Hansen, Jesper S. Hansen, Jesper Udesen, Peter C. Wulff Vejleder: Jesper Larsen	
358/98	Modeling of Feedback Mechanisms which Control the Heart Function in a View to an Implementation in Cardiovascular Models Ph.D. Thesis by: Michael Danielsen	
359/99	Long-Term Scenarios for Global Energy Demand and Supply Four Global Greenhouse Mitigation Scenarios by: Bent Sørensen (with contribution from Bernd Kuemmel and Peter Meibom)	
360/99	SYMMETRI I FYSIK En Meta-projektrapport af: Martin Niss, Bo Jakobsen & Tine Bjarke Bonné Vejleder: Peder Voermann Christiansen	
361/99	Symplectic Functional Analysis and Spectral Invariants by: Bernhelm Booß-Bavnbek, Kenro Furutani	
362/99	Er matematik en naturvidenskab? - en udspænding af diskussionen En videnskabsfagsprojekt-rapport af: Martin Niss Vejleder: Mogens Nørregaard Olesen	
363/99	EMERGENCE AND DOWNWARD CAUSATION by: Donald T. Campbell, Mark H. Bickhard, and Peder V. Christiansen	
364/99	Illustrationens kraft - Visuel formidling af fysik Intetret speciale i fysik og kommunikation af Sebastian Horst Vejledere: Karin Beyer, Søren Kjørup	
365/99	To know - or not to know - mathematics, that is a question of context by: Tine Wedge	
366/99	LATEX FOR FORFATTERE - En introduktion til LATEX og IMFUFA-LATEX af: Jørgen Larsen	
367/99	Boundary Reduction of Spectral Invariants and Unique Continuation Property by: Bernhelm Booß-Bavnbek	
368/99	Kvarterejrapport for projektet SCENARIER FOR SAMLET UDNYTTELSE AF BRINT SOM ENERGIØRER I DANMARKS FREMTIDIGE ENERGISYSTEM Projektleder: Bent Sørensen	
369/99	Dynamics of Complex Quadratic Correspondences by: Jacob S. Jalving Supervisor: Carsten Lund Petersen	
370/99	OPGAVESAMLING - Bredde-Kursus i Fysik 1976 - 1999 Eksamensopgaver fra perioden 1976 - 1999. Denne tekst erstatter tekst nr. 350/98 Bevisets stilling - beviser og bevisførelse i en gymnasial matematik undervisning Et matematikspeciale af: Maria Hermannsson	
371/99	Vejleder: Mogens Niss	
372/99	En kontekstualiseret matematikhistorisk analyse af ikke-lineær programmering: Udviklingshistorie og multipel opdagelse Ph.d.-afhandling af Tinne Hoff Kjeldsen	
373/99	Criss-Cross Reduction of the Maslov Index and a Proof of the Yoshida-Nicalescu Theorem by: Bernhelm Booß-Bavnbek, Kenro Furutani and Nobukazu Otsuki Det hydrauliske spring - Et eksperimentelt studie af polygoner og hastighedsprofiler Specialeafhandling af: Anders Marcusen Vejledere: Tomas Bohr, Clive Ellegaard, Bent C. Jørgensen	
374/99	Begrundelser for Matematikundervisningen i den lærde skole hhv. Gymnasiets 1884-1914 Historiespeciale af Henrik Andreassen, cand.mag. i Historie og Matematik	
375/99	Universality of AC conduction in disordered solids by: Jeppe C. Dyre, Thomas B. Schröder	
376/99	The Kuhn-Tucker Theorem in Nonlinear Programming: A Multiple Discovery? by: Tinne Hoff Kjeldsen	
377/99		
378/00	Solar energy preprints: 1. Renewable energy sources and thermal energy storage 2. Integration of photovoltaic cells into the global energy system by: Bent Sørensen	

379/00	EULERS DIFFERENTIALREGNING Eulers indførelse af differentialregningen stillet over for den moderne. En tredjesejers projektrapport på den naturvidenskabelige basisudannelse af: Uffe Thomas Volmer Jankvist, Rie Rose Møller Pedersen, Maja Bagge Pedersen Vejleder: Jørgen Larsen	389/00 University mathematics based on problemoriented student projects: 25 years of experience with the Roskilde model By: Mogens Niss Do not ask what mathematics can do for modelling. Ask what modelling can do for mathematics! by: Johnny Ottesen
380/00	MATEMATISK MODELLERING AF HJERTEFUNKTIONEN Isovolumetrisk ventrikulær kontraktion og udspumning til det cardiovaskulære system af: Gitte Andersen (3. modulss-rapport), Jakob Hilmer og Stine Weisbjerg (speciale) Vejleder: Johnny Ottesen	390/01 Endnu ikke udkommet
381/00	Matematikviden og teknologiske kompetencer hos kortuddannede voksne - Rekognosceringer og konstruktioner i grænseområdet mellem matematikkens didaktik og forskning i voksenuddannelse Ph. d.-afhandling af Tine Wedege	391/01 Matematisk modelleringskompetence – et undervisningsforsøg i gymnasiet 3. semesters Nat.Bas. projekt af: Jess Tolstrup Boye, Morten Bjørn-Mortensen, Sofie Inari Castella, Jan Lauridsen, Maria Götzsche, Ditte Mandoe Andreasen Vejleder: Johnny Ottesen
382/00	Den selvstændige vandring Et matematisk professionsprojekt af: Martin Niss, Arnold Skimminge Vejledere: Viggo Andreasen, John Villumsen	392/01 "PHYSICS REVEALED" THE METHODS AND SUBJECT MATTER OF PHYSICS an introduction to pedestrians (but not excluding cyclists) PART III: PHYSICS IN PHILOSOPHICAL CONTEXT by: Bent Sørensen.
383/00	Beviser i matematik af: Anne K.S.Jensen, Gitte M. Jensen, Jesper Thrane, Karen L.A.W. Wile, Peter Wulff Vejleder: Mogens Niss	393/01 Hilberts matematikfilosofi Specialrapport af: Jesper Hasmark Andersen Vejleder: Sigur Andur Pedersen
384/00	Hopping in Disordered Media: A Model Glass Former and A Hopping Model Ph.D. thesis by: Thomas B. Schröder Supervisor: Jesper C. Dyre	394/01 "PHYSICS REVEALED" THE METHODS AND SUBJECT MATTER OF PHYSICS an introduction to pedestrians (but not excluding cyclists) PART II: PHYSICS PROPER by: Bent Sørensen.
385/00	The Geometry of Cauchy Data Spaces This report is dedicated to the memory of Jean Leray (1906-1998) by: B. Booss-Bavnbek, K. Furutani, K. P. Wojciechowski	395/01 Menneskers forhold til matematik. Det har sine årsager! Specialcaftshandling af: Anita Stark, Agnete K. Ravnborg Vejleder: Tine Wedege
386/00	Neutrale mandatfordelingsmetoder – en illusion? af: Hans Henrik Brok Kristensen, Knud Dyrberg, Tove Oxager, Jens Sveistrup Vejleder: Bernhelm Booss-Bavnbek	396/01 2 bilag til tekst nr. 395: Menneskers forhold til matematik. Det har sine årsager! Specialcaftshandling af: Anita Stark, Agnete K. Ravnborg Vejleder: Tine Wedege
387/00	A History of the Minimax Theorem: von Neumann's Conception of the Minimax Theorem - - a Journey Through Different Mathematical Contexts by: Tinne Hoff Kjeldsen	
388/00	Behandling af impuls ved kilder og dræn i C. S. Peskins 2D-hjertemodel et 2. modul matematik modelprojekt af: Bo Jakobsen, Kristine Niss Vejleder: Jesper Larsen	