

Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Polyvinylpyrrolidon und Natriumdodecylsulfat durch Fluoreszenz-Korrelationsspektroskopie

Ralf Nörenberg,* Jürgen Klingler und Dieter Horn

Professor Hans-Jürgen Quadbeck-Seeger
zum 60. Geburtstag gewidmet

Wechselwirkungen zwischen Polymeren und Tensiden in wässriger Lösung finden große Aufmerksamkeit, da diese in vielen Formulierungen und industriellen Prozessen komplementär oder sogar synergistisch wirken.^[1] Bei vielen dieser Anwendungen erfordert die Optimierung der Polymereigenschaften in Gegenwart von störenden Einflüssen durch andere Verbindungen eine Methode, die in der Lage ist, das Assoziationsverhalten in komplexen Systemen in einem großen Konzentrationsbereich mit weniger Aufwand zu untersuchen, als dies mit derzeit verfügbaren Methoden möglich ist. Es gibt eine Reihe experimenteller Methoden, die in der Vergangenheit entwickelt wurden, um Komplexbildung zu untersuchen.^[2-6] Die NMR-Selbstdiffusion stellte den ersten Versuch dar, die Komplexbildung durch die Messung der hydrodynamischen Größe von Tensidmolekülen zu untersuchen.^[7] Diese Methode hat jedoch bezüglich des zugänglichen Konzentrationsbereichs Grenzen und ist relativ aufwendig.

Mit der fortschreitenden Entwicklung der optischen Korrelationstechniken ist in den letzten Jahren die Messung von Selbstdiffusionskoeffizienten fluoreszierender Moleküle durch Fluoreszenz-Korrelationsspektroskopie (FCS)^[8] zu einer praktikablen Labortechnik geworden.^[9] Da Fluoreszenz sehr empfindlich detektiert werden kann, kann die Messung des Selbstdiffusionskoeffizienten auch auf sehr kleine Konzentrationen ausgedehnt werden.^[10] Wir stellen hier die ersten Untersuchungen vor, die am Beispiel der Komplexbildung von Polyvinylpyrrolidon (PVP) und Natriumdodecylsulfat (SDS) die Anwendbarkeit der FCS auf kolloidale Systeme zeigt. Die Komplexe von PVP mit SDS gehören zu den in der Literatur am besten dokumentierten Systemen und dienen daher häufig als Referenzsystem.

FCS verwendet die Fluktuation der Anzahl fluoreszierender Moleküle (oder Partikel) in einem sehr kleinen Beobachtungsvolumen, um daraus Informationen über die Diffusionseigenschaften dieser Moleküle zu erhalten.^[11] Die resultierende Autokorrelationsfunktion $G(t)$ wird mit der theoretischen Gleichung (1)^[10] angepaßt.

$$G(t)=1+\frac{1}{N}\left(\frac{1}{1+\frac{4Dt}{r^2}}\right) \quad (1)$$

Dabei bezeichnet N die mittlere Anzahl fluoreszierender Moleküle, D den thermischen Diffusionskoeffizienten der Moleküle und r den Radius des Laserstrahls. Der Wert für r

wurde erhalten, indem das Instrument einmal mit dem Farbstoff Rhodamin 6G geeicht wurde, wobei ein Diffusionskoeffizient von $2.8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{s}^{-1}$ angenommen wurde. Um Ergebnisse zu erhalten, die der Intuition zugänglicher sind, wurden die Diffusionskoeffizienten über die Einstein-Beziehung [Gl. (2)] in einen scheinbaren hydrodynamischen Durchmesser umgerechnet.

$$d=\frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (2)$$

Dabei bezeichnet d den hydrodynamischen Durchmesser des diffundierenden Teilchens, k die Boltzmann-Konstante, T die absolute Temperatur und η die Viskosität des Mediums. Die im Ergebnisteil angegebenen Durchmesser sind Durchschnittswerte aus zehn Messungen für jede Probe (typische Standardabweichung 5%).

Mit der FCS ist es möglich, einen großen Bereich an Polymer- und Tensidkonzentrationen zu untersuchen. In Abbildung 1 sind die Ergebnisse dargestellt, die bei der

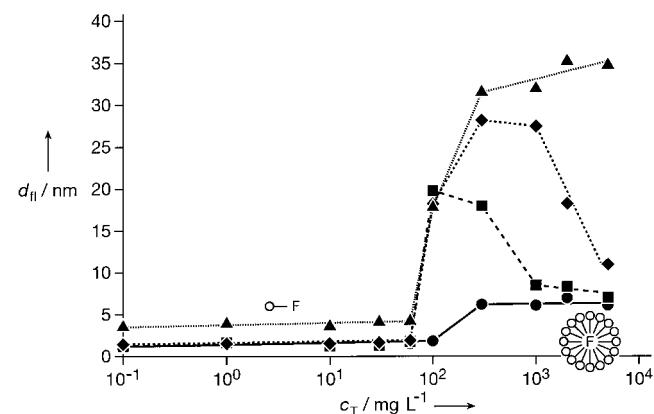


Abbildung 1. Scheinbare hydrodynamische Größe d_{\parallel} des fluoreszenzmarkierten Tensids SDecS als Funktion der Tensidkonzentration c_T bei verschiedenen Konzentrationen des Polymers Kollidon K90 ($M_w = 10^6 \text{ Da}$). Polymerkonzentrationen: $\bullet = 0$, $\blacksquare = 0.03$, $\blacklozenge = 0.3$, $\blacktriangle = 3 \text{ g L}^{-1}$.

Messung des Selbstdiffusionskoeffizienten des fluoreszenzmarkierten Tensidmoleküls in Lösungen erhalten wurden, die verschiedene Konzentrationen an Kollidon K90 enthalten (zwischen 30 mg L^{-1} und 3 g L^{-1}). Als Referenz ist die entsprechende Kurve für reines SDS dargestellt.

Bei sehr kleinen Tensidkonzentrationen werden die Tensidmoleküle in individuellen Solvationshüllen gelöst. In diesem Bereich ist der Diffusionskoeffizient der markierten SDecS-Moleküle konstant und entspricht der hydrodynamischen Größe eines einzelnen Moleküls mit einem Durchmesser von etwa 1.1 nm. Bei einer Konzentration von 300 mg L^{-1} (ca. 1.0 mM) beginnt die meßbare Größe der Tensidmicelle stark anzuwachsen, bis ein neues Niveau bei 5 nm erreicht ist. Diese Konzentration entspricht ungefähr der kritischen Micellbildungskonzentration (CMC) von SDS unter den entsprechenden Bedingungen, wie sie mit anderen Methoden bestimmt wurde, wenn man die Salzabhängigkeit nach Gleichung (3) mit $c_{\text{Salz}} = 0.5 \text{ M}$ berücksichtigt.^[12]

$$\ln c_{\text{CMC}} = -7.3 - 0.5 \ln c_{\text{Salz}} \quad (3)$$

[*] Dr. R. Nörenberg, Dr. J. Klingler, Dr. D. Horn
BASF Aktiengesellschaft
Polymerphysik, Festkörperphysik
D-67056 Ludwigshafen
Fax: (+49) 621-60-92281
E-mail: ralf.noerenberg@basf-ag.de

Außerdem finden wir für die Größe der Tensidaggregate eine vernünftige Übereinstimmung mit Daten aus Lichtstreuungsmessungen. Die große Steigung der Funktion führt von der hohen Kooperativität des Micellbildungsprozesses her.

In Gegenwart von 30 mg L^{-1} PVP in der Lösung verändert sich das Verhalten des FCS-Signals deutlich. Wieder finden wir bei niedrigen Konzentrationen einen Wert für den hydrodynamischen Durchmesser der fluoreszierenden Partikel, der der Größe eines einzelnen Tensidmoleküls entspricht. Bei mittleren Konzentrationen (ab etwa 80 mg L^{-1}) wird ein plötzlicher Anstieg des hydrodynamischen Durchmessers bis auf ca. 10 nm beobachtet. Diese Konzentration ist deutlich niedriger als die CMC des reinen Tensids und in Übereinstimmung mit Bestimmungen der kritischen Assoziationskonzentration (CAC) über die Messung der Oberflächenspannung.^[13] Bei höherer Tensidkonzentration nimmt die gemessene hydrodynamische Größe des Aggregats wieder ab. Wir erklären diesen Effekt mit einer Sättigung der SDS-Bindungskapazität von PVP. Zusätzliches Tensid bildet Micellen, wie dies auch ohne Zusatz von PVP der Fall ist.

Die CAC, die wir mit dem Beginn des steilen Anstiegs der hydrodynamischen Größe gleichsetzen, ändert sich nicht, wenn man die Polymerkonzentration auf 300 mg L^{-1} oder sogar auf 3 g L^{-1} erhöht. Dies ist ein klarer Hinweis darauf, daß die CAC des Systems unabhängig von der Polymerkonzentration ist, wie mit Fluoreszenzmessungen gezeigt wurde.^[4a]

Für die drei untersuchten Polymerkonzentrationen finden wir unterschiedliche Abhängigkeiten der hydrodynamischen Größe von der Tensidkonzentration. Bei kleiner Tensidkonzentration entsprechen alle gemessenen Größen der eines einzelnen Tensidmoleküls. Auch der Anstieg der CAC erfolgt in ähnlicher Weise. Die Konzentrationsabhängigkeiten unterscheiden sich allerdings im nächsten Konzentrationsbereich.

Bei kleiner Polymerkonzentration beobachten wir einen Abfall der hydrodynamischen Größe auf die Ausdehnung einer einzelnen Micelle. Bei mittlerer Polymerkonzentration ist dieser Abfall schwächer ausgeprägt, und das Maximum der Kurve liegt höher. Bei der höchsten untersuchten Polymerkonzentration finden wir statt des Abfalls ein Plateau bei einem hydrodynamischen Durchmesser von 35 nm im Fall von Kollidon K90. Dieser Wert entspricht etwa dem Knäueldurchmesser von PVP unter diesen Bedingungen.

Wenn viele Tensidmoleküle als Einzelmolekül oder in kleinen Micellen gebunden vorliegen, wird der Durchschnittswert der hydrodynamischen Größe erniedrigt. Wir erklären die oben beschriebenen Größenabfälle mit dem erhöhten Beitrag kleiner Micellen zur mittleren Teilchengröße. Diese Situation ist in Abbildung 2 skizziert.

Wie im Fall der NMR-Selbstdiffusion kann man den gemessenen Diffusionskoeffizienten durch eine gewichtete Summe der einzelnen Diffusionskoeffizienten D_{frei} , D_{Micelle} , D_{mm} für die Beiträge der freien Tensidmoleküle, der Tensid- bzw. der gemischten Polymer-Tensid-Micellen beschreiben [Gl. (4)].^[14]

$$D_{\text{obs}} = w_{\text{frei}} D_{\text{frei}} + w_{\text{Micelle}} D_{\text{Micelle}} + w_{\text{mm}} D_{\text{mm}} \quad (4)$$

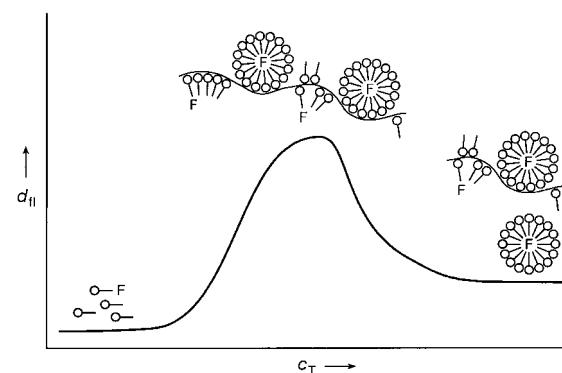


Abbildung 2. Schematische Darstellung der Interpretation der Abhängigkeit der hydrodynamischen Größe d_{\parallel} von der Tensidkonzentration c_T . Bei niedrigen Tensidkonzentrationen entspricht die hydrodynamische Größe der eines freien Tensidmoleküls. Die Kurve knickt ab, wenn die CAC des Komplexes erreicht ist. Die hydrodynamische Größe wächst aufgrund eines stärkeren Anteils von polymergebundenem Tensid weiter an, bis die maximale Tensidbeladung des Polymers erreicht ist. Der darauf folgende Abfall der hydrodynamischen Größe wird auf einen zunehmenden Anteil reiner Tensidmicellen zurückgeführt.

Gleichung (4) kann dazu verwendet werden, die Titrationskurven anzupassen, um die relativen Mengenverhältnisse von freien, in Micellen gebundenen und polymergebundenen Tensidmolekülen zu bestimmen. In Abbildung 3 sind die

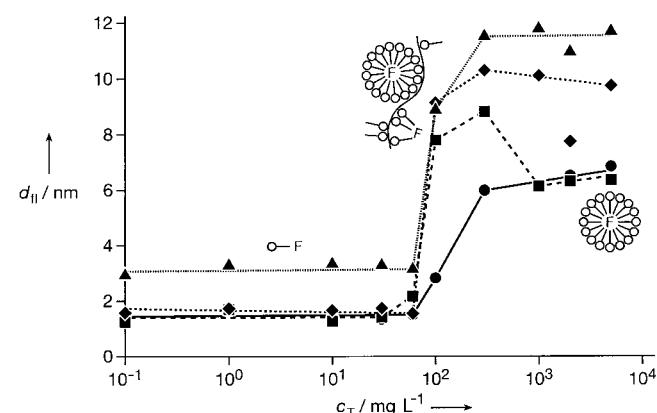


Abbildung 3. Scheinbare hydrodynamische Größe d_{\parallel} des fluoreszenzmarkierten Tensids SDecS als Funktion der Tensidkonzentration c_T bei verschiedenen Konzentrationen von Kollidon K30 ($M_w = 5 \times 10^4 \text{ Da}$). Polymerkonzentrationen: ● = 0, ■ = 0.03, ◆ = 0.3, ▲ = 3 g L⁻¹.

entsprechenden Daten für ein kürzerketiges PVP ($M_w = 5 \times 10^4 \text{ Da}$) wiedergegeben. Diese Abbildung enthält ebenfalls als Referenz die Kurve für das Tensid ohne Polymerzusatz. Enthält die Tensidlösung Polymer, so beobachtet man wieder einen plötzlichen Anstieg bei einer Tensidkonzentration, die wesentlich kleiner ist als die CMC des reinen Tensids. Diese kritische Tensidkonzentration fällt mit derjenigen zusammen, die für das PVP mit höherem M_w diskutiert wurde. Auch die anderen Aspekte der Ergebnisse sind ähnlich: Bei allen Polymerkonzentrationen finden wir dieselbe CAC von etwa 80 mg L^{-1} Tensid. Bei Polymerkonzentrationen von 30 mg L^{-1} wird ein schwaches Maximum beobachtet. Dies ist zurückzuführen auf die Bildung eines Komplexes aus PVP und Tensidmicellen. Bei höheren Tensidkonzentrationen sinkt die

gemessene Größe der Fluoreszenzsonde auf den Wert für die Micellen. Hier gilt erneut, daß bei einer bestimmten SDS-Konzentration das Micellbindungsvermögen des Polymers gesättigt ist und zusätzliches Tensid kleine Micellen bildet, die signifikant zum Gesamtignal beitragen. Bei höherer Polymerkonzentration erreicht die gemessene Größe ein Plateau bei 12 nm. Dieser Wert korreliert gut mit der hydrodynamischen Größe des Polymers.

In allen Fällen, sei es mit dem hoch- oder mit dem niedermolekularen Polymer, treten Maxima auf, die es ermöglichen, die Zusammensetzung des PVP-SDS-Komplexes bei Sättigung zu berechnen. Aus den entsprechenden Konzentrationen von Polymer und Tensid ergibt sich ein Sättigungswert von 3.3 g SDS pro Gramm PVP bei allen Polymerkonzentrationen und -typen. Murata et al.^[12] berichten einen Wert von 3.4 g SDS pro Gramm PVP, der durch Messen der Komplexbildungsisotherme bestimmt wurde.

Die hier beschriebenen Messungen stellen die erste Anwendung der FCS auf die Untersuchungen von Polymer-Tensid-Wechselwirkungen dar. Die Experimente zeigen, daß es so möglich ist, die Bildung von Tensid- und Polymer-Tensid-Micellen auf molekularer Ebene zu verfolgen. Im Unterschied zu vielen anderen Methoden können diese Messungen in sehr verdünnten Lösungen durchgeführt werden, bei denen Viskositätseffekte durch die sterische oder Coulomb-Wechselwirkung zweier Ketten nicht berücksichtigt werden müssen. Wir haben eine CAC des Systems von 80 mg L⁻¹ bestimmt, unabhängig von der Größe und der Konzentration des PVP. Die Tatsache, daß es ein Maximum bei der Abhängigkeit der hydrodynamischen Größe von der Tensidkonzentration gibt, zeigt an, daß es eine obere Grenze für die Tensidmenge gibt, die an PVP angelagert werden kann. Die weitere Entwicklung und Nutzung der Methode wird die Anwendung auf komplexere Systeme beinhalten.

Experimentelles

Wir verwendeten zwei Proben von technischem Polyvinylpyrrolidon (BASF) mit einem mittleren Molekulargewicht von $M_w = 10^6$ Da (Kollidon K90, K-Wert (Viskositätsmaß) 90) und von $M_w = 5 \times 10^4$ Da (Kollidon K30, K-Wert 30). Die Fluoreszenzsonde war terminal fluoreszenzmarkiertes Natriumdecylsulfat (SDecS; Molecular Probes, Katalog-Nr. D-3829), das bezüglich Micellbildung und Oberflächenaktivität analog zu SDS ist und in einer Konzentration von 10 nm (0.005 mg L⁻¹) in einer Mischung mit SDS (Aldrich) eingesetzt wurde. Alle Verbindungen wurden ohne weitere Reinigung so verwendet, wie sie erhalten wurden.

Die Experimente wurden mit einem käuflichen FCS-Apparat (ConfoCor, Carl Zeiss Jena) durchgeführt (Anregungswellenlänge 488 nm, Wasser-Immersionsobjektiv: 63 ×, 1.2 NA; Lochblende im Detektionsstrahlengang: 45 nm). Das Fluoreszenz-Korrelationssignal wurde für jede Probe zehnmal 60 s gemessen. Die Experimente wurden in 0.5 M NaCl-Lösung (zuvor mit einem 0.2-µm-Filter filtriert) bei 24 °C durchgeführt. Alle Lösungen wurden vor jeder Messung wenigstens eine Stunde lang äquilibriert. Die Ergebnisse von FCS-Messungen, die 1 h und 24 h nach der Herstellung der Proben durchgeführt wurden, waren identisch.

Eingegangen am 15. Dezember 1998 [Z12783]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1626–1629

Stichwörter: Aggregation • Detergentien • Fluoreszenzspektroskopie • Micellen • Polymere

- [1] E. D. Goddard in *Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins* (Hrsg.: E. D. Goddard, K. P. Ananthapadmanabhan), CRC Press, Boca Raton, FL, **1993**.
- [2] Übersichtsartikel: a) E. D. Goddard, *Coll. Surf.* **1986**, *19*, 255–300;
b) E. D. Goddard in *Surfactants in Solution*, Vol. II (Hrsg.: K. L. Mittal, D. O. Shaw), Plenum, New York, **1991**, S. 219–242.
- [3] E. D. Goddard, R. B. Hannan, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1977**, *54*, 561–566.
- [4] a) R. Zana, J. Lang, P. Llanos, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)* **1982**, *23*, 39–40; b) J. van Stam, M. Almgren, C. Lindblad, *Prog. Colloid Polym. Sci.* **1991**, *84*, 13–20; c) K. Thalberg, J. van Stam, C. Lindblad, M. Almgren, B. Lindman, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 8975–8982.
- [5] H. Hoffmann, *Tenside Surfactants Deterg.* **1995**, *32*, 462–469.
- [6] S. Panmai, R. K. Prud'homme, D. G. Peiffer, S. Jockusch, N. J. Turro, *Polym. Mater. Sci. Eng.* **1998**, *79*, 419–420.
- [7] A. Carlsson, G. Karlström, B. Lindman, *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 3673–3677.
- [8] D. Magde, E. Elson, W. W. Webb, *Phys. Rev. Lett.* **1972**, *29*, 705–708.
- [9] R. Rigler, Ü. Mets, J. Widengren, P. Kask, *Eur. Biophys. J.* **1993**, *22*, 169–175.
- [10] D. Horn, J. Klingler, W. Schröf, K. Graf, *Prog. Colloid Polym. Sci.* **1998**, *111*, 27–33.
- [11] R. Rigler, J. Widengren, Ü. Mets in *Fluorescence Spectroscopy* (Hrsg.: O. Wolfbeis), Springer, Berlin, **1993**.
- [12] M. Murata, H. Arai, *J. Colloid. Interface Sci.* **1973**, *44*, 475.
- [13] H. Lange, *Kolloid Z. Z. Polym.* **1971**, *243*, 101.
- [14] Streng genommen gilt diese Umrechnung nur für solche Austauschprozesse zwischen gebundenem und freiem Tensid, die schnell sind auf der Skala der Korrelationsfunktion (ca. 1 ms). Bei einem langsameren Austausch besteht die Korrelationsfunktion [Gl. (1)] aus zwei Termen mit unterschiedlichen Diffusionskoeffizienten. In unseren Experimenten wurde keine Abweichung von Gleichung (1) festgestellt.

Synthese und Charakterisierung einer unimolekularen Kapsel**

Marcus S. Brody, Christoph A. Schalley,
Dmitry M. Rudkevich und Julius Rebek, Jr.*

Wirtmoleküle, die ihre Gastmoleküle vollständig einschließen, machen dabei entweder Gebrauch von starken kovalenten Bindungen wie in den Carceranden^[1] und Cryptophananen,^[2] oder es bilden sich über schwache Wasserstoffbrücken selbstorganisierende Kapseln.^[3] Der erste Wirtmolekültyp bietet die für die Isolierung reaktiver Intermediate^[4] und die

[*] Prof. J. Rebek, Jr., Dr. M. S. Brody, Dr. C. A. Schalley,
Prof. D. M. Rudkevich
The Skaggs Institute for Chemical Biology and
Department of Chemistry
The Scripps Research Institute
MB-26, 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
Fax: (+1) 619-784-2876
E-mail: jrebek@scripps.edu

[**] Wir danken Prof. David N. Reinhoudt und Brendan O'Leary für wertvolle Ratschläge und Prof. Gary Siuzdak für instrumentelle Unterstützung. Ronald Castellano danken wir für die Überlassung einer Probe des Sulfonylharnstoffderivats **11**. Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt durch die Skaggs Research Foundation und die National Institutes of Health. C.A.S. dankt dem BMFT und der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina für ein Postdoktorandenstipendium.