




BACHELORARBEIT

Herr
Paul Lehmann

Thermodynamische Charakterisierung von Nukleinsäuren mittels der UV-Vis-Absorptionsspektroskopie

Mittweida, Oktober 2023



Fakultät **Ingenieurwissenschaften**

BACHELORARBEIT

Thermodynamische Charakterisierung von Nukleinsäuren mittels der UV-Vis-Absorptionsspektroskopie

Autor:

Paul Lehmann

Studiengang:

Lasertechnik

Seminargruppe:

Lt20wL-B

Erstprüfer:

Prof. Dr. rer. nat. Richard Börner

Zweitprüferin:

Vanessa Schumann, M. Sc.

Einreichung:

Mittweida, 31.10.2023

Verteidigung/Bewertung:

Mittweida, 2023

Faculty of **Engineering Sciences**

BACHELOR THESIS

Thermodynamic characterization of nucleic acids using UV-Vis absorption spectroscopy

Author:

Paul Lehmann

Course of Study:

Laser Technology

Seminar Group:

Lt20wL-B

First Examiner:

Prof. Dr. rer. nat. Richard Börner

Second Examiner:

Vanessa Schumann, M. Sc.

Submission:

Mittweida, 31.10.2023

Defense/Evaluation:

Mittweida, 2023

Bibliografische Beschreibung

Lehmann, Paul:

Thermodynamische Charakterisierung von Nukleinsäuren mittels der UV-Vis-Absorptionsspektroskopie. – 2023. – 33 S.

Mittweida, Hochschule Mittweida – University of Applied Sciences, Fakultät Ingenieurwissenschaften, Bachelorarbeit, 2023.

Referat

In dieser Arbeit wird eine DNA-Haarnadelstruktur mittels UV-Vis-Spektroskopie untersucht. Dabei wird die dekadische Extinktion in Abhängigkeit der Temperatur sowie dessen Probenumgebung (Puffer, pH-Wert, monovalenter Kationenkonzentration) gemessen. Mittels anschließender Datenanalyse in Python werden thermodynamische Parameter wie Schmelztemperatur, molare Enthalpie sowie molare Entropie bestimmt und bezüglich der Probenumgebungen verglichen.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	IV
1 Motivation	1
2 Einleitung	2
2.1 DNA	2
2.2 Charakterisierung mittels UV-Vis Spektroskopie	3
2.3 Schmelzkurven	6
3 Materialien	7
3.1 Chemikalien	7
3.2 Puffer und Lösungen	7
3.3 Mikromolekulare Reagenzien	7
3.4 Geräte und Verbrauchsmaterialien	8
4 Methoden	9
4.1 Proben-Präparation	9
4.2 Charakterisierung des Spektrometers	10
4.3 pH-Hintergrund	10
4.4 Validierung der Schmelztemperatur	11
4.5 Messparameter	12
4.6 Schmelzkurvenanalyse	13
4.6.1 Gradientenanalyse	13
4.6.2 Medianbildung	15
4.6.3 Kurvenanpassung der Schmelzkurve	16
4.7 Thermodynamische Interpretation	17
5 Ergebnisse	20
5.1 Schmelzkurvenauswertung	20
5.2 Vergleich der Messumgebungen	24
5.3 Vergleich der Analysemethoden	29
6 Diskussion	30
6.1 Temperatureinfluss	30

Inhaltsverzeichnis	II
6.2 Ioneneinfluss	30
6.3 Puffereinfluss	31
7 Zusammenfassung und Ausblick	32
Anhang	33
A Ergebnistabellen und Diagramme	33
B Fehlerbetrachtung	53
B.1 Gradientenanalyse	53
B.2 Median	53
B.3 Abschätzung des Konzentrationsfehlers	54
C Aufbau und Arbeitsplatz des Spektrometers	55
Literaturverzeichnis	56
Eidesstattliche Erklärung	58

Abkürzungsverzeichnis

A Adenin

C Cytosin

DNA Desoxyribonukleinsäure

G Guanin

HEPES 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure

MOPS 3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure

PTFE Polytetrafluorethen

RNA Ribonukleinsäure

SNR Signal-Rausch-Verhältnis

T Thymin

TRIS-HCl Tris-(hydroxymethyl)-aminomethanhydrochlorid

Danksagung

Im Zusammenhang mit meinem Bachelor-Abschluss möchte ich gerne meine Dankbarkeit gegenüber den folgenden Personen und Organisationen ausdrücken.

Zuerst meinem Betreuer Herr Professor Richard Börner für Ihre akademische Unterstützung und Ihre Anleitung während meines Studiums.

Weiterhin möchte ich Frau Vanessa Schumann danken, für die Anleitung im Labor und für die Unterstützung während des Schreibprozesses.

Weiterhin gilt mein Dank Herr Felix Erichson und Herr Mirko Weber für die Unterstützung bei der Gestaltung von Bildern und Programmierung.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Kommilitonen, insbesondere Frau Josephine Meitzner, für ihre Unterstützung bedanken.

Für eine finanzielle Unterstützung möchte ich mich beim Laserinstitut Mittelsachsen e.V., durch den erhalte des Ausbildungs- und Leistungsstipendiums, bedanken.

1 Motivation

Die Desoxyribonukleinsäure (DNA) spielt als Träger der Erbinformation eine wichtige Rolle in den Prozessen einer menschlichen Zelle. Der Faltungszustand und die thermische Stabilität der DNA sind entscheidend für biochemische Reaktionen. Es ist bekannt, dass Nukleinsäuren sensitive auf Metallionen reagieren [1]. Durch die Zugabe von monovalenten Metallionen kann es zur Faltung und dabei zur Bildung lokaler räumlicher Strukturen wie z. B. Haarnadelstrukturen kommen [2]. Durch die Aufnahme einer Schmelzkurve, kann mittels der UV-Vis Spektroskopie, der Faltungszustand direkt beobachtet werden. Dabei wird die dekadische Extinktion in Abhängigkeit von der Temperatur aufgezeichnet. Durch die Durchführung einer Gradienten- sowie Van't Hoff-Analyse, kann die verwendete Haarnadelstruktur anhand der thermodynamischen Parameter Schmelztemperatur T_m , Enthalpieänderung ΔH und Entropieänderung ΔS charakterisiert werden.

Die Haarnadelstruktur soll dabei in verschiedenen Probenumgebungen, die sich durch die monovalente Metallionenkonzentration, den pH-Wert sowie den Puffer unterscheiden, untersucht und für die Verwendung als Laborstandard charakterisiert werden.

2 Einleitung

2.1 DNA

Die DNA ist ein Polyanion, bestehend aus einer Aneinanderreihung von Nucleotiden. Diese bestehen jeweils aus einem Phosphatrest, einem Zuckerrest (Desoxyribose: fehlende Hydroxygruppe am zweiten Kohlenstoffatom) und einer entsprechenden Nucleobase. Diese sind heterocyclische organische Verbindung. Man kann diese weiterhin in die Purine Adenin (A) und Guanin (G) und in die Pyrimidine Cytosin (C) und Thymin (T) unterteilen. Phosphatreste bilden das Rückgrat der DNA. Diese verbinden die einzelnen Nucleoside und sind für die negative Ladung des DNA-Stranges verantwortlich.

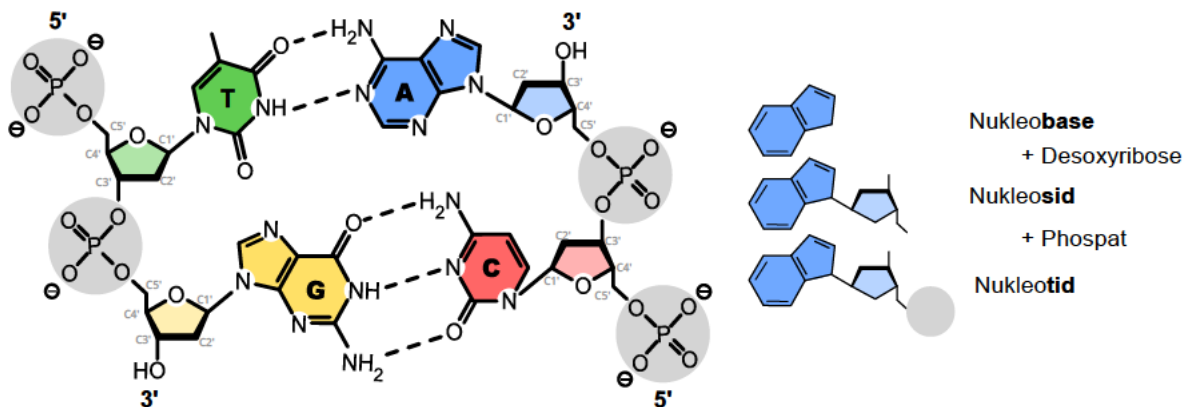


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau der DNA mittels kanonischer Basenpaarung [3].

Die DNA tritt im Allgemeinen als Doppelhelix auf. Eine mögliche Bindung zwischen den Nucleobasen wurde durch Watson und Crick, basierend auf den Ergebnissen von Franklin, beschrieben [3]. Diese sogenannten kanonischen Bindungen bestehen jeweils aus einem Purin (A und G) und Pyrimidin (C und T). A und T sind durch zwei und G und C durch drei Wasserstoffbrückenbindungen verbunden. Die beiden Einzelstränge der rechtsgängigen Doppelhelix verlaufen dabei entgegengesetzt (Vgl. Abbildung 2.1 und Abbildung 2.2) [4]. Weiterhin ist für die Stabilität der DNA das aufeinander Stapeln der Nucleobasen (engl. *base stacking*) aufgrund induzierter Dipole in deren Ringsystemen entscheidend. Hydrophobische Effekte haben ebenfalls einen Einfluss auf die Stabilität der DNA [2].

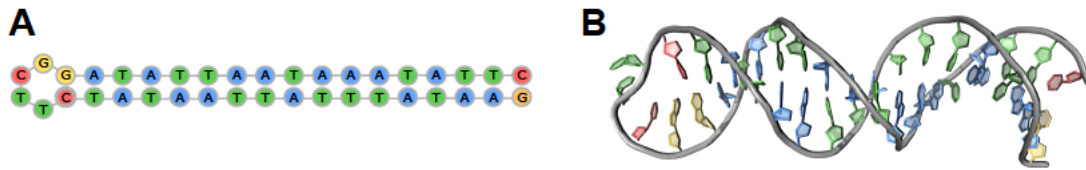


Abbildung 2.2: **A:** Primärstruktur der verwendeten Haarnadelstruktur. Diese wurde für die Nutzung an der Hochschule Mittweida durch Anne Winkler entwickelt bzw. modifiziert. Die beiden Einzelstränge des DNA-Duplexes sind über eine Schleife verbunden. **B:** Von Felix Erichson in „Pymol“modellierter Sekundärstruktur der verwendeten Haarnadelstruktur.

Die Kodierung der DNA erfolgt dabei in der Abfolge von jeweils drei Nucleobasen (Codon). Die damit gebildete Sequenz bezeichnet man als Primärstruktur. Weiterhin bezeichnet die Sekundärstruktur die lokale räumliche Anordnung der Nucleotide. Mögliche Sekundärstrukturen sind z. B. α -Helices und β -Faltblätter bei Proteinen oder Kreuzungen und Haarnadelstrukturen bei Nucleinsäuren [4]. Letztere wird in dieser Arbeit untersucht. Diese bildet sich aus einem DNA-Einzelstrang, wobei sich die komplementären Basen so binden, dass ein thermodynamisch stabiler Duplex mit einer Schleife entsteht (vgl. Abbildung 2.2).

2.2 Charakterisierung mittels UV-Vis Spektroskopie

Trifft eine elektromagnetische Welle auf ein Objekt, so kann dieses mit dem Objekt auf verschiedene Arten wechselwirken. Zur Beschreibung nutzt man die Intensität I , die als Strahlungsleistung pro Fläche definiert ist ($I = \frac{P}{A}$). Die Intensität vor dem Objekt ist $I = I_0$. Die Interaktion der Welle mit dem Objekt lässt sich durch vier grundlegende Vorgänge, resultierend aus dem allgemeinen Energieerhaltungssatz beschreiben. Diese sind die Transmission, dem Durchgang durch das Objekt. Die Absorption, dem Energieverlust beim Durchgang. Der Reflexion, dem Zurückwerfen an einer Grenzfläche und die Streuung, dem ungerichteten Ablenken am Objekt. Jedem dieser Vorgänge kann ein Intensitätsanteil I_i zugeordnet werden und die Summe der Intensitäten ergibt die Eingangsintensität. Normiert man die Intensitäten über der Eingangsintensität, so erhält man den Transmissionsgrad T , den Absorptionsgrad A , den Reflexionsgrad R und den Streugrad S . Alle genannten Größen sind von der Wellenlänge, der Polarisation und Ausbreitungsrichtung der elektromagnetischen Welle sowie den stofflichen Eigenschaften des Wechselwirkungsobjekts abhängig. Es gilt somit

$$I_0 = \sum I_i \quad \rightarrow \quad 1 = T + A + R + S \quad (2.1)$$

Bei spektroskopischen Betrachtungen mittels UV-Vis-Spektroskopie verwendet man eine Referenzprobe, z. B. bestehend aus dem Lösungsmittel der zu untersuchenden Probe. Die optischen Eigenschaften der Probenbehältnissen, hier Küvetten, müssen dabei gleich sein. Dadurch kann die Reflexion und Streuung z. B. an der Küvettenwand vernachlässigt werden. Somit vereinfacht sich der Zusammenhang zwischen Absorption und Transmission zu

$$1 = T + A \quad \rightarrow \quad T = 1 - A \quad \text{bzw.} \quad A = 1 - T \quad (2.2)$$

Die exponentielle Abnahme der Strahlungsintensität dI zur Intensität I ist dabei proportional zur differentiellen Schichtdicke dd über den stoff-, wellenlängen- und polarisationsabhängigen Absorptionskoeffizient μ . Für Lösungen lässt sich μ als das Produkt der molaren Konzentration c und dem molaren Extinktionskoeffizienten ϵ des gelösten Stoffes ausdrücken (vgl. Abbildung 2.3). Es gilt somit

$$\frac{dI}{I} = \mu \cdot dd = -\epsilon \cdot c \cdot dd \quad (2.3)$$

Nach der Integration (Trennung der Variablen) in den Grenzen ergibt sich folgender Zusammenhang

$$\ln\left(\frac{I_1}{I_0}\right) = \ln(T) = -\epsilon \cdot c \cdot d \quad (2.4)$$

Die Extinktion E definiert sich als negativer Logarithmus der Transmission

$$E = -\ln\left(\frac{I_1}{I_0}\right) = -\ln(T) = \ln\left(\frac{1}{T}\right) = \epsilon \cdot c \cdot d \quad (2.5)$$

Durch Umstellen der Formel erhält man das Lambert-Beer Gesetz.

$$I_1 = I_0 \cdot e^{-\epsilon \cdot c \cdot d} \quad (2.6)$$

Häufig verwendet man statt der Extinktion die Absorbanz, auch dekadische Extinktion oder optische Dichte genannt. Diese ist als negativer dekadischer Logarithmus der Transmission definiert. Im weiteren Verlauf der Arbeit wird E_d als Formelzeichen der dekadischen Extinktion verwendet.

$$Abs = E_d = OD = \lg \frac{I_0}{I} = \epsilon_d \cdot c \cdot d \quad (2.7)$$

Der dekadische Extinktionskoeffizient ϵ_d definiert sich dabei als $\epsilon_d = \frac{\epsilon}{\ln 10} = 0,4343 \cdot \epsilon$.

$$E_d = \lg \frac{I_0}{I} = \epsilon_d \cdot c \cdot d \quad (2.8)$$

Die UV-Vis-Spektroskopie bezeichnet ein fotometrisches Verfahren, bei dem die Probe mit ultraviolettem und sichtbarem Licht untersucht wird. Aus den Informationen der Extinktion, können Probeninformationen über die Transmissions-, Absorptions-, Streu- und Reflexionseigenschaften der Probe gewonnen werden. UV-Vis-Verfahren können dabei für feste, flüssige und gasförmige Proben verwendet werden. Die Absorptionsspektroskopie ist dabei besonders für die Vermessung von organischen Lösungen geeignet. So kann z. B. durch die Aufnahme eines Extinktionsspektrums ein Stoff eindeutig identifiziert werden. Außerdem kann man hiermit Kon-

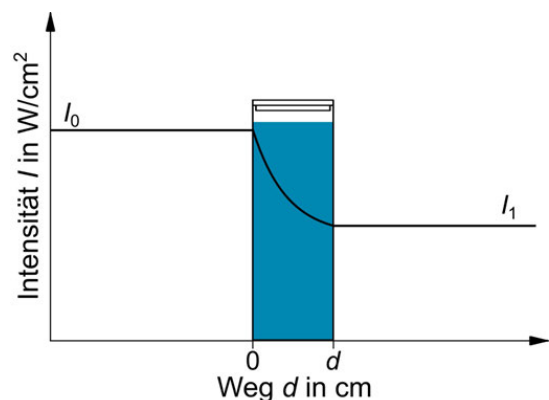


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung des Intensitätsverlaufs eines einfallenden Lichtstrahls durch eine Küvette. Die Intensität I nimmt exponentiell mit dem Weg d ab.

zentrationen bestimmen. Dies ist vor allem in der Pharmazie zur Qualitätssicherung nötig. Es wird dieser spektrale Bereich gewählt, da die Bindungsenergien der Moleküle (Elektronenspektroskopie) im ultravioletten sowie sichtbaren Wellenlängenbereich liegen und diese Wellenlängen somit gut absorbieren. Im einfachsten Fall besteht ein Spektrometer aus einer UV- und Vis-Quelle, z. B. einer Xenon-Lampe. Diese besitzt ein breites Emissionsspektrum, welches in einem Monochromator (einfachstem Fall: Prisma und bewegbarer Spalt, typisch Echelle-Gitter) auf die gewünschte Wellenlänge beschnitten wird. Der Lichtstrahl wird aufgeteilt und durchläuft die Probe sowie eine Referenz, welche das Lösungsmittel der Probe ist. Die beiden transmittierten Strahlen werden auf jeweils einer z. B. Si-Fotodiode detektiert und

in ein, zur eingestrahlten Intensität proportionales, elektrisches Signal umgewandelt. Mithilfe der oben genannten Gesetzmäßigkeiten kann nun ein Extinktionsspektrum ausgegeben werden (z. B. historisch: XY-Schreiber).

2.3 Schmelzkurven

Die Schmelzkurve eines Moleküls (z. B. DNA, Ribonukleinsäure (RNA)) bezeichnet dessen dekadische Extinktion in Abhängigkeit von der Temperatur. Sie ist für jede Nukleotidsequenz charakteristisch. Die Extinktion eines DNA-Strangs ist im gefalteten Zustand geringer als im aufgespaltenem Zustand. Grund dafür ist das Basenstapeln. Durch das Verdecken der C-Ringsysteme der Nukleobasen (π -Elektronensysteme), nimmt die Wechselwirkungsfähigkeit mit Photonen ab. Fügt man dem System Energie z. B. in Form von Wärme zu, lösen sich die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Einzelsträngen. Man spricht vom Aufschmelzen der DNA. Zunächst schmelzen die AT-reichen Regionen des Strangs (2 Wasserstoffbrückenbindungen) und erst danach die GC-reichen Regionen (3 Wasserstoffbrückenbindungen), bis die DNA als ungerichtetes „Knäuel“ vorhanden ist. Populationsanalysen zeigen, dass der Aufschmelzprozess ein „all or nothing“-Prozess ist [2]. Das Aufschmelzen ist dabei reversibel. Die Renaturierung lässt sich mittels des Reißverschluss-Modells beschreiben. Dabei muss sich zuerst ein Nukleus bilden (unfavorisiert da $\Delta G > 0$). Durch das anschließende Basenstapeln wird die Freie Energie jedoch stark verringert und es kommt somit zur spontanen Renaturierung.

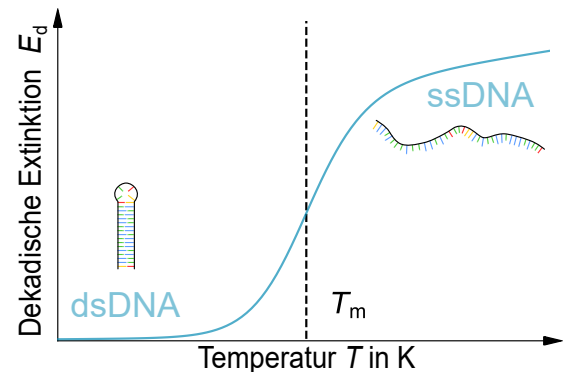


Abbildung 2.4: Theoretische Schmelzkurve ($E_d(T)$) eines intramolekularen Übergangs[5].

Die dekadische Extinktion in Abhängigkeit der Temperatur (vgl. Abbildung 2.4) folgt während des Schmelzprozesses einer sigmoidalen Funktion. Für intramolekulare Vorgänge entspricht die Schmelztemperatur der Temperatur des Wendepunktes der Kurve. Die Schmelztemperatur entspricht der Temperatur, an der 50 % der Moleküle in der Lösung dissoziiert vorliegen. Diese ist direkt vom GC- bzw. AT-Gehalt des Moleküls abhängig. Weiterhin lässt sich die Schmelztemperatur durch die Zugabe von z. B. Kaliumionen verschieben. D. h. das Molekül kann stabilisiert, aber auch destabilisiert werden. Grund dafür ist die Abschirmung des negativ geladenen Rückgrats, was die elektrostatischen Abstoßungskräfte der Einzelstränge verringert. Die jeweilige Wirkung ist ebenfalls vom pH-Wert der Probe abhängig. Die Nukleobasen können protoniert oder deprotoniert werden, was die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Strängen beeinflusst [2].

3 Materialien

3.1 Chemikalien

Alle aufgeführten Chemikalien wurden bei Carl Roth GmbH erworben.

- ddH₂O
- NaCl, Reinheit $\geq 99,5\%$
- KCl, Reinheit $\geq 99,5\%$
- 3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure (MOPS), Reinheit $\geq 99,5\%$
- 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES), Reinheit $\geq 99,5\%$
- Tris-(hydroxymethyl)-aminomethanhydrochlorid (TRIS-HCl), Reinheit $\geq 99\%$

3.2 Puffer und Lösungen

- KOH, Reinheit $\geq 85\%$ steril
- NaOH, Reinheit $\geq 99\%$ steril
- MOPS, pH = 6,5 mit NaOH eingestellt
- MOPS, pH = 6,5 mit KOH eingestellt
- MOPS, pH = 7,5 mit NaOH eingestellt
- MOPS, pH = 7,5 mit KOH eingestellt
- HEPES, pH = 7,4 mit NaOH eingestellt
- HEPES, pH = 7,4 mit KOH eingestellt
- TRIS-HCl, pH = 7,5 mit NaOH eingestellt
- TRIS-HCl, pH = 7,5 mit KOH eingestellt
- TRIS-HCl, pH = 8,5 mit NaOH eingestellt
- TRIS-HCl, pH = 8,5 mit KOH eingestellt

3.3 Mikromolekulare Reagenzien

- DNA-Haarnadelstruktur, erworben bei IDT
Sequenz: 5' -GAA TAT TTA TTA ATA TCT TCG GAT ATT AAT AAA TAT TC-3'
Molare Masse: $M = 11\,662,7\text{ g mol}^{-1}$
Spezifischer dekadischer Extinktionskoeffizient bei 260 nm: $390\,100\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$
Schmelztemperatur bei 50 mM NaCl: $T_m = 50,4\text{ }^\circ\text{C}$

3.4 Geräte und Verbrauchsmaterialien

- Cary 3500 UV-Vis Spectrophotometer (Agilent)
 - UV-Makroküvette (Hellma), 1 cm optischer Weg, 3 mL Nennvolumen
 - UV-Mikroküvette mit Polytetrafluorethen (PTFE)-Stopfen (Hellma), 1 cm optischer Weg, 900 µL Nennvolumen
 - NanoDrop One C Spectrophotometer (thermoscientific)
 - Thermo-Shaker TS-100C (Biosan)
 - Vortexer MS1 Minishaker (IKA)
 - Zentrifuge Mini Star silverline (VWR)
 - pH-Meter FiveEasy Plus (METTLER TOLEDO)
-
- Filter Porengröße 0,2 µm
 - Parafilm

4 Methoden

4.1 Proben-Präparation

Pro Messung werden vier DNA-Proben in jeweils einer 400 μL Mikroküvette vermessen. Die Referenz bildet immer eine mit ddH_2O befüllte 3 mL-Makroküvette.

Tabelle 4.1: Probenansatz bestehend aus der zugegebenen Ionenkonzentration $[\text{Me(I)}]$ (K(I) bzw. Na(I)), der Pufferkonzentration $[\text{Puffer}]$ (MOPS, HEPES und TRIS-HCl), der DNA-Konzentration $[\text{DNA}]$ und dem Gesamtvolumen V pro Küvette.

$[\text{Me(I)}]$ zugegeben in mM	0	10	30	100
$[\text{Puffer}]$ in mM	10			
$[\text{DNA}]$ in μM	0,5			
V in μl	400			

Zusätzlich wurde MOPS bei $\text{pH} = 7,5$ mit einer Pufferkonzentration von 1 mM sowie HEPES ebenfalls bei $\text{pH} = 7,5$ mit einer Pufferkonzentration von 2,5 mM gemessen. Die zugegebene Kationen- und DNA-Konzentration entsprechend denen in Tabelle 4.2.

HEPES bei $\text{pH} = 7,4$ mit K(I) wurde aus einem vorgefertigtem, verdünnten Stock hergestellt. Die Küvetten enthielten somit folgenden Ansatz

Tabelle 4.2: Probenansatz bei HEPES, $\text{pH} = 7,4$ mit K(I) titriert.

$[\text{K(I)}]$ zugegeben in mM	0,03	0,3	3,3	33,3
$[\text{HEPES}]$ in mM	3,3			
$[\text{DNA}]$ in μM	0,67			
V in μl	400			

In alle Küvetten wurde der entsprechende PTFE-Stopfen eingesetzt und anschließend mit Parafilm mindestens doppelt versiegelt. Vor jeder Messung wurde zudem die Außenseite jeder Küvette mit 70 %-igem Ethanol gereinigt.

Nach jeder Messung wurden die Küvetten mit ddH_2O sowie Ethanol ausgespült und luftgetrocknet.

4.2 Charakterisierung des Spektrometers

Das Cary 3500 UV-VIS-Spektrometer (Abbildung C.2) ist ein Doppelstrahl Küvettenmessgerät. Das Gerät ist modular aufgebaut und besteht aus einer „Engine“-Einheit und einer „Multicell“-Messeinheit (vgl. Abbildung C.1). Der Messaufbau bzw. Arbeitsplatz ist in Abbildung C.2 abgebildet.

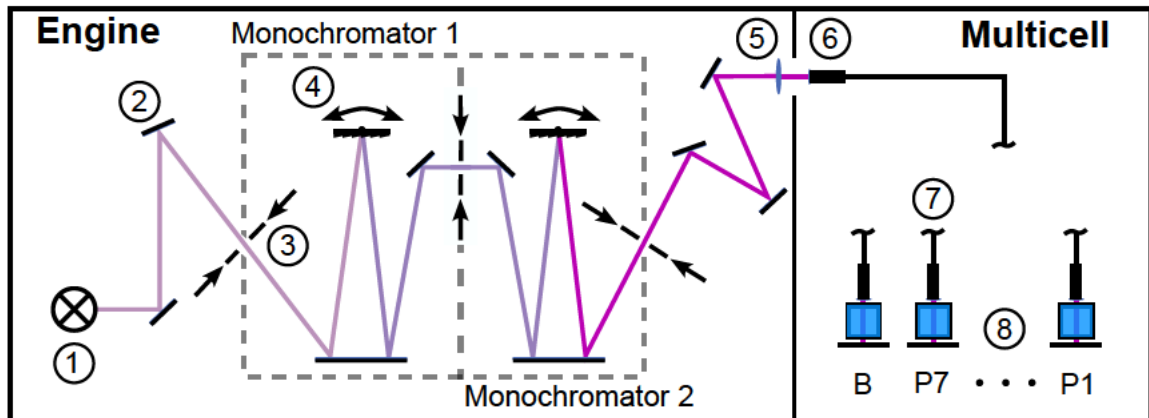


Abbildung 4.1: Schematischer Strahlengang des Cary 3500. 1: Xe-Blitzlampe, 2: Spiegel (schematisch, Geometrie nicht dargestellt), 3: Verstellbare Spaltblende, 4: Geblaztes Gitter, 5: Sammellinse, 6: Faserkopleer, 7: Faserausgänge der aufgeteilten 8-kernigen Lichtleitfaser, 8: Küvette mit dahinter stehender Si-Fotodiode (B...Blank bzw. Referenz und P1 - P7...Probenküvetten).

Die *Engine* beinhaltet die Strahlungsquelle (Xenon-Blitzlampe, $f = 40 \text{ Hz}$) sowie den Doppelmonochromator mit variabler Ein- und Ausgangsapertur. Der mögliche Wellenlängenbereich ist dabei 190 nm bis 1100 nm mit einer spektralen Bandbreite von $0,1 \text{ nm}$ bis 5 nm . Der Strahl wird am Ausgang der *Engine* fokussiert und in der *Multicell*-Einheit in eine achtkernige Lichtleitfaser eingekoppelt und zur Probenkammer geführt. Diese besteht aus 8 Küvettenplätzen, wobei jeweils zwei Küvetten in einem der vier Peltier-Heizblöcke eingesetzt werden können. Die Z-Höhe beträgt 15 mm . Das *Multicell*-Element deckt dabei einen möglichen Temperaturbereich von 0°C bis 110°C ab. Der Strahldurchmesser des Strahles ist laut Hersteller kleiner als $1,5 \text{ mm}$. Hinter jeder Küvette sitzt eine Si-Fotodiode zur Erfassung des transmittierten Strahls. Laut Hersteller ist eine Messung bis zu einer optischen Dichte von 4 möglich. [6]

4.3 pH-Hintergrund

Die Einstellung des pH-Wertes der einzelnen Puffer erfolgt mittels KOH bzw. NaOH sowie HCl. D. h. es sind bereits monovalente Kationen im Puffer und somit im Probenansatz, unabhängig von der zugegebenen Salzkonzentration vorhanden. Der pH-Wert ist ein Maß für die in einer Lösung vorhanden Hydroniumionen $\text{H}_3\text{O}(\text{I})$.

$$\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}(\text{I})]$$

Der pK_S -Wert ist eine stoffspezifische Größe und charakterisiert die Fähigkeit einer Säure deprotoniert zu werden. Aus dem Massenwirkungsgesetz der Säure und deren konjugierter Base lässt sich eine charakteristische Säurekonstante K_S bestimmen. Bildet man den negativen dekadischen Logarithmus, erhält man den pK_S -Wert

$$pK_S = -\lg K_S$$

Die Hintergrundkonzentration lässt sich mittels der Henderson-Hasselbalch-Gleichung Gleichung 4.1 berechnen [4]. $[Me(I)]$ entspricht der Kationenkonzentration und $[Puffer]$ der Pufferkonzentration.

$$pH = pK_S + \lg \left(\frac{[Me(I)]}{[Puffer]} \right) \quad (4.1)$$

$$[Me(I)]_{bg} = 10^{pH-pK_S} \cdot [Puffer] \quad (4.2)$$

Tabelle 4.3: Berechnung der Kationen-Hintergrundkonzentration $[Me(I)]_{bg}$ der Messbedingungen (Vgl. Abschnitt 4.1) anhand der Henderson-Hasselbalch-Gleichung. Die Werte für M , ΔpK_S , ΔpH , pH und der pH -Bereich entsprechend der Literatur [7, 8]

Puffer	M in $g\ mol^{-1}$	pK_S (25 °C)	ΔpK_S in K^{-1}	pH -Bereich	pH	$[Puffer]$ in mM	$[Me(I)]_{bg}$ in mM
MOPS	209,27	7,14	-0,015	6,5-7,5	6,5	10	2,29
					7,5	10	22,91
						1	2,29
HEPES	238,31	7,48	-0,014	6,8 - 8,2	7,4	3,33	2,77
						10	8,31
					7,5	2,5	2,62
						10	10,47
TRIS-HCl	157,6	8,06	-0,031	7,5-9,0	7,5	10	2,75
					8,5	1	2,75

Die Gesamtkonzentration ergibt sich aus der Addition der zugegebenen Konzentrationen und Hintergrundkonzentration (Vgl. Anhang A).

4.4 Validierung der Schmelztemperatur

Um die bestimmten Schmelztemperaturen mit einem Literaturwert vergleichen zu können, wird die Primärstruktur (Basenabfolge) der Haarnadelstruktur im Online-Rechner der „Northwestern University“ gegeben [9]. Die Berechnung der thermodynamischen Parameter basiert auf der „Nearest Neighbor“-Theorie, wie durch [10] beschrieben. Dabei werden die durch

[11] bestimmten Basenpaar-Werte für die molare Enthalpie- (ΔH) sowie molare Entropieänderung (ΔS) über die Haarnadelsequenz aufsummiert. Nach [12] gilt für die Schmelztemperatur T_m bei gegebener Primer- bzw. DNA-Konzentration $[\text{primer}]$ sowie gegebener Natrium- bzw. Kaliumionenkonzentration $[\text{Me(I)}]$

$$T_m = \frac{\Delta H - 3,4 \text{ kcal mol}^{-1}}{\Delta S - R \cdot \ln \frac{1}{[\text{primer}]}} + 16,6 \cdot \lg [\text{Na(I)}] \quad (4.3)$$

Gleichung 4.3 gilt dabei unter der Annahme, dass der pH-Wert während des Aufschmelzens 7,0 beträgt und dass die Natrium- bzw. Kaliumionenkonzentration im Bereich von 0,01 mM und 1 mM liegt. Außerdem darf die Sequenz nicht symmetrisch sein sowie mindestens einmal G oder C enthalten. Da die durch [11] bestimmten Werte für kurze Oligonukleotide mit einer Nukleotidanzahl von 14 bis 20 Nukleotiden aufgenommen wurde, nimmt die Genauigkeit der vorhergesagten Parameter mit steigender Nukleotidanzahl (hier: 38 Nukleotide, vgl. Abschnitt 3.3) ab [9].

4.5 Messparameter

Die Messung erfolgt in der vom Hersteller „Agilent“ für das Gerät bereitgestellten „Cary UV Workstation“ Software. Die inkludiert „Thermal“- Messmethode wird dabei zur Schmelzkurvenmessung verwendet. Gemessen wird punktuell bei einer Wellenlänge von 260 nm, dem spezifischen Extinktionsmaximum von Nukleinsäuren und einer Kontrollwellenlänge von 400 nm, bei der die Absorption von Nukleinsäuren über alle gemessenen Temperaturen nahezu Null bzw. konstant ist (vgl. Abbildung A.1).

Um ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) zu gewährleisten, wird eine Integrationszeit von 2 s sowie eine spektralen Bandbreite von 2 nm entsprechend der Herstellerempfehlung gewählt [13]. Das Re- bzw. Denaturierungsprofil einer Probe wird 3-mal hintereinander, mit einer Pause von jeweils 5 min zwischen den Temperaturrampen aufgenommen. Um Kondensation an der Küvettenwand zu vermeiden, wird die Raumtemperatur von 20 °C als untere Temperaturgrenze gewählt. Eine obere Temperaturgrenze von 80 °C ist hierbei ausreichend um die Hysterese relativ gering zu halten, wird für die Messung eine Heiz- bzw. Abkühlgeschwindigkeit von jeweils 1 K min⁻¹ gewählt. Das Risiko der Bläschenbildung durch Entgasung der Probe wird durch die Vortemperierung auf 80 °C mit 2 K min⁻¹ und anschließender Haltezeit von 5 min reduziert [13].

4.6 Schmelzkurvenanalyse

Die Berechnung von Werten erfolgt immer mittels der absoluten Temperatur. Die Berechnungen erfolgen in Python. Für Kurvenanpassungen jeglicher Art wird die „lmfit“-Toolbox [14] genutzt. Der Gradient wird mittels der „gradient()“-Funktion des „numpy“-Paketes berechnet. Ziel ist bei allen Methoden eine Schmelztemperatur T_m sowie die Enthalpieänderung ΔH und Entropieänderung ΔS zu bestimmen. Enthalpie- bzw. Entropieänderung bedeutet im folgenden Abschnitt immer molare Enthalpie- bzw. Entropieänderung (Normierung über die Stoffmenge n).

4.6.1 Gradientenanalyse

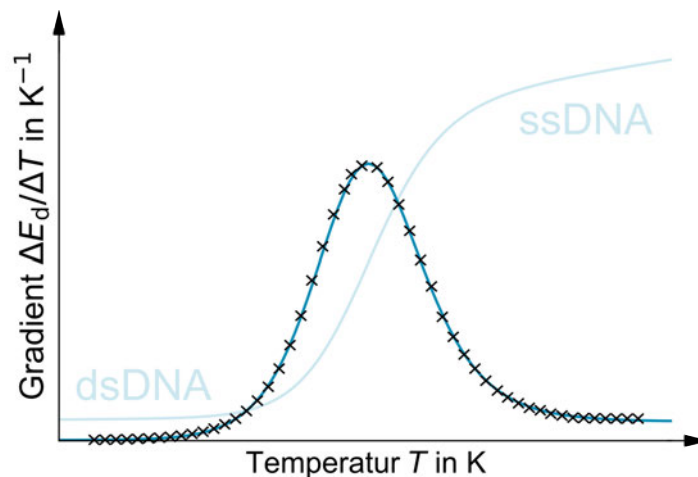


Abbildung 4.2: Im Vordergrund ist der Gradient (Absorbanz nach Temperatur) einer idealen intramolekularen Schmelzkurve (Hintergrund) nach [5] dargestellt.

Für intramolekulare Reaktionen entspricht das Maximum der ersten Ableitung der dekadischen Extinktion über die Temperatur. Aus den gemessenen dekadischen Extinktionswerten wird mittels Python der Gradient bestimmt. An den Gradienten kann nun eine Summe aus Gaußfunktionen angepasst werden. Für die Minimierung gilt

$$\frac{\Delta E_d}{\Delta T} = \sum (g(T)_i - E_d(T)) \rightarrow \min \quad (4.4)$$

Da der Gradient einer Schmelzkurve nicht symmetrisch ist, wird eine verdrehte Gaußfunktion für $g(T)$ verwendet. σ gibt dabei die Standardabweichung (68 % Intervall), T_m die Schmelztemperatur und γ die Verdrehung an.

$$g_{\text{skewed}}(T) = \gamma \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} e^{-(T-T_m)^2/2\sigma^2} \quad (4.5)$$

Alternativ zur Kurvenanpassung kann das Maximum bei ausreichend kleinen Temperaturabständen der Messwerte auch als die Temperatur des Maximalwerts des Gradienten angenommen werden.

Um die Enthalpie des Übergangs zu bestimmen, wird das Maximum der Gradient auf 1 normiert. Mittels folgender Formel lässt sich nun die Enthalpieänderung ΔH bestimmen [15]. Für den Faktor α wird entsprechend $14\,583\text{ J/mol/K}$ eingesetzt [16]. T_{\max} entspricht der Temperatur des Maximums in K. $T_{3/4}$ in K der Temperatur, bei der der Gradient die Hälfte seines Maximalwerts entspricht. $T_{3/4}$ ist dabei die höhere der beiden Halbwertbreitentemperaturen ($T_{3/4} > T_{\max}$).

$$\Delta H \approx \frac{-\alpha}{\frac{1}{T_{\max}} - \frac{1}{T_{3/4}}} \quad (4.6)$$

Die dritte Möglichkeit ist eine direkte Anpassung der Ableitungsfunktion der expliziten Schmelzkurvenfunktion (Gleichung 4.12) an den zuvor bestimmten Gradienten. Dabei ist eine Enthalpiebestimmung mittels der normierten Halbwertbreite nicht nötig, da die explizite Funktion basierend auf der Van't Hoff Analyse bereits die Enthalpieänderung berücksichtigt (Abschnitt 4.7).

$$\frac{\Delta E_d}{\Delta T} = (m_u - m_o)\theta(T) + [(m_u - m_o)T + n_u - n_o] \frac{\partial\theta(T)}{\partial T} + m_o \quad (4.7)$$

$$\text{mit } \theta(T) = \frac{1}{1 + e^x} \quad \text{mit } x = \frac{\Delta H}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m} \right) \quad (4.8)$$

$$\text{und } \frac{\partial\theta(T)}{\partial T} = \frac{\Delta H \cdot e^{\frac{\Delta H}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m} \right)}}{R \cdot T^2 \cdot \left(e^{\frac{\Delta H}{R \cdot T}} + 1 \right)^2} \quad (4.9)$$

Mit Kenntnis der Enthalpieänderung ΔH kann die Entropieänderung ΔS mittels Gleichung 4.30 berechnet werden.

4.6.2 Medianbildung

Eine weitere Möglichkeit der Schmelztemperaturbestimmung ist die Bestimmung des Medians im Anschluss an die Anpassung zweier Basislinien.

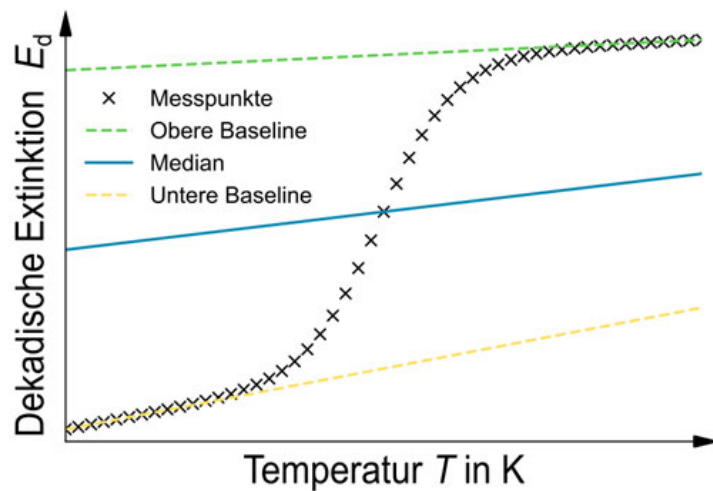


Abbildung 4.3: Anpassung der oberen und unteren Basislinie an eine idealisierte Schmelzkurve für intramolekulare Reaktionen mit anschließender Medianbildung.

Zunächst wird die obere und untere Basislinie an die gemessene Schmelzkurve angepasst. Um nur den linearen Bereich anzupassen, werden zwei Schwellwerte zur Datenselektion sowie die vorher bestimmten Maximaltemperatur des Gradienten verwendet. t_1 ist der Schwellwert der ersten Ableitung $\frac{\Delta E_d}{\Delta T}$ und t_2 der Schwellwert der zweiten Ableitung $\frac{\Delta^2 E_d}{\Delta T^2}$.

$$\text{Untere Basislinie: } E_d = m_u \cdot T + n_u \quad \text{mit} \quad \frac{\Delta E_d}{\Delta T} \leq t_{u,1} \quad (4.10)$$

$$\text{und} \quad \frac{\Delta^2 E_d}{\Delta T^2} \leq t_{u,2} \quad \text{sowie} \quad T < T_m \approx \max\left(\frac{\Delta E_d}{\Delta T}\right)$$

$$\text{Obere Basislinie: } E_d = m_o \cdot T + n_o \quad \text{mit} \quad \frac{\Delta E_d}{\Delta T} \leq t_{o,1} \quad (4.11)$$

$$\text{und} \quad \frac{\Delta^2 E_d}{\Delta T^2} \leq t_{o,2} \quad \text{sowie} \quad T > T_m \approx \max\left(\frac{\Delta E_d}{\Delta T}\right)$$

Die lineare Funktion des Medians bildet sich als Mittelwert der Anstiege m und der Verschiebung n :

$$E_d = m_{\text{med}} \cdot T + n_{\text{med}} = \frac{m_o + m_u}{2} \cdot T + \frac{n_o + n_u}{2}$$

Die Schmelzkurve wird im Bereich des Schnittpunktes mit dem Median linear interpoliert. Der geringste euklidische Abstand zwischen interpolierter Schmelzkurve und Median wurde mit Python ermittelt. Der Fehler der somit bestimmten Schmelztemperatur lässt sich per Größtfehlerfortpflanzung bestimmen. Die Standardabweichungen σ der Anstiegs- und Offsetwert

addieren sich in diesem Fall zum 68 %-Fehler der Medianparameter.

$$\Delta m_{\text{med}} = \sigma_{m,o} + \sigma_{m,u} \quad \text{und} \quad \Delta n_{\text{med}} = \sigma_{n,o} + \sigma_{n,u}$$

Der Fehler der Schmelztemperatur lässt sich durch das erneute Berechnen des Medians und der Bestimmung des Schnittpunktes mit der Schmelzkurve berechnen. Für den korrigierten Median gilt nun

$$E_d(T) = (m_{\text{med}} \pm \Delta m_{\text{med}}) \cdot T + (n_{\text{med}} \pm \Delta n_{\text{med}})$$

Die Bestimmung der Enthalpieänderung erfolgt mittels der sogenannten Van't Hoff-Analyse.

4.6.3 Kurvenanpassung der Schmelzkurve

Die Anpassung einer Funktion an die direkt gemessenen Schmelzkurve basiert ebenfalls auf der Van't Hoff-Analyse. Statt die Basislinien manuell zu fiten, werden diese in Gleichung 4.12 inkludiert. D. h. man nimmt an, dass die Schmelzkurve sich aus zwei Basislinien sowie einer sigmoidalen Funktion zusammensetzt.

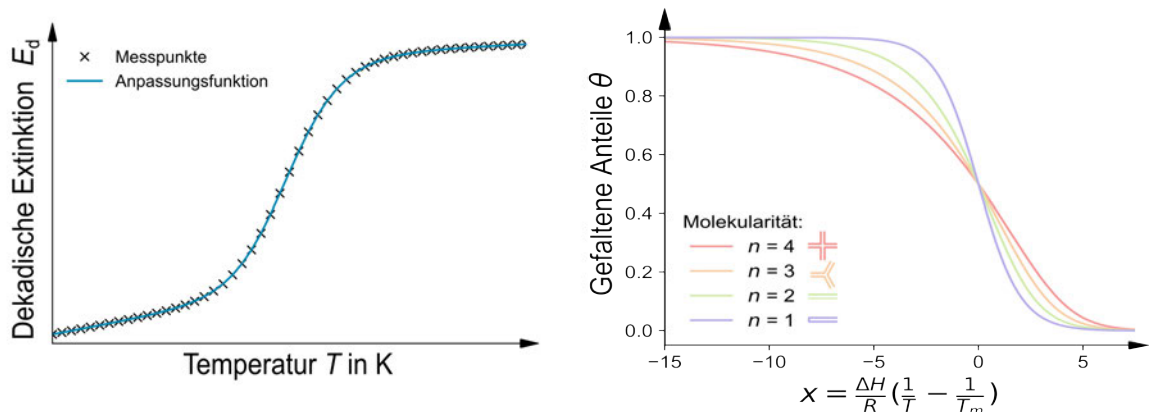


Abbildung 4.4: Links: Idealisierte Schmelzkurve $E_d(T)$ einer intramolekularen Reaktion ($n = 1$). Der *Basislinienanstieg* ist nicht null. Rechts: Darstellung der gefalteten Anteile θ in Abhängigkeit der Molekularität (Gleichung 4.14) und x (Gleichung 4.18).

Dies funktioniert nur unter der Annahme eines Zweizustandssystems. D. h. die Haarnadelstruktur liegt bei niedrigen Temperaturen vollständig gefaltet und bei hohen Temperaturen vollständig offen, ohne Zwischenstufen vor. Zudem muss sich die Probe immer im thermodynamischen Equilibrium befinden. Der Zusammenhang zwischen $\theta(T)$ und $E_d(T)$ ist folgende Form

$$E_d(T) = (m_1 \cdot T + n_1)\theta(T) + (m_2 \cdot T + n_2)(1 - \theta(T)) \quad (4.12)$$

„Die Molekularität $[n]$ der Reaktion entspricht der Anzahl an Molekülen (oder Atome und Ionen) , die an einer vergebenen Elementarreaktion teilnehmen“[17].



Das Aufschmelzen der Haarnadelstruktur ist eine uni- bzw. intramolekulare Reaktion mit $n = 1$. D.h. es ist nur ein Reaktionspartner vorhanden. Die expliziten Gleichungen für den Anteil an gefalteten Zuständen sind bis zu einem $n = 4$ ohne Einschränkungen des Definitionsbereichs bekannt [5].

$$n = 1 \quad \varphi_1(x) = \frac{1}{1 + e^x} = 1 - \frac{1}{1 + e^{-x}} \quad (4.14)$$

$$n = 2 \quad \varphi_2(x) = 1 - \frac{e^x}{4} \left(\sqrt{1 + 8e^{-x}} - 1 \right) = 1 - \frac{2}{1 + \sqrt{1 + 8e^{-x}}} \quad (4.15)$$

$$n = 3 \quad \varphi_3(x) = 1 + \frac{e^{x/3}}{\sqrt[3]{8}} \left(\sqrt[3]{w-1} - \sqrt[3]{w+1} \right) \quad \text{mit } w = \sqrt{1 + \frac{e^x}{27}} \quad (4.16)$$

$$n = 4 \quad \varphi_4(x) = 1 + \frac{1}{2} \sqrt{u-v} - \frac{1}{2} \sqrt{2\sqrt{u^2 + uv + v^2} - (u-v)} \quad (4.17)$$

$$\text{mit } u = \frac{e^{2x/3}}{4\sqrt[3]{2}} \sqrt[3]{r+1}, \quad v = \frac{e^{2x/3}}{4\sqrt[3]{2}} \sqrt[3]{r-1} \quad \text{und } r = \sqrt{1 + \frac{2048}{27} e^{-x}}$$

Alle Gleichungen sind nur vom x -Term abhängig. T beschreibt die absolute Temperatur in K, T_m die Schmelztemperatur in K, ΔH die molare Reaktionsenthalpie in $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ und $R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ die universelle Gaskonstante.

$$\theta(T) = \varphi_n(x) = \varphi_n \left(\frac{\Delta H}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m} \right) \right) \quad (4.18)$$

Im Anschluss kann die Entropieänderung mittels Gleichung 4.30 berechnet werden.

4.7 Thermodynamische Interpretation

Die Freie Enthalpie G (auch Gibbs-Energie) ist eine thermodynamische Zustandsfunktion, die Aufschluss über die Spontanität einer Reaktion gibt. In Bezug auf DNA bezieht sich die Freie Enthalpie auf die Energie, die benötigt wird, um eine bestimmte DNA-Doppelhelix zu stabilisieren oder zu destabilisieren. Wenn die Gibbs-Energie negativ ist, ist die Reaktion stabil und kann spontan ablaufen (exergone Reaktion). Ist sie positiv, erfordert die Reaktion zusätzliche Energie, um die DNA zu trennen oder zu verändern (endergone Reaktion). Sie ist definiert als

$$G := H - T \cdot S \quad (4.19)$$

Im thermodynamischen Gleichgewicht gilt

$$\Delta G = \Delta H - \Delta S \cdot T \quad T = \text{konst.} \quad (4.20)$$

Die Enthalpie H , ebenfalls eine Zustandsfunktion, misst die Wärme, die in einer Reaktion absorbiert oder abgegeben wird. In Bezug auf DNA bezieht sich die Enthalpie auf die Wärme, die bei der Bildung oder Auflösung der Doppelhelix (Auflösung Wasserstoffbrückenbindungen) freigesetzt oder absorbiert wird. Chemische Reaktionen finden häufig unter atmosphärischen Bedingungen statt. D. h. es kann Volumenarbeit entgegen die Atmosphäre verrichtet werden. Damit ergibt sich für die Enthalpieänderung

$$H := U + pV \quad (4.21)$$

$$\Delta H = \Delta U + p\Delta V \quad \text{mit} \quad \Delta U = q - p\Delta V \quad (4.22)$$

$$\text{für } p = \text{const. und } T = \text{const.} \quad \rightarrow \quad \Delta H = q \quad (4.23)$$

Die Entropie S , ebenfalls eine Zustandsgröße, ist ein Maß für die Unordnung oder die Unvorhersehbarkeit eines Systems. Im Fall der DNA erhöht sich die Entropie, wenn die Doppelhelix in ihre Einzelstränge getrennt wird, da dies zu einer größeren Anzahl von Konfigurationen führt, die die Moleküle einnehmen können. Die Entropie spielt eine wichtige Rolle bei der Bestimmung der Richtung einer DNA-Reaktion, da sie die Tendenz eines Systems zur Zunahme der Unordnung berücksichtigt. Allgemein ist diese definiert als

$$\Delta S = \frac{q_{\text{reversibel}}}{T} \quad (4.24)$$

Die Schmelztemperatur T_m der DNA ist die Temperatur, bei der die Doppelhelix in Einzelstränge aufgebrochen wird. Dieser Prozess wird als Denaturierung bezeichnet. Die Schmelztemperatur hängt von der Sequenz der DNA und den Umgebungsbedingungen ab, einschließlich des Salzgehalts und des pH-Werts. Die Gibbs-Energie, die Enthalpie und die Entropie spielen bei der Bestimmung der Schmelztemperatur eine entscheidende Rolle. Wenn die Gibbs-Energie positiv wird ($G > 0$) und die Enthalpie (ΔH) positiv ist, dann wird die DNA bei höheren Temperaturen denaturiert. Dies ist auf die Zerstörung der Wasserstoffbrückenbindungen zurückzuführen, die die Basenpaarung in der Doppelhelix aufrechterhalten. Definiert ist diese als der Quotient aus Enthalpie- und Entropieänderung bzw. T_m ist die Temperatur bei der ΔG null ist.

$$T_m = \frac{\Delta H}{\Delta S} \quad (4.25)$$

$$\Delta G = \Delta H - T_m \Delta S = 0 \quad (4.26)$$

Um Reaktionen genau zu beschreiben, vergleicht man die Änderung der sogenannte Standardenthalpie ΔG° unter Standardbedingungen. D. h. $T = 298 \text{ K}$ bzw. 25°C , $p = 1 \text{ atm}$, $\text{pH} = 7,0$ und die Stoffmenge aller Reaktanden ist jeweils 1 mol L^{-1} . Damit gilt für eine Reaktion mit der Reaktionskonstante K_a

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (4.27)$$

Dies ist die Grundlage für die Van't Hoff-Analyse. Dabei wird eine lineare Funktion im Bereich der x-Achse an die $\ln K_a \left(\frac{1}{T}\right)$ Funktion angepasst. Der Anstieg dieser Kurve entspricht $-\frac{\Delta H}{R}$ und der Schnittpunkt mit der y-Achse $\frac{\Delta S}{R}$, wobei mit $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ die allgemeine Gaskonstante gemeint ist. Für K_a gilt

$$K_a(T) = \frac{[H](T)}{[E](T)} = \frac{\theta(T)}{1 - \theta(T)} = e^{-\frac{\Delta G}{RT}} = e^{\frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT}} \quad (4.28)$$

$[H]$ entspricht dabei temperaturabhängigen Konzentration der Haarnadelstruktur und $[E]$ der temperaturabhängigen Konzentration im ungebundenen Zustand. θ ist dabei der Anteil an gefalteten Molekülen in der Probe. Bei dieser Analyse wird davon ausgegangen, dass sich die Probe dauerhaft im thermodynamischen Gleichgewicht befindet und dass die DNA im Bereich der Basislinien vollständig ge- bzw. entfalten ist [18]. Um θ zu bestimmen, wird die gemessene Schmelzkurve mithilfe der Basislinien normiert. $E_d(T)$ ist die gemessene dekadische Extinktion, $L_{o/u}$ die Funktionswerte der Basislinien, gebildet aus dem jeweiligen Anstieg $m_{o/u}$ und dem Schnittpunkt mit der Ordinatenachse $n_{o/u}$ in Abhängigkeit der absoluten Temperatur T .

$$\theta(T) = \frac{E_d(T) - L_o(T)}{L_u(T) - L_o(T)} \quad \text{mit} \quad L_{o/u}(T) = m_{o/u} \cdot T + n_{o/u} \quad (4.29)$$

Mit Kenntnis von T_m und ΔH oder ΔS lässt nach Gleichung 4.25 jeweils ΔS bzw. ΔH berechnen.

$$\Delta S = \frac{\Delta H}{T_m} \quad \Delta H = \frac{\Delta S}{T_m} \quad (4.30)$$

5 Ergebnisse

5.1 Schmelzkurvenauswertung

Beispielhaft wird eine einzelne Schmelzkurve der TRIS-HCl-Messung mit zugegebener K(I)-Konzentration von 30 mM bei einem pH-Wert von 8,5 betrachtet.

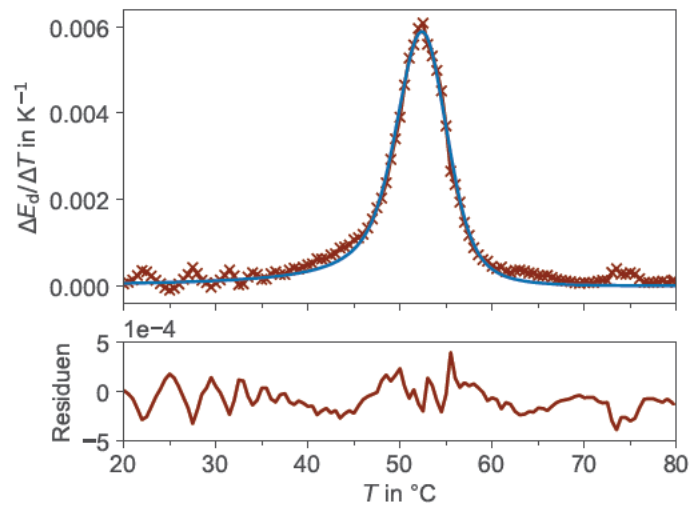


Abbildung 5.1: Anpassung des Gradienten mittels einer verdrehten Gaussfunktion (vgl. Unterabschnitt 4.6.1).

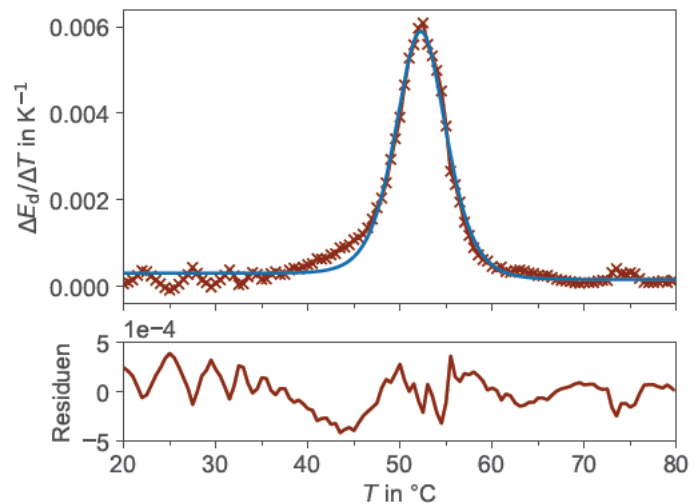


Abbildung 5.2: Anpassung des Gradienten mittels der Ableitung der expliziten Schmelzkurve (vgl. Unterabschnitt 4.6.1).

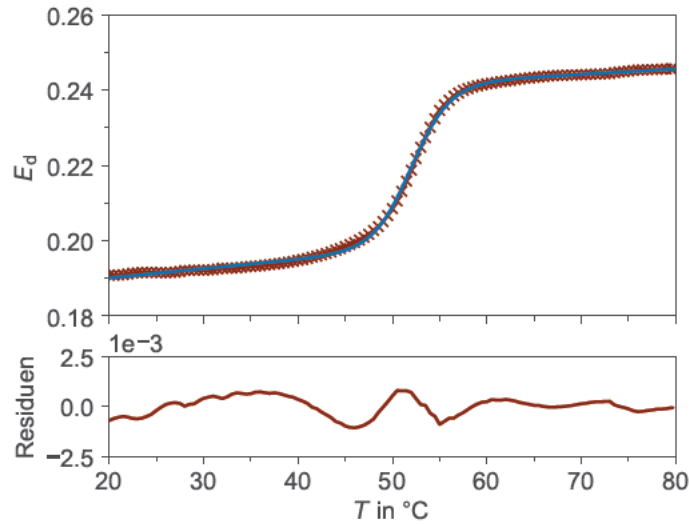


Abbildung 5.3: Anpassung der Messwerte mittels der expliziten Schmelzkurvenfunktion (vgl. Unterabschnitt 4.6.3).

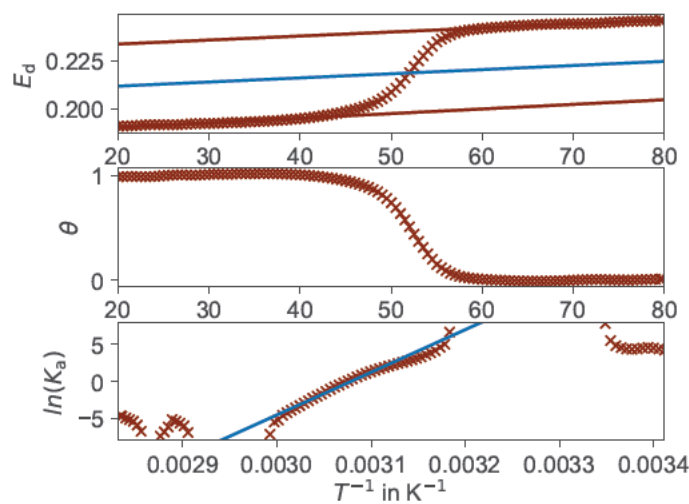


Abbildung 5.4: Oben: Anpassung der Basislinien an die Messwerte. Anschließend wird die Schmelztemperatur durch den Median bestimmt. **Mitte:** Die Schmelzkurve wurde anhand der Basislinien in θ umgewandelt. **Unten:** Umwandlung von θ zu $\ln K_a$. Anschließend wird im Van't Hoff-Diagramm eine Gerade im linearen Bereich (um $\ln K_a = 0$) bestimmt (vgl. Unterabschnitt 4.6.2).

Tabelle 5.1: Ergebnisse der einzelnen Analysemethoden.

Methode	T_m in °C	ΔH in kJ mol^{-1}	ΔS in $\text{kJ mol}^{-1} \text{K}^{-1}$
Anpassung Gradient	$52,37 \pm 0$	$23559,1 \pm 0$	$449,9 \pm 0$
Maxima Gradient	$52,50 \pm 0,25$	520000 ± 87000	9900 ± 1700
Explizit Gradient	$52,342 \pm 0,047$	$482,9 \pm 8,2$	$9,23 \pm 0,17$
Explizit	$52,079 \pm 0,043$	$434,3 \pm 7,4$	$8,34 \pm 0,15$
Median	$52,07 \pm 0,13$	$509 \pm 8,1$	$1,57 \pm 0,025$

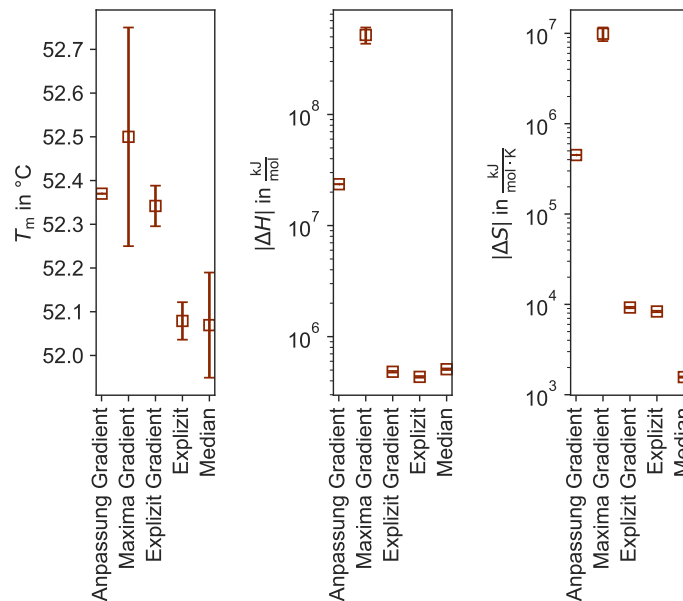


Abbildung 5.5: Vergleich der einzelnen Analysemethoden. Werte anhand Tabelle 5.1.

Die bestimmten Schmelztemperaturen unterscheiden sich kaum. Die Halbwertbreitenanalyse liefert Ergebnisse, die stark voneinander abweichen. Da die Analyse mittels Median und expliziter Schmelzkurvenfunktion auf der Van't Hoff-Analyse basieren, geben sie ähnliche Ergebnisse aus. Im weiteren Verlauf werden die Ergebnisse der expliziten Kurvenanpassung (vgl. Unterabschnitt 4.6.3) an die jeweiligen gemessenen Schmelzkurven verwendet.

Zur weiteren Darstellung ist es sinnvoll, die Kurven zu normieren. Die Normierung der Kurven erfolgt mit den Absorbanzwerten bei 20 °C und 70 °C. Wenn dies nicht möglich ist, wird der Anpassungsbereich entsprechend verkleinert.

$$E_{d,\text{norm}}(T) = \frac{E_d(T) - E_d(T_{\text{obere Grenze}})}{E_d(T_{\text{obere Grenze}}) - E_d(T_{\text{untere Grenze}})}$$

Im oberen Teil von Abbildung 5.7 sind die normierten Schmelzkurven für die Messung von K(I) in TRIS-HCl bei pH = 8,5 dargestellt. Mit steigender Temperatur steigt die Absorbanz in sigmoidaler Form an. Mit steigender Kationenkonzentration verschiebt sich die Kurve entlang der Abszissenachse in positiver Richtung. Der Anstieg der unteren und oberen Basislinie ist ungleich null. Zwischen den Abkühlungs- und Abkühlungskurven stellt sich eine Hysterese ein, wobei die Abkühlkurven immer zu tieferen Temperaturen verschoben sind.

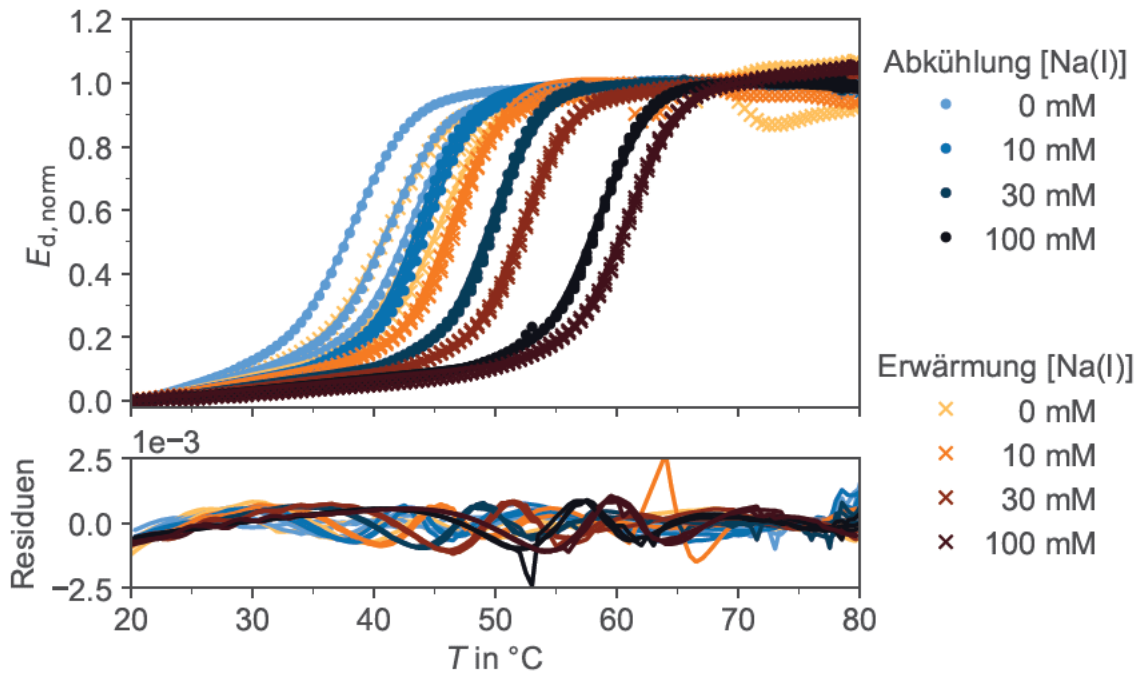


Abbildung 5.6: $E_d(T)$ für TRIS-HCl bei pH = 8,5 und variierender [Na(I)] unter Standardbedingungen aufgenommen Kapitel 3. Die Normierung erfolgte auf 20 °C und 70 °C.

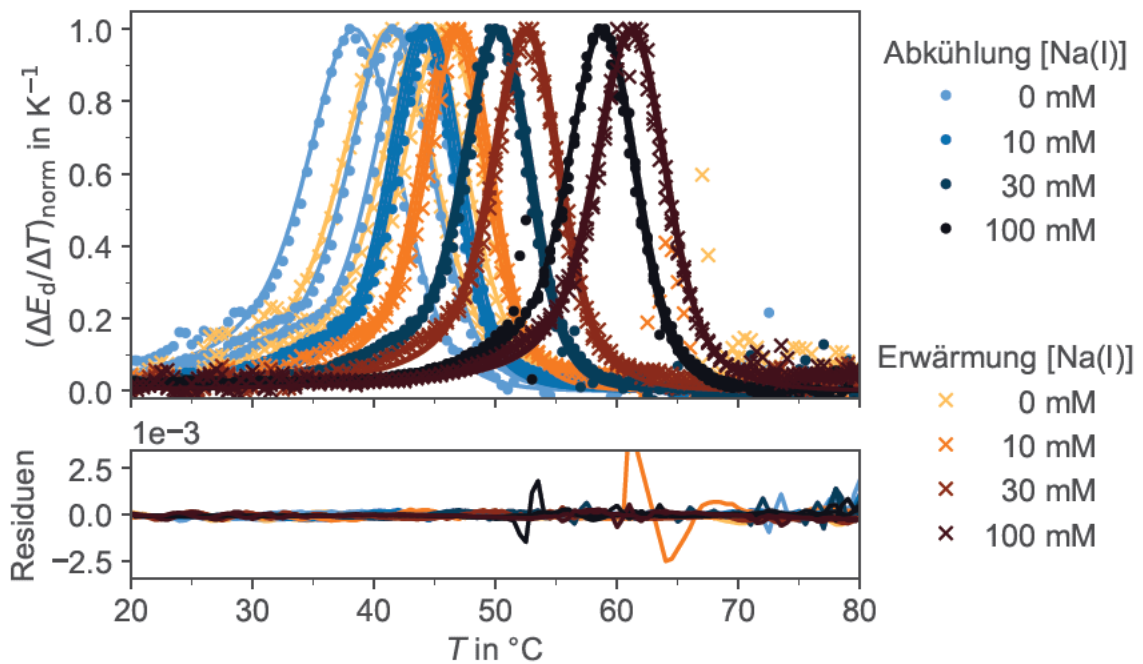


Abbildung 5.7: Gradient der in Abbildung 5.6 aufgenommenen Schmelzkurven. Die Normierung erfolgte jeweils auf das Maximum.

Im mittleren Diagramm von Abbildung 5.7 ist der Gradient der gemessenen Kurven gegen die Temperatur dargestellt und mit einer Gaußfunktion entsprechend Gleichung 4.5 angepasst. Der Temperaturwert des Maximums entspricht der Schmelztemperatur T_m .

5.2 Vergleich der Messumgebungen

Folgende Abbildungen enthalten die durch die direkte Anpassung der Schmelzkurve erhaltenen Parameter und Fehler. Diese sind in Anhang A zu finden. Beim Renaturieren der DNA ist die Enthalpie und Entropieänderung jeweils negativ. Zur besseren Darstellung werden die Beträge verwendet.

In Abbildung 5.8 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen an. Dabei nähern sich die Messpunkte bei höheren Metallionenkonzentrationen an die vorhergesagte Schmelztemperatur an. Die Erwärmungskurve liegt dabei immer über der Abkühlungskurve. K(I) und Na(I) unterscheiden sich kaum. Die Enthalpieänderung ist nahezu konstant, während die Entropieänderung mit steigender Kationenkonzentration abfällt.

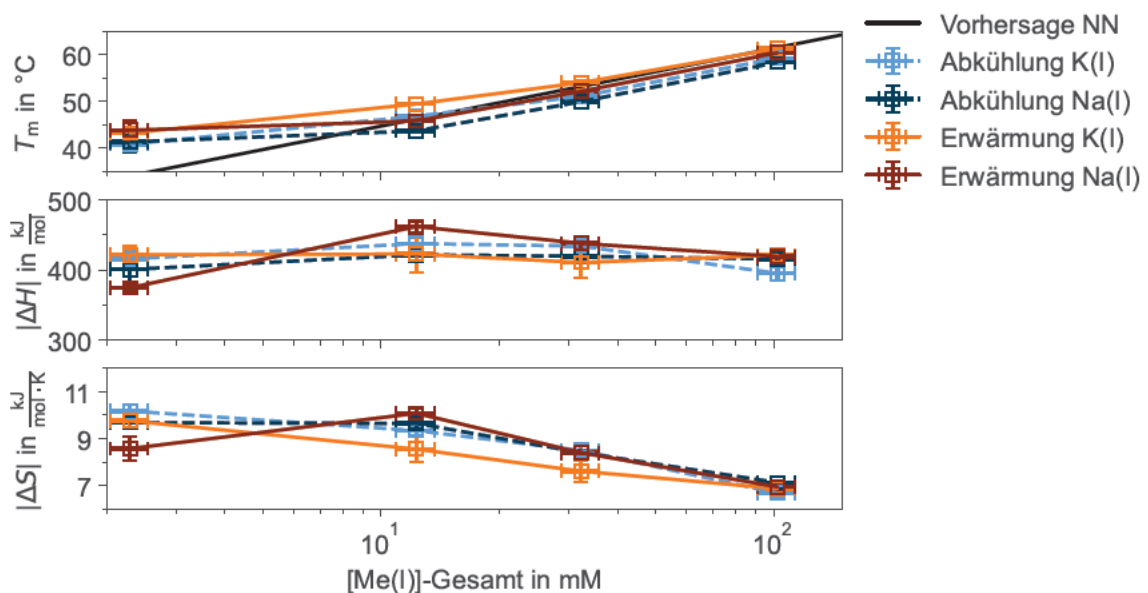


Abbildung 5.8: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration für K(I) und Na(I) in MOPS bei einem pH-Wert von 6,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie die Standardabweichung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind Tabelle A.13 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbour*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), vgl. Abschnitt 4.4.

In Abbildung 5.9 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen mit hoher Pufferkonzentration an. Dabei nähern sich die Messpunkte bei höheren Metallionenkonzentrationen an die vorhergesagte Schmelztemperatur an. Die Erwärmungskurve liegt dabei immer über der Abkühlungskurve. K(I) und Na(I) unterscheiden sich stark bei niedrigen Pufferkonzentrationen und Kationenkonzentrationen stark.

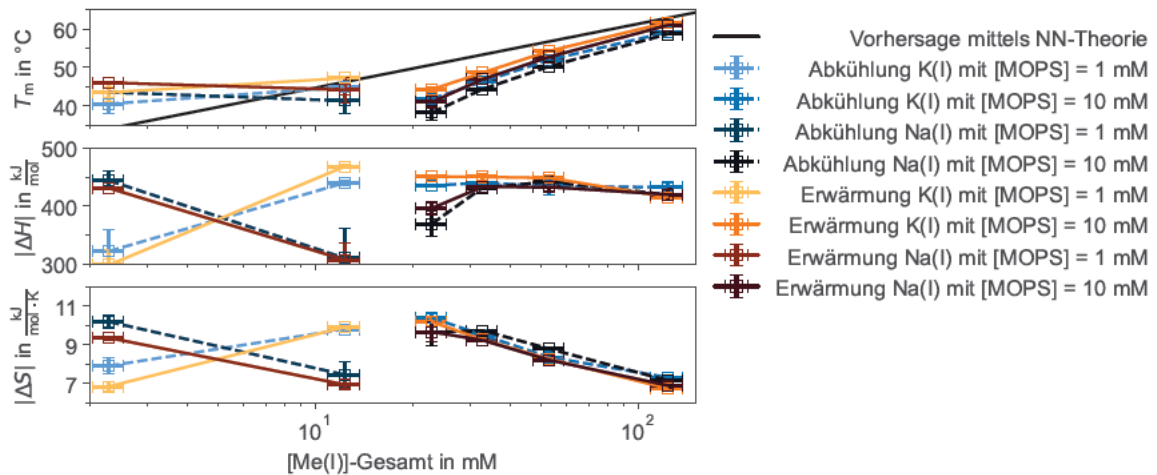


Abbildung 5.9: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration für K(I) und Na(I) in MOPS bei einem pH-Wert von 7,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie die Standardabweichung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind Tabelle A.13 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbore*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), Vgl. Abschnitt 4.4.

In Abbildung 5.10 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen an. Dabei nähern sich die Messpunkte bei höheren Metallionenkonzentrationen an die vorhergesagte Schmelztemperatur an. Die Erwärmungskurve liegt dabei immer über der Abkühlungskurve. K(I) und Na(I) unterscheiden sich kaum. Die Enthalpieänderung steigt zunächst leicht an und ist danach konstant, während die Entropieänderung mit steigender Kationenkonzentration abfällt.

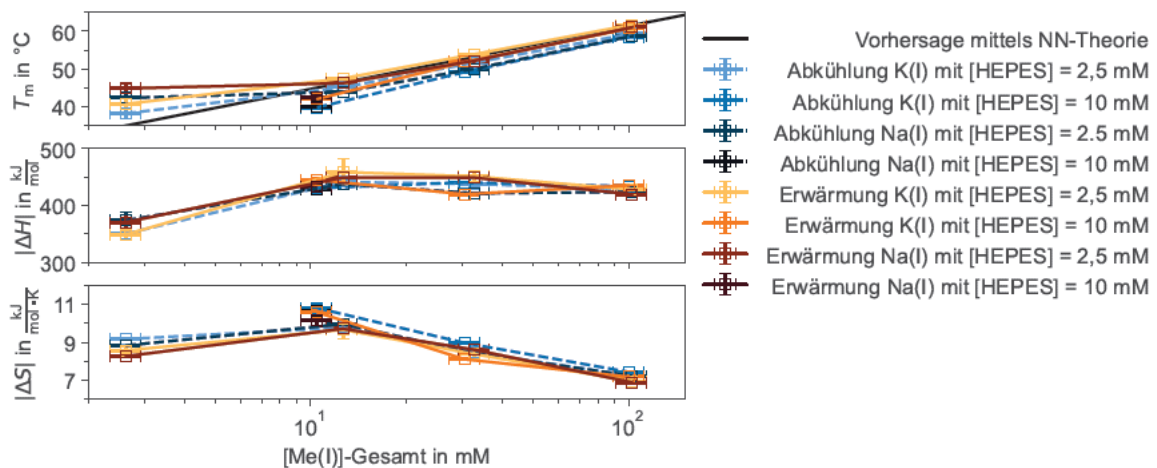


Abbildung 5.10: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration für K(I) und Na(I) in HEPES bei einem pH-Wert von 7,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie die Standardabweichung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind Tabelle A.12 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbore*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), Vgl. Abschnitt 4.4.

In Abbildung 5.11 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen an. Dabei nähern sich die Messpunkte bei höheren Metallionenkonzentrationen an die vorhergesagte Schmelztemperatur an. Die Erwärmungskurve liegt dabei immer über der Abkühlungskurve. K(I) und Na(I) unterscheiden sich kaum. Die Enthalpieänderung ist nahezu konstant, während die Entropieänderung mit steigender Kationenkonzentration leicht abfällt.

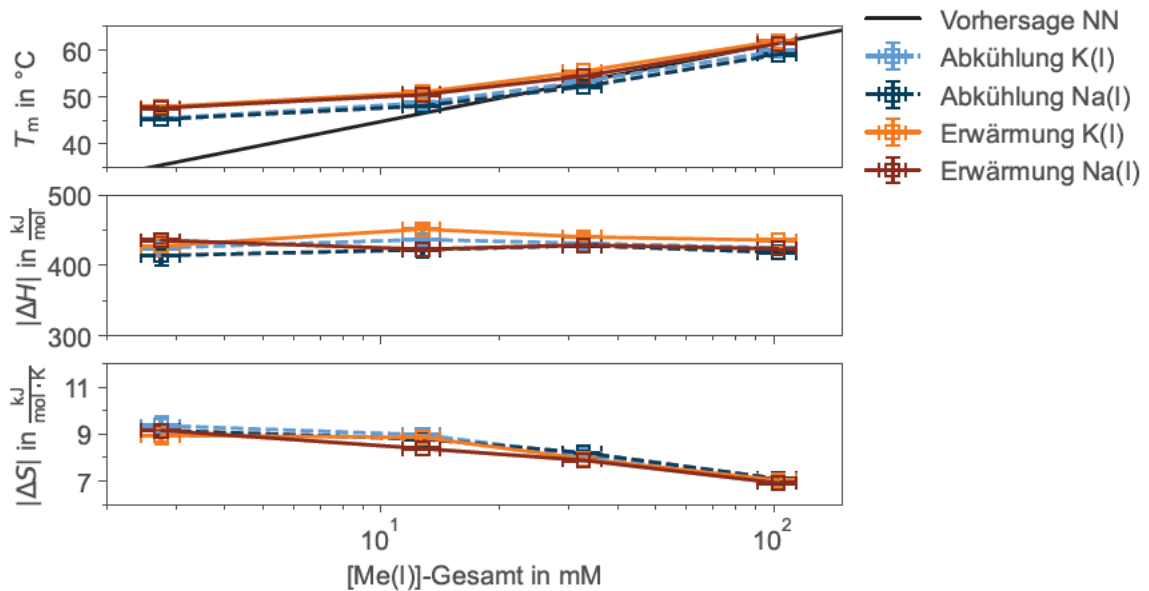


Abbildung 5.11: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration für K(I) und Na(I) in TRIS-HCl bei einem pH-Wert von 7,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie die Standardabweichung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind im Tabelle A.14 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbour*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), vgl. Abschnitt 4.4.

In Abbildung 5.12 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen an. Dabei nähern sich die Messpunkte bei höheren Metallionenkonzentrationen an die vorhergesagte Schmelztemperatur an. Die Erwärmungskurve liegt dabei immer über der Abkühlungskurve. K(I) und Na(I) unterscheiden sich kaum. Die Enthalpieänderung steigt zunächst an und bleibt ab circa 10 mM nahezu konstant. Die Entropieänderung sinkt mit höheren Konzentrationen ab.

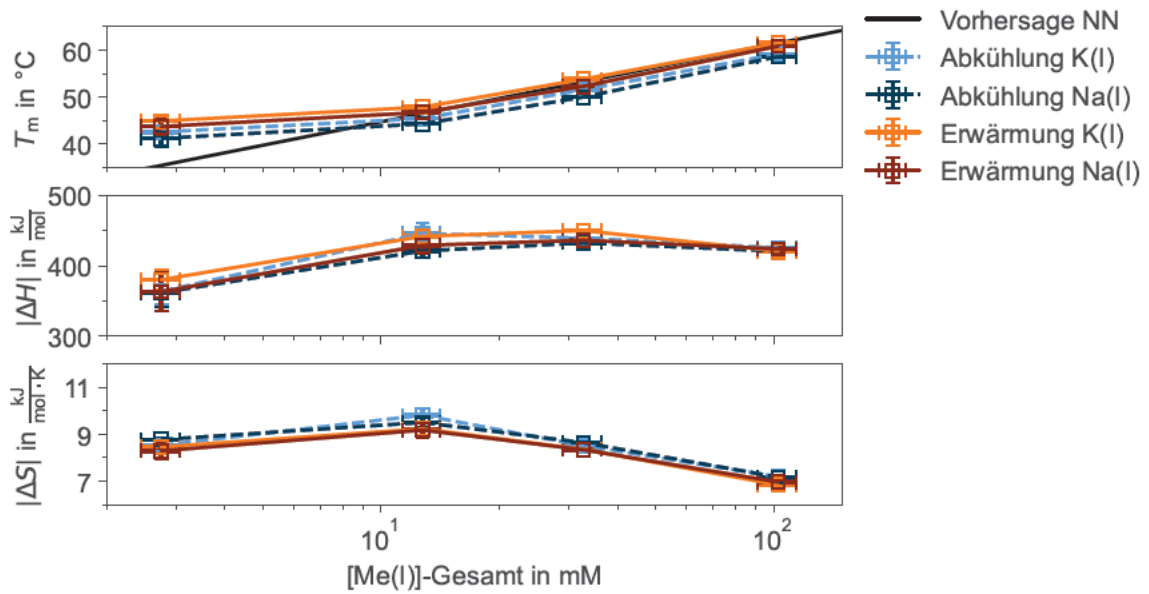


Abbildung 5.12: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration für K(I) und Na(I) in TRIS-HCl bei einem pH-Wert von 8,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie die Standardabweichung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind im Tabelle A.14 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbore*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), vgl. Abschnitt 4.4.

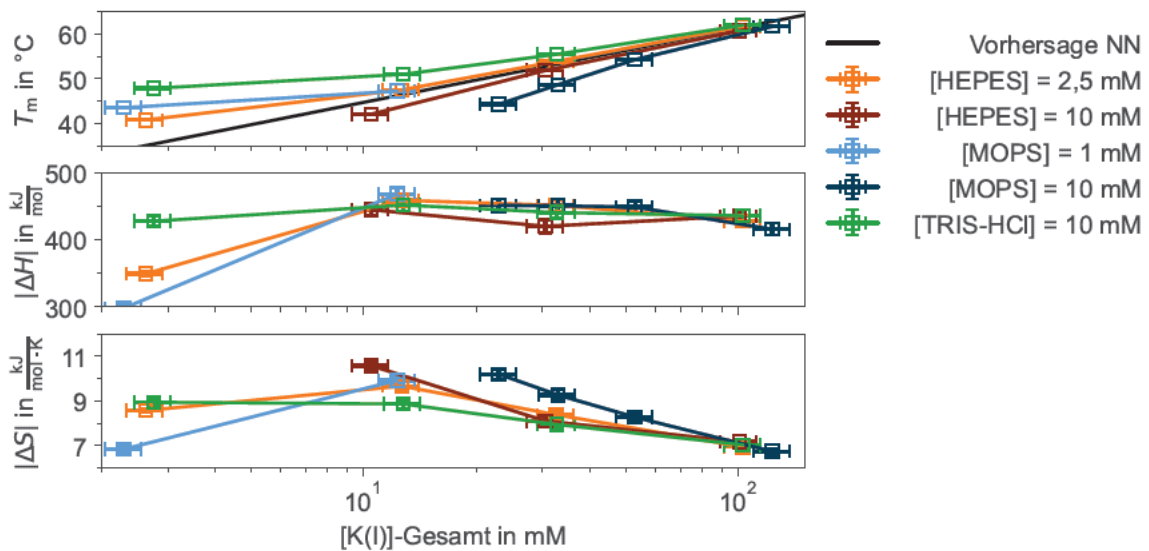


Abbildung 5.13: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration für die Abkühlungskurven von K(I) in HEPES, MOPS und TRIS-HCl bei einem pH-Wert von 7,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie dessen Fehler mittels Größtfehlerabschätzung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind Tabelle A.13, Tabelle A.12 und Tabelle A.14 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbore*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), vgl. Abschnitt 4.4.

In Abbildung 5.13 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen an. Dabei nähern sich die Messpunkte bei höheren Metallionenkonzentrationen an die vorhergesagte Schmelztemperatur an. Betrachtet man die 10 mM Proben, so ist die Schmelztemperatur von TRIS-HCl immer größer als die von HEPES, welche wiederum konstant größer als die von MOPS ist. Zudem sind die Schmelztemperaturen der Proben mit geringerer Pufferkonzentrationen bei höheren Schmelztemperaturen nahezu identisch. Außerdem sind diese T_m höher als die mit 10 mM Pufferkonzentration bestimmten Schmelztemperaturen. Für die hohen Puffer- und Kationenkonzentrationen ist die Enthalpieänderung nahezu konstant. Im Gegensatz zu allen anderen Messergebnissen steigt die Entropiekurve mit einer Pufferkonzentration von 1 mM.

In Abbildung 5.14 steigt die Schmelztemperatur für alle Messbedingungen an. pH-Wert unabhängig ist die Erwärmungskurve immer über der Abkühlungskurve. Der Anstieg der Kurven mit pH = 7,5 ist höher als der mit pH = 6,5. Jedoch liegen diese immer unter den Kurven mit pH = 6,5. Die Enthalpieänderung ist nahezu gleich und konstant. Die Entropieänderungen sinken nahezu linear mit steigender Kationenkonzentration wobei sich die Anstiege wieder deutlich unterscheiden.

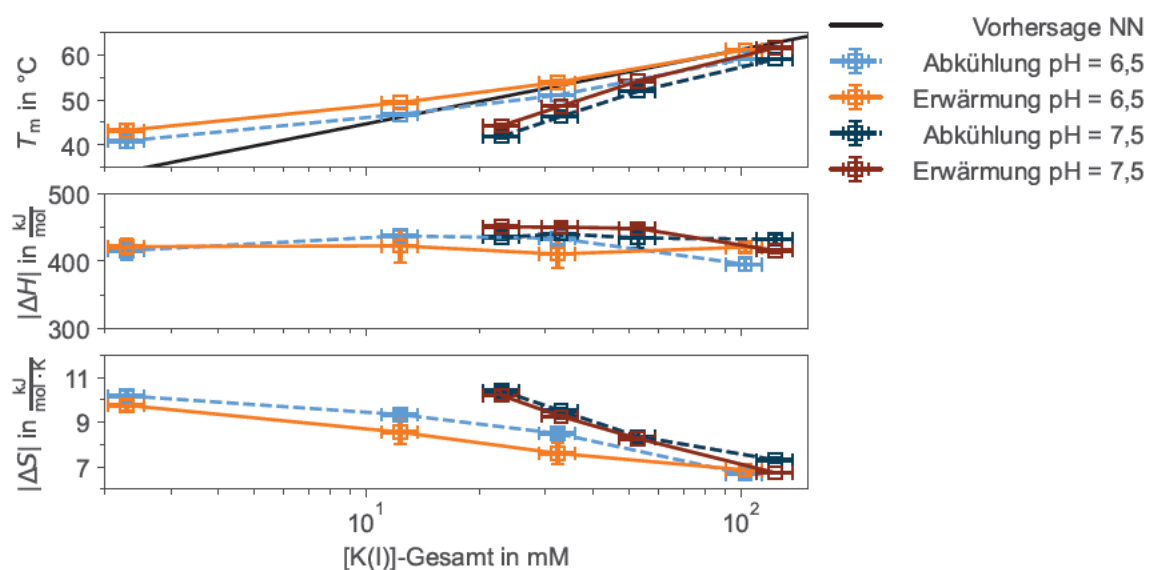


Abbildung 5.14: Mittels direkter Kurvenanpassung bestimmten thermodynamischen Eigenschaften. Schmelztemperatur T_m , Molare Enthalpie ΔH und Molare Entropie ΔS in Abhängigkeit der gesamten Kationenkonzentration von K(I) in 10 mM MOPS mit den pH-Werten von 6,5 und 7,5. Es wurde für jede Messbedingung der Mittelwert der einzelnen Triplikat-Messergebnisse sowie dessen Fehler mittels Größtfehlerabschätzung bestimmt. Die entsprechenden Daten sind Tabelle A.13 zu finden. Als Referenz ist die vorhergesagte Schmelztemperatur nach *Nearest Neighbour*-Theorie eingeblendet (schwarze Linie), vgl. Abschnitt 4.4.

5.3 Vergleich der Analysemethoden

Um die Enthalpie einer DNA-Haarnadelstruktur mittels UV-Vis-Spektroskopie zu bestimmen, stehen zwei gängige Methoden zur Verfügung: die Van't Hoff-Analyse und die Halbwertsbreitenanalyse. Diese beiden Ansätze bieten unterschiedliche Einblicke in die Temperaturabhängigkeit der Schmelzkurve einer DNA-Haarnadelstruktur und ermöglichen die Berechnung der Enthalpieänderung (ΔH) während der Denaturierung. Im Folgenden werden beide Methoden verglichen und erläutert, wie sie zur Bestimmung der Enthalpie in diesem Zusammenhang verwendet werden können.

Die Van't Hoff-Analyse basiert auf dem Prinzip, dass die Schmelzkurve einer DNA-Struktur eine exponentielle Abnahme der Absorption bei steigender Temperatur zeigt. Dies liegt daran, dass bei höheren Temperaturen die Doppelstrang-DNA in Einzelstränge aufbricht, was zu einer geringeren Absorption führt. Die Van't Hoff-Gleichung wird verwendet, um die Enthalpieänderung (ΔH) aus der Steigung der Linie im Arrhenius-Plot von $\ln(K)$ gegen $1/T$ zu berechnen, wobei K die Gleichgewichtskonstante für die Denaturierung ist.

Die Halbwertsbreitenanalyse hingegen konzentriert sich auf die Untersuchung der Breite der Schmelzkurve. Wenn die DNA-Haarnadelstruktur denaturiert, gibt es einen Übergangsbereich, in dem die Absorption zwischen dem vollständig denaturierten und vollständig intakten Zustand variiert. Diese Breite, die als Halbwertsbreite bezeichnet wird, spiegelt die Bandbreite der Temperaturen wider, bei denen die DNA teilweise denaturiert ist. Die Halbwertsbreitenanalyse ermöglicht es, die mittlere Schmelztemperatur (T_m) zu bestimmen und somit indirekt auf die Enthalpieänderung zuzugreifen.

Beide Methoden haben ihre Vor- und Nachteile. Die Van't Hoff-Analyse liefert eine direktere Möglichkeit zur Berechnung der Enthalpieänderung, erfordert jedoch eine genaue Kenntnis der Gleichgewichtskonstanten und ist bei komplexeren DNA-Strukturen möglicherweise weniger genau. Die Halbwertsbreitenanalyse ist weniger aufwendig und ermöglicht die Berechnung der mittleren Schmelztemperatur (T_m), was für die Bestimmung der Enthalpieänderung ausreichend sein kann, sie ist jedoch empfindlicher weniger direkt.

6 Diskussion

6.1 Temperatureinfluss

Wie erwartet steigt die Absorbanz des DNA-Hairpins mit steigender Temperatur. D. h. bei höheren Temperaturen werden mehr Photonen in den Ringsystemen der Nukleobasen besser absorbiert. Dies kann nur geschehen, wenn diese nicht mehr *stacken* und sich somit abschirmen [4]. Die DNA liegt dann also als Einzelstrang vor. Das nicht alle DNA-Moleküle als Einzelstrang vorliegen ist an der weiterhin steigenden Absorbanzkurve bei hohen Temperaturen zu erkennen. Zudem lässt sich anhand der Hysterese feststellen, dass die De- und Renaturierung der DNA nicht gleich schnell abläuft. Eine genauere Betrachtung der Faltungskinetik ist jedoch nicht das Ziel dieser Arbeit. Würde man die Abkühlungs- und Abkühlungsrate weiter verringern, würde sich auch die Hysterese verkleinern [18].

6.2 Ioneneinfluss

Mit steigender Kationenkonzentration steigt auch die Schmelztemperatur. Dies ist auf die Interaktion der positiv geladenen Kationen $\text{Na}(\text{I})$ und $\text{K}(\text{I})$ mit dem negativ geladenen DNA-Rückgrat zurückzuführen. Durch die elektrostatische Neutralisation des *Backbones*, stoßen sich die Phosphatreste weniger stark voneinander ab, was stärkere bzw. stabilere Kompaktierung, also Faltung der DNA zur Folge hat. $\text{Na}(\text{I})$ und $\text{K}(\text{I})$ scheinen dabei eine ähnlich stabilisierende Wirkung zu haben.

Wenn der pH-Wert in einer Lösung abnimmt und sauer wird (d. h. der $\text{H}(\text{I})$ -Gehalt steigt), neigen die Stickstoffbasen dazu, Protonen ($\text{H}(\text{I})$ -Ionen) zu akzeptieren. Dieser Prozess wird als Protonierung bezeichnet. Protonierung erfolgt in erster Linie an Stickstoffatomen in den Basen. Zum Beispiel kann der Stickstoff in den Aminogruppen von Adenin und Guanin in saurer Umgebung ein Proton aufnehmen.

Die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen in der DNA sind entscheidend für die Stabilität der Doppelhelix. In neutralen Bedingungen ($\text{pH} = 7$) sind diese Wasserstoffbrücken stark und halten die beiden Stränge der DNA zusammen. Wenn jedoch die Basen protoniert werden, werden die Wasserstoffbrückenbindungen geschwächt. Das zusätzliche Proton in den Basen stört die Elektronenverteilung und die Ladungsverteilung innerhalb der Basen, was zu einer Abnahme der Bindungsfähigkeit führt.

Wenn die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen geschwächt sind, kann die Doppelhelix-Struktur der DNA aufbrechen, und die beiden Stränge trennen sich. Dieser Prozess wird als Denaturierung bezeichnet. Bei extrem sauren Bedingungen, beispielsweise bei einem niedrigen pH-Wert, kann die Denaturierung sehr stark sein, da viele Basen protoniert sind und die Wasserstoffbrückenbindungen fast vollständig aufgelöst werden [2].

6.3 Puffereinfluss

Bei geringer Pufferkonzentration ist die Haarnadelstruktur stabiler. MOPS und HEPES haben aufgrund ihres Aufbaus ähnliche Eigenschaften. HEPES und MOPS sind zudem weniger Temperaturempfindlich [16].

7 Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel der Arbeit war es, eine DNA-Haarnadelstruktur mittels UV-Vis-Spektroskopie in unterschiedlichen Umgebungen zu untersuchen. Es wurde das Puffermedium mit MOPS, HEPES und TRIS-HCl, das hinzugegebenen Kation mit Na(I) und K(I) sowie der pH-Wert im neutralen Bereich angepasst.

Im Experiment konnte bewiesen werden, dass mit Zunahme der Metallionenkonzentration die Schmelztemperatur der Haarnadelstruktur gestiegen ist, da das negative Rückgrat der DNA durch die Metallionen abgeschirmt worden ist. Beide Metallionen haben eine ähnliche stabilisierende Wirkung auf die Bildung der Haarnadelstruktur. Um für zukünftige Experimente noch bessere Ergebnisse zu erzielen, soll zusätzlich Paraffinöl auf die Probe pipettiert werden, um das Verdunsten und damit eine mögliche Kondensation an den Küvetten zu verhindern.

Die Analysemethoden liefern alle ein Ergebnis, wobei die direkte Anpassung der expliziten Schmelzkurve am einfachsten ist. Sie liefert direkt Ergebnisse für ΔH .

Es ist zu erkennen, dass mittels UV-VIS Spektroskopie eine Nukleinsäure charakterisiert werden kann. Der nächste Schritt ist mittels UV-VIS Spektroskopie verschiedene RNA-Konstrukte zu untersuchen sowie die direkte Analyse auf weitere höhere Molekularitäten mit globaler Kurvenanpassung erweitert werden soll.

Anhang A: Ergebnistabellen und Diagramme

Tabelle A.1: Gemittelten Schmelztemperaturen $\overline{T_m}$ in °C über alle Multiplikatoren und Runs einer Messumgebung pro Kationenkonzentration [Me(I)] zugegeben in mM. $T_{m,\min}$ in °C ist die niedrigste und $T_{m,\max}$ in °C die höchste bestimmte Schmelztemperatur in einer Messumgebung. Diese bilden die Grenzen der Fehlerbalken.

Puffer	pH	Ion	[Me(I)] zugegeben	Abkühlung			Abkühlung		
				$\overline{T_m}$	$T_{m,\max}$	$T_{m,\min}$	$\overline{T_m}$	$T_{m,\max}$	$T_{m,\min}$
HEPES	7,4	Na(I)	0	40,5	41,7	39,2	42,5	43,4	41,3
			10	42,3	45,6	37,2	42,5	47,2	34,7
			30	48,4	51,4	44,0	49,8	53,0	46,4
			100	56,4	59,3	52,5	58,1	61,1	55,3
HEPES	7,4	K(I)	0,03	29,6	34,8	27,4	33,0	36,6	30,1
			0,3	35,3	36,8	33,5	37,6	39,3	35,3
			3,3	40,4	40,7	40,1	42,3	43,1	41,7
			33,3	52,3	52,5	51,9	54,7	55,0	54,2

Tabelle A.2: Enthält die aus dem Oligo-Rechner [9] bestimmte Schmelztemperatur nach der *Nearest Neighbor*-Methode in Abhängigkeit der zugegebenen Kationenkonzentration [Me(I)]_{zu}, dem in Abschnitt 4.3 berechneten Kationenhintergrund [Me(I)]_{bg} und der im Probenansatz gesamt enthaltenen Kationenkonzentration [Me(I)]_{ges} = [Me(I)]_{zu} + [Me(I)]_{bg}.

* Kann mit der *Nearest Neighbor*-Methode nicht bestimmt werden.

Puffer	pH	Ion	[Me(I)] _{zu} in mM	[Me(I)] _{bg} in mM	[Me(I)] _{ges} in mM	[DNA] in mM	$T_{m,nn}$ in °C
HEPES	7,4	K(I)	0,03	2,74	2,77	670	34,11
			0,3		3,04		37,03
			3,3		6,04		42,03
			33,3		38,3		54,94
HEPES	7,4	Na(I)	0	8,3	8,3	500	43,82
			10		18,3		49,67
			30		38,3		55,06
			100		108,3		62,59
TRIS-HCl	7,5 / 8,5	Na(I) / K(I)	0	0	0	500	-*
			10		10		45,43
			30		30		53,35
			100		100		62,03

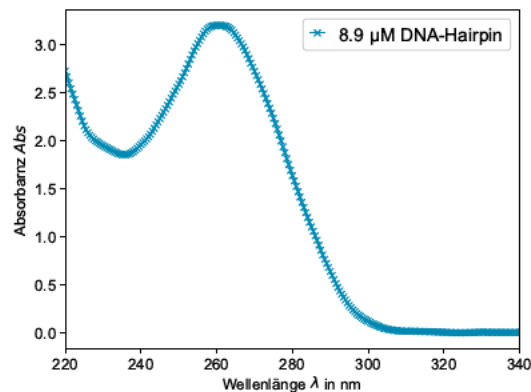


Abbildung A.1: Im NanoDrop aufgenommenes Absorptionsspektrum der verwendeten Haarnadelstruktur (vgl. Kapitel 3). Dieses weist ein Absorptionsmaximum bei 260 nm auf. Alle Schmelzkurven werden dementsprechend bei einer Wellenlänge von 260 nm gemessen.

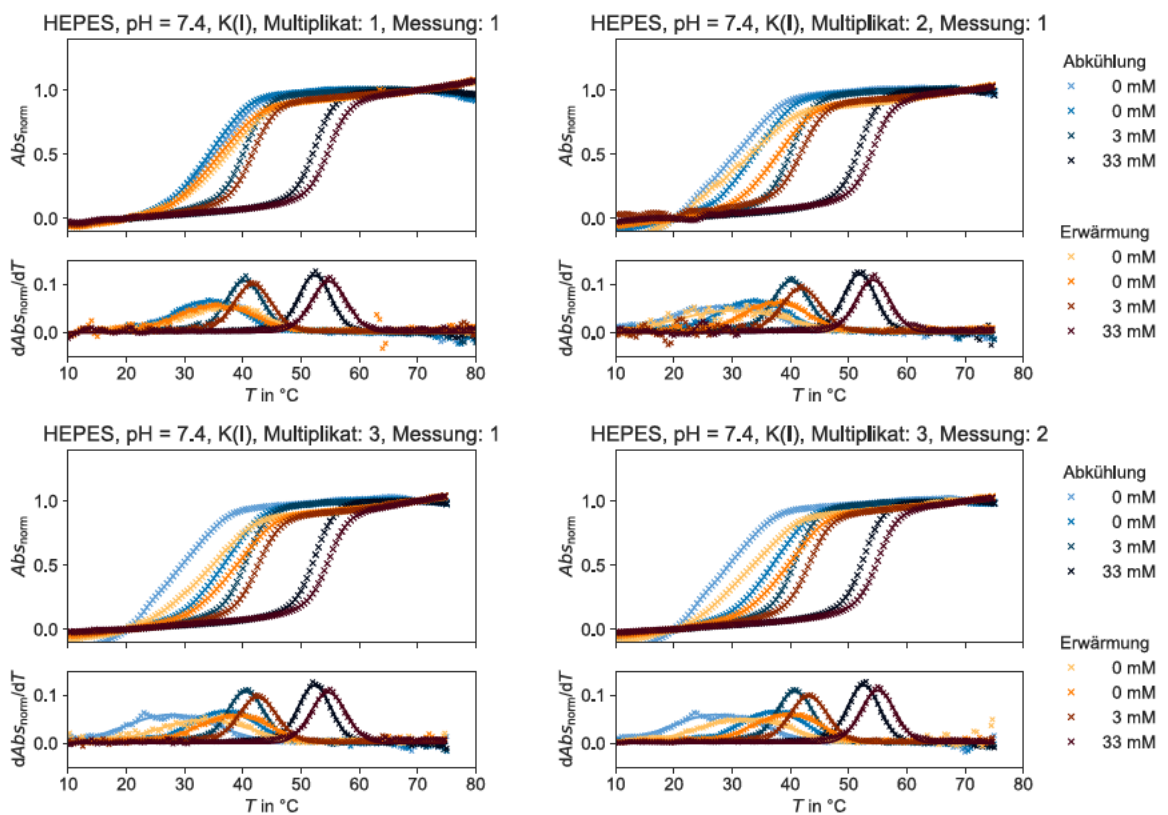


Abbildung A.2: Schmelzkurvenmessung von K(I) in HEPES bei pH = 7,4.

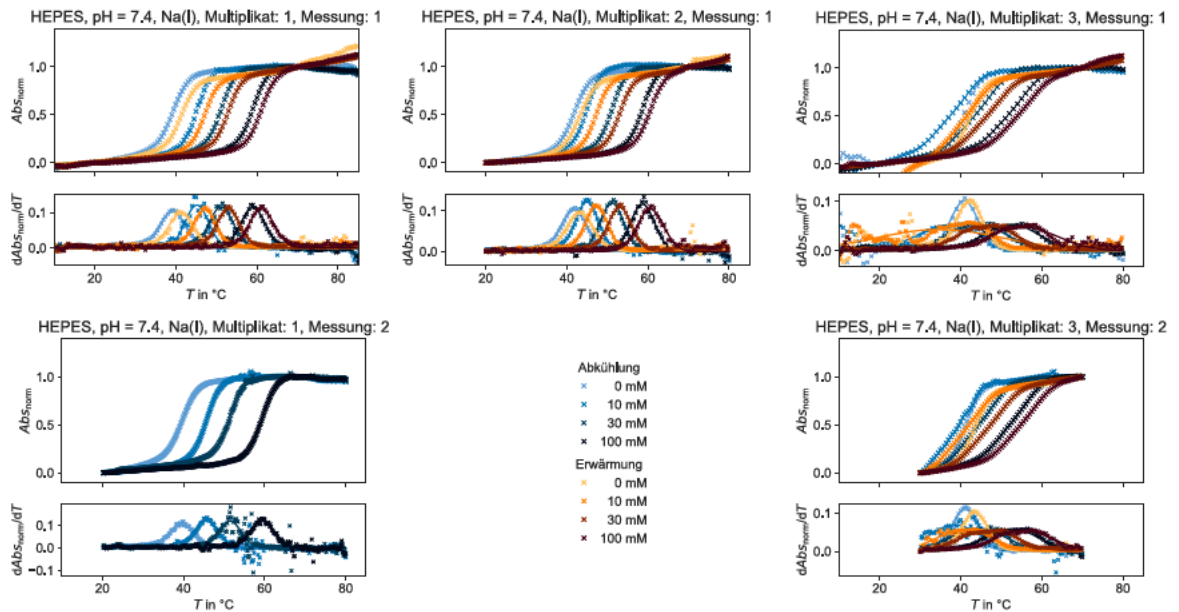


Abbildung A.3: Schmelzkurvenmessung von Na(I) in HEPES bei pH = 7,4.

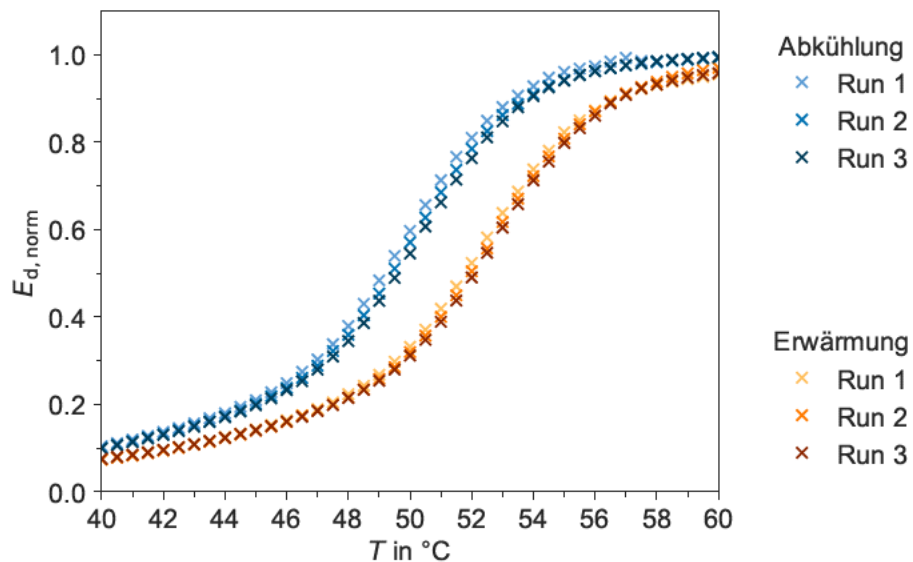


Abbildung A.4: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, norm}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für 3 Temperaturzyklen. Es stellt sich eine Hysterese zwischen dem Aufschmelzen (Erwärmung) und Renaturieren (Abkühlung) ein (vgl. Abschnitt 2.3).

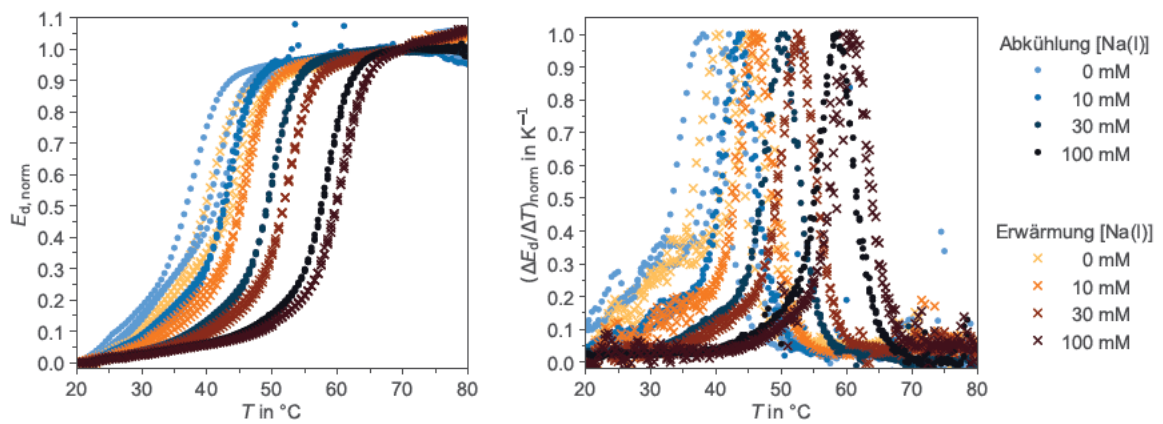


Abbildung A.5: Links: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, \text{norm}}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für MOPS bei pH = 6,5 mit Na(I). Rechts: Normierter Gradient der jeweiligen Schmelzkurven.

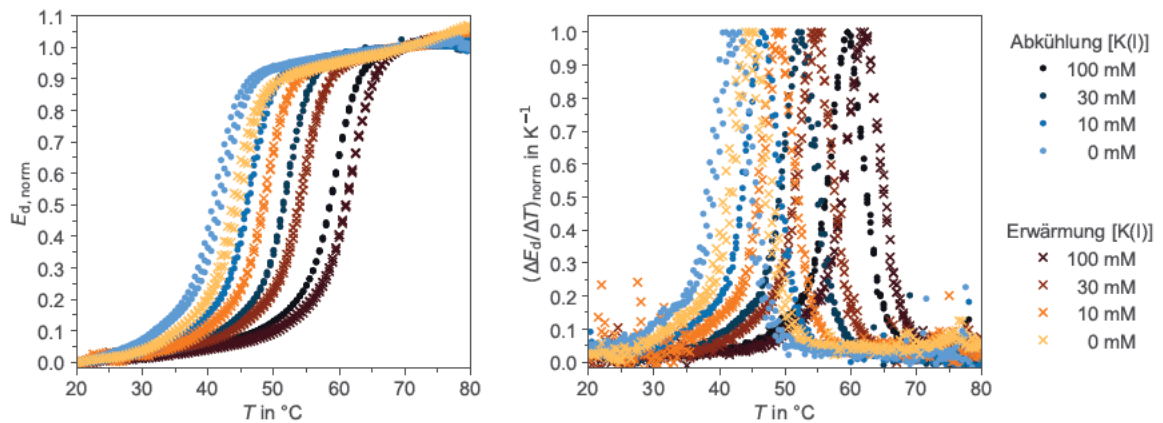


Abbildung A.6: Links: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, \text{norm}}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für MOPS bei pH = 7,5 mit K(I). Rechts: Normierter Gradient der jeweiligen Schmelzkurven.

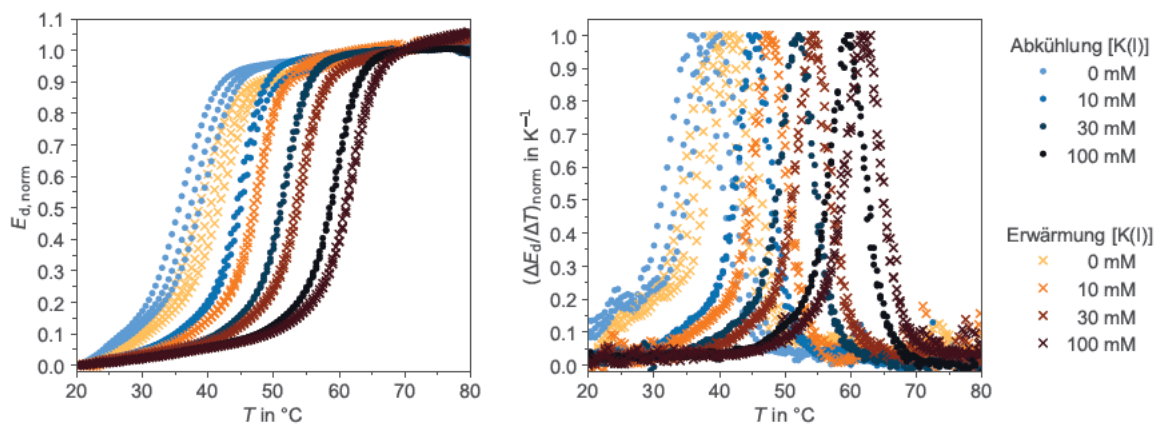


Abbildung A.7: Links: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, \text{norm}}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für HEPES bei pH = 7,5 mit K(I). Rechts: Normierter Gradient der jeweiligen Schmelzkurven.

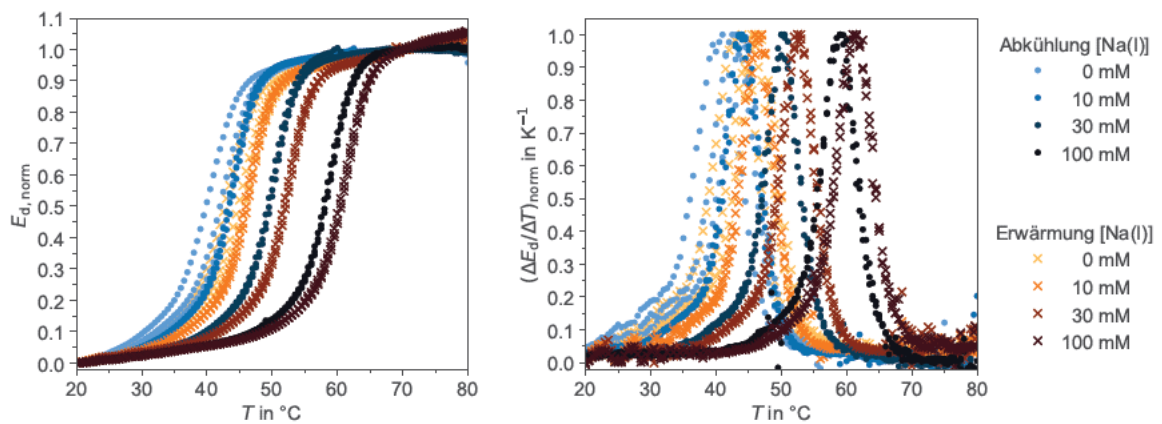


Abbildung A.8: Links: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, \text{norm}}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für HEPES bei pH = 7,5 mit Na(I). Rechts: Normierter Gradient der jeweiligen Schmelzkurven.

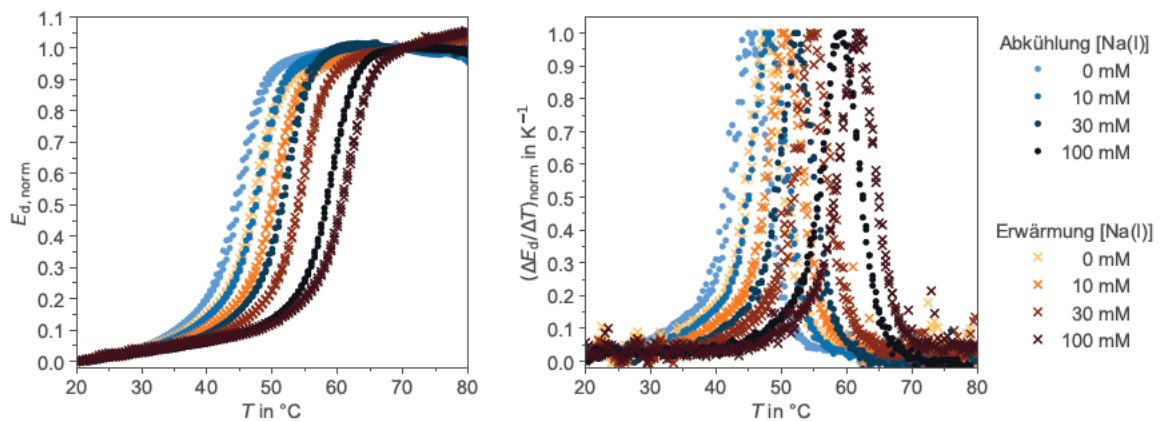


Abbildung A.9: Links: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, \text{norm}}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für TRIS-HCl bei pH = 7,5 mit Na(I). Rechts: Normierter Gradient der jeweiligen Schmelzkurven.

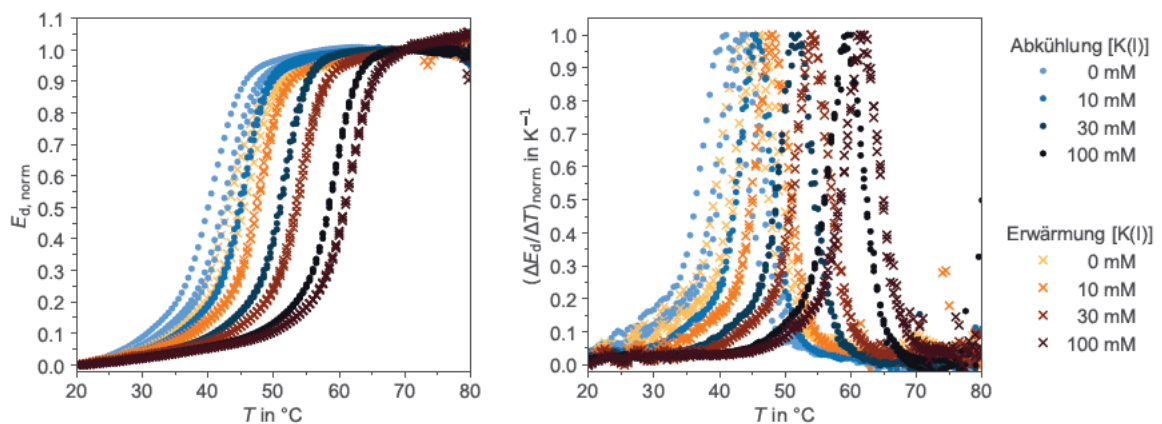


Abbildung A.10: Links: Normierte dekadische Extinktion $E_{d, \text{norm}}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T für TRIS-HCl bei pH = 8,5 mit K(I). Rechts: Normierter Gradient der jeweiligen Schmelzkurven.

Tabelle A.3: Auswertergebnisse der HEPES-Messung mittels der Anpassung einer verdrehten Gaußkurve an den Gradienten mit anschließender Halbwertbreitenanalyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,4	3,3	K()	2,8	30,8 ± 0,1	-3,2200 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁴	-1,06170 · 10 ⁶ ± 9,1 · 10 ²
Abkühlung	7,4	3,3	K()	3,07	35,9 ± 0,1	-2,9930 · 10 ⁷ ± 1,4 · 10 ⁴	-8,3610 · 10 ⁵ ± 6,4 · 10 ²
Abkühlung	7,4	3,3	K()	6,07	41 ± 0,0	-2,87642180 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-7,099650 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,4	3,3	K()	36,07	52,4 ± 0,1	-2,36470 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ³	-4,51400 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	3,3	K()	2,8	33,3 ± 0,1	2,988 · 10 ⁷ ± 1,5 · 10 ⁴	9,051 · 10 ⁵ ± 7,6 · 10 ²
Erwärmung	7,4	3,3	K()	3,07	37,9 ± 0,1	2,8465 · 10 ⁷ ± 6,5 · 10 ³	7,530 · 10 ⁵ ± 2,8 · 10 ²
Erwärmung	7,4	3,3	K()	6,07	42 ± 0,0	2,7657602 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	6,53252 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,4	3,3	K()	36,07	55 ± 0,0	2,2772316 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,16393 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,4	10	Na()	8,31	40,6 ± 0,1	-2,86680 · 10 ⁷ ± 5,1 · 10 ³	-7,0660 · 10 ⁵ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	18,31	44,3 ± 0,1	-2,6730 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁴	-6,0450 · 10 ⁵ ± 6,4 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	38,31	49,1 ± 0,1	-2,43230 · 10 ⁷ ± 7,6 · 10 ³	-4,9780 · 10 ⁵ ± 2,5 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	108,31	57 ± 0,1	-2,16880 · 10 ⁷ ± 6,0 · 10 ³	-3,8140 · 10 ⁵ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,4	10	Na()	8,31	43 ± 0,0	2,7515131 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	6,47050 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,4	10	Na()	18,31	44,6 ± 0,1	2,591 · 10 ⁷ ± 3,8 · 10 ⁴	5,84 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ³
Erwärmung	7,4	10	Na()	38,31	49,9 ± 0,1	2,3649 · 10 ⁷ ± 4,5 · 10 ³	4,764 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,4	10	Na()	108,31	58,1 ± 0,1	2,1023 · 10 ⁷ ± 3,4 · 10 ³	3,6270 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	K()	2,62	37,9 ± 0,1	-2,97040 · 10 ⁷ ± 9,5 · 10 ³	-7,8620 · 10 ⁵ ± 3,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	K()	12,62	45 ± 0,0	-2,64903620 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,857190 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	2,5	K()	32,62	52 ± 0,0	-2,37937740 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-4,589070 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	2,5	K()	102,62	59,6 ± 0,1	-2,13220 · 10 ⁷ ± 4,6 · 10 ³	-3,5800 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	2,62	40,6 ± 0,1	2,8085 · 10 ⁷ ± 3,9 · 10 ³	6,934 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	12,62	47,7 ± 0,1	2,5400 · 10 ⁷ ± 3,4 · 10 ³	5,324 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	32,62	54,2 ± 0,1	2,2947 · 10 ⁷ ± 2,7 · 10 ³	4,2348 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	K()	102,62	61,9 ± 0,1	2,0654 · 10 ⁷ ± 2,1 · 10 ³	3,3357 · 10 ⁵ ± 5,2 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	2,62	42,3 ± 0,1	-2,75330 · 10 ⁷ ± 4,0 · 10 ³	-6,5190 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	12,62	44 ± 0,0	-2,70531060 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,148800 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	32,62	50,2 ± 0,1	-2,43690 · 10 ⁷ ± 3,1 · 10 ³	-4,85630 · 10 ⁵ ± 9,5 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	102,62	59 ± 0,0	-2,14910440 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,649200 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	2,62	45 ± 0,0	2,6208411 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,83945 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	12,62	46 ± 0,0	2,5894652 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,57418 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	32,62	52,5 ± 0,1	2,3502 · 10 ⁷ ± 2,8 · 10 ³	4,4755 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	102,62	61 ± 0,0	2,0800087 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	3,39411 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	10,47	40 ± 0,0	-2,92419020 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-7,358900 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	30,47	49 ± 0,0	-2,47174780 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,008350 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	100,47	59 ± 0,0	-2,15753040 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,678680 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	10,47	42 ± 0,0	2,7926035 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	6,63451 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	30,47	52 ± 0,0	2,3751910 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,57829 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	100,47	61 ± 0,0	2,0899849 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	3,42754 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	10,47	40 ± 0,0	-2,90232820 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-7,239880 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	10,47	43 ± 0,0	2,7590213 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	6,47039 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰

Tabelle A.4: Auswertergebnisse der MOPS-Messung mittels der Anpassung einer verdrehten Gaußkurve an den Gradienten mit anschließender Halbwertbreitenanalyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(l)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	6,5	10	K()	2,29	40,6 ± 0,1	-2,8480 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁴	-7,0340 · 10 ⁵ ± 6,5 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	12,29	46,9 ± 0,1	-2,56440 · 10 ⁷ ± 6,9 · 10 ³	-5,4630 · 10 ⁵ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	32,29	51 ± 0,0	-2,39741350 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-4,674030 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	6,5	10	K()	102,29	59,1 ± 0,1	-2,14470 · 10 ⁷ ± 2,3 · 10 ³	-3,63150 · 10 ⁵ ± 6,0 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	K()	2,29	43,4 ± 0,1	2,702 · 10 ⁷ ± 1,2 · 10 ⁴	6,239 · 10 ⁵ ± 4,1 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	12,29	49,6 ± 0,1	2,4553 · 10 ⁷ ± 6,3 · 10 ³	4,955 · 10 ⁵ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	32,29	53,7 ± 0,1	2,3076 · 10 ⁷ ± 2,7 · 10 ³	4,2952 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	K()	102,29	61,5 ± 0,1	2,0763 · 10 ⁷ ± 3,3 · 10 ³	3,3776 · 10 ⁵ ± 8,1 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	Na()	2,29	41,2 ± 0,1	-2,8150 · 10 ⁷ ± 1,3 · 10 ⁴	-6,8750 · 10 ⁵ ± 4,8 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	12,29	43,5 ± 0,1	-2,72090 · 10 ⁷ ± 7,8 · 10 ³	-6,2570 · 10 ⁵ ± 2,7 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	32,29	50 ± 0,0	-2,43875100 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-4,868490 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	6,5	10	Na()	102,29	58 ± 0,0	-2,16012160 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,693390 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	6,5	10	Na()	2,29	44 ± 0,1	2,673 · 10 ⁷ ± 1,1 · 10 ⁴	6,106 · 10 ⁵ ± 4,0 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	12,29	46 ± 0,1	2,6055 · 10 ⁷ ± 7,1 · 10 ³	5,666 · 10 ⁵ ± 2,3 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	32,29	53 ± 0,0	2,3472532 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,46987 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	6,5	10	Na()	102,29	60,7 ± 0,1	2,0940 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ³	3,4510 · 10 ⁵ ± 5,5 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	1	K()	2,29	40,4 ± 0,1	-2,8180 · 10 ⁷ ± 1,3 · 10 ⁴	-7,0280 · 10 ⁵ ± 4,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	K()	12,29	45 ± 0,0	-2,66384720 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,927890 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	1	K()	2,29	43,2 ± 0,1	2,6495 · 10 ⁷ ± 3,4 · 10 ³	6,171 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	K()	12,29	47 ± 0,0	2,5497608 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,36927 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	1	Na()	2,29	44 ± 0,0	-2,72272710 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,241440 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	1	Na()	12,29	41,2 ± 0,1	-2,77990 · 10 ⁷ ± 7,6 · 10 ³	-6,8490 · 10 ⁵ ± 2,7 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	Na()	2,29	46 ± 0,0	2,6001199 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,63163 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	1	Na()	12,29	43,8 ± 0,1	2,6111 · 10 ⁷ ± 7,6 · 10 ³	6,031 · 10 ⁵ ± 2,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	22,91	42 ± 0,0	-2,80827430 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,708410 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	32,91	46 ± 0,0	-2,59268730 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,577830 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	52,91	52 ± 0,0	-2,36786820 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-4,538830 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	122,91	59 ± 0,0	-2,13482430 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,593380 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	22,91	44,5 ± 0,1	2,6728 · 10 ⁷ ± 3,7 · 10 ³	6,005 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	32,91	49 ± 0,0	2,4887002 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,08499 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	52,91	54,6 ± 0,1	2,2824 · 10 ⁷ ± 2,7 · 10 ³	4,1836 · 10 ⁵ ± 7,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	122,91	62 ± 0,0	2,0660698 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	3,33722 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	22,91	38,2 ± 0,1	-2,98880 · 10 ⁷ ± 4,7 · 10 ³	-7,8550 · 10 ⁵ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,91	44 ± 0,0	-2,68592610 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,050010 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	52,91	50 ± 0,0	-2,42950680 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-4,813580 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	122,91	59 ± 0,0	-2,15114280 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,657620 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	22,91	41 ± 0,0	2,8473936 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	7,04139 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,91	47 ± 0,0	2,5609248 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,45014 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	52,91	53 ± 0,0	2,3333953 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,40627 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	122,91	61,1 ± 0,1	2,0836 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ³	3,4083 · 10 ⁵ ± 5,4 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	10,47	43 ± 0,0	2,7590213 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	6,47039 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰

Tabelle A.5: Auswertergebnisse der TRIS-HCl-Messung mittels der Anpassung einer verdrehten Gaußkurve an den Gradienten mit anschließender Halbwertbreitenanalyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,5	10	K()	2,75	45,4 ± 0,1	-2,63560 · 10 ⁷ ± 7,3 · 10 ³	-5,8030 · 10 ⁵ ± 2,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	12,75	49 ± 0,0	-2,49189260 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,101910 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	32,75	53 ± 0,0	-2,32358100 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-4,351870 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	K()	102,75	60 ± 0,0	-2,12291090 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,542750 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	2,75	48 ± 0,0	2,5198716 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,24887 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	12,75	51,3 ± 0,1	2,3957 · 10 ⁷ ± 3,0 · 10 ³	4,6713 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	32,75	56 ± 0,0	2,2434993 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,02379 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	K()	102,75	62 ± 0,0	2,0601370 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	3,31125 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	2,75	45 ± 0,0	-2,64046820 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,834970 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	12,75	48 ± 0,0	-2,51799570 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,231110 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,75	52,4 ± 0,1	-2,35870 · 10 ⁷ ± 2,9 · 10 ³	-4,50410 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	102,75	59 ± 0,0	-2,14046000 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-3,616480 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	2,75	48 ± 0,0	2,5282912 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,29086 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	12,75	51 ± 0,0	2,2747884 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,77635 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,75	55 ± 0,0	2,2747884 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,15823 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	7,5	10	Na()	102,75	62 ± 0,0	2,0719506 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	3,36285 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	K()	2,75	42 ± 0,0	-2,74873690 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,488310 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	K()	12,75	46 ± 0,0	-2,63631020 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-5,791690 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	K()	32,75	51,7 ± 0,1	-2,38490 · 10 ⁷ ± 3,0 · 10 ³	-4,61070 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	K()	102,75	59,3 ± 0,1	-2,13970 · 10 ⁷ ± 2,3 · 10 ³	-3,60580 · 10 ⁵ ± 5,9 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	K()	2,75	45 ± 0,0	2,6206457 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,83184 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	8,5	1	K()	12,75	48 ± 0,1	2,5270 · 10 ⁷ ± 3,3 · 10 ³	5,266 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	32,75	54 ± 0,0	2,2970786 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,24370 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	8,5	1	K()	102,75	61,7 ± 0,1	2,0711 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ³	3,3561 · 10 ⁵ ± 5,4 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	Na()	2,75	41 ± 0,0	-2,81555220 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,893520 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	Na()	12,75	44 ± 0,0	-2,69267240 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	-6,084690 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	Na()	32,75	50,2 ± 0,1	-2,43980 · 10 ⁷ ± 3,1 · 10 ³	-4,86350 · 10 ⁵ ± 9,4 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	Na()	102,75	58,8 ± 0,1	-2,15240 · 10 ⁷ ± 2,4 · 10 ³	-3,66010 · 10 ⁵ ± 6,1 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	Na()	2,75	44 ± 0,0	2,6734796 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	6,13356 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	8,5	1	Na()	12,75	47 ± 0,0	2,5757314 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	5,50563 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	8,5	1	Na()	32,75	53 ± 0,0	2,3479869 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	4,46590 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰
Erwärmung	8,5	1	Na()	102,75	61 ± 0,0	2,0846884 · 10 ⁷ ± 0,0 · 10 ⁰	3,40972 · 10 ⁵ ± 0,0 · 10 ⁰

Tabelle A.6: Auswertergebnisse der HEPES-Messung durch die Bestimmung des Maximalwertes des Gradienten mit anschließender Halbwertbreitenanalyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(t)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,4	3,3	K()	2,8	29,2 ± 0,3	-1,70 · 10 ⁸ ± 1,3 · 10 ⁷	-5,60 · 10 ⁶ ± 4,3 · 10 ⁵
Abkühlung	7,4	3,3	K()	3,07	35,6 ± 0,3	-2,20 · 10 ⁸ ± 1,7 · 10 ⁷	-6,20 · 10 ⁶ ± 5,3 · 10 ⁵
Abkühlung	7,4	3,3	K()	6,07	40,5 ± 0,3	-4,50 · 10 ⁸ ± 7,0 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	7,4	3,3	K()	36,07	52,2 ± 0,3	-5,10 · 10 ⁸ ± 8,5 · 10 ⁷	-1,0 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	7,4	3,3	K()	2,8	35,6 ± 0,3	2,3 · 10 ⁸ ± 1,8 · 10 ⁷	6,3 · 10 ⁶ ± 5,5 · 10 ⁵
Erwärmung	7,4	3,3	K()	3,07	38,5 ± 0,3	2,5 · 10 ⁸ ± 2,1 · 10 ⁷	6,4 · 10 ⁶ ± 5,9 · 10 ⁵
Erwärmung	7,4	3,3	K()	6,07	42,4 ± 0,3	4,2 · 10 ⁸ ± 6,2 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,5 · 10 ⁶
Erwärmung	7,4	3,3	K()	36,07	54,9 ± 0,3	5,5 · 10 ⁸ ± 9,8 · 10 ⁷	1,0 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	7,4	10	Na()	8,31	40,6 ± 0,3	-4,20 · 10 ⁸ ± 6,0 · 10 ⁷	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,5 · 10 ⁶
Abkühlung	7,4	10	Na()	18,31	44,1 ± 0,3	-4,20 · 10 ⁸ ± 5,4 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,4	10	Na()	38,31	49,7 ± 0,3	-3,90 · 10 ⁸ ± 6,8 · 10 ⁷	-8,0 · 10 ⁶ ± 1,4 · 10 ⁶
Abkühlung	7,4	10	Na()	108,31	57,8 ± 0,3	-4,90 · 10 ⁸ ± 7,4 · 10 ⁷	-8,0 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Erwärmung	7,4	10	Na()	8,31	42,2 ± 0,3	3,7 · 10 ⁸ ± 4,7 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,2 · 10 ⁶
Erwärmung	7,4	10	Na()	18,31	40,9 ± 0,3	5 · 10 ⁸ ± 1,2 · 10 ⁸	1,5 · 10 ⁷ ± 3,9 · 10 ⁶
Erwärmung	7,4	10	Na()	38,31	51 ± 0,3	4,0 · 10 ⁸ ± 5,7 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,1 · 10 ⁶
Erwärmung	7,4	10	Na()	108,31	59,6 ± 0,3	3,6 · 10 ⁸ ± 4,8 · 10 ⁷	6,0 · 10 ⁶ ± 8,1 · 10 ⁵
Abkühlung	7,5	2,5	K()	2,62	37,7 ± 0,3	-3,10 · 10 ⁸ ± 3,4 · 10 ⁷	-8,20 · 10 ⁶ ± 9,5 · 10 ⁵
Abkühlung	7,5	2,5	K()	12,62	45,2 ± 0,3	-5,10 · 10 ⁸ ± 8,8 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	2,5	K()	32,62	52 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,1 · 10 ⁸	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	2,5	K()	102,62	59,7 ± 0,3	-5,40 · 10 ⁸ ± 9,1 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	K()	2,62	40,7 ± 0,3	3,4 · 10 ⁸ ± 3,9 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,0 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	K()	12,62	47,3 ± 0,3	4,6 · 10 ⁸ ± 6,9 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,5 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	K()	32,62	54,3 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	1,0 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	K()	102,62	62,2 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,1 · 10 ⁸	9 · 10 ⁶ ± 1,9 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	2,62	42,5 ± 0,3	-4,00 · 10 ⁸ ± 5,5 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,4 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	12,62	43,8 ± 0,3	-4,70 · 10 ⁸ ± 7,5 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	32,62	50,2 ± 0,3	-5,10 · 10 ⁸ ± 8,5 · 10 ⁷	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	102,62	59 ± 0,3	-5,40 · 10 ⁸ ± 9,0 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	2,62	45,3 ± 0,3	4,5 · 10 ⁸ ± 6,8 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	12,62	46,3 ± 0,3	4,8 · 10 ⁸ ± 7,6 · 10 ⁷	1,0 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	32,62	52,7 ± 0,3	5,2 · 10 ⁸ ± 8,7 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	102,62	61,2 ± 0,3	5,0 · 10 ⁸ ± 7,5 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	10,47	39,7 ± 0,3	-4,60 · 10 ⁸ ± 7,3 · 10 ⁷	-1,20 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	30,47	49,3 ± 0,3	-5,10 · 10 ⁸ ± 8,5 · 10 ⁷	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	100,47	58,8 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	-1,0 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	10,47	42,2 ± 0,3	4,9 · 10 ⁸ ± 8,1 · 10 ⁷	1,2 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	30,47	51,8 ± 0,3	5,2 · 10 ⁸ ± 8,6 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	100,47	60,8 ± 0,3	5,0 · 10 ⁸ ± 7,5 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	10,47	40,2 ± 0,3	-4,60 · 10 ⁸ ± 7,3 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	10,47	42,7 ± 0,3	4,5 · 10 ⁸ ± 7,0 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶

Tabelle A.7: Auswertergebnisse der MOPS-Messung durch die Bestimmung des Maximalwertes des Gradienten mit anschließender Halbwertbreitenanalyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(t)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	6,5	10	K()	2,29	40,7 ± 0,3	-4,40 · 10 ⁸ ± 6,9 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	K()	12,29	47 ± 0,3	-5,40 · 10 ⁸ ± 9,6 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,1 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	K()	32,29	51,3 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,1 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	K()	102,29	59 ± 0,3	-5,30 · 10 ⁸ ± 9,0 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	K()	2,29	43,2 ± 0,3	4,0 · 10 ⁸ ± 5,6 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	K()	12,29	49,5 ± 0,3	5,2 · 10 ⁸ ± 9,0 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	K()	32,29	53,3 ± 0,3	4,6 · 10 ⁸ ± 6,7 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	K()	102,29	61,5 ± 0,3	5,5 · 10 ⁸ ± 9,2 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,5 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	Na()	2,29	41,3 ± 0,3	-4,60 · 10 ⁸ ± 7,4 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	Na()	12,29	43,8 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,1 · 10 ⁸	-1,30 · 10 ⁷ ± 2,5 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	Na()	32,29	50,3 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,1 · 10 ⁸	-1,20 · 10 ⁷ ± 2,3 · 10 ⁶
Abkühlung	6,5	10	Na()	102,29	58,7 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	-1,0 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	Na()	2,29	43,8 ± 0,3	4,3 · 10 ⁸ ± 6,3 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,5 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	Na()	12,29	45,8 ± 0,3	4,8 · 10 ⁸ ± 7,6 · 10 ⁷	1,0 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	Na()	32,29	52,5 ± 0,3	5,2 · 10 ⁸ ± 8,7 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	6,5	10	Na()	102,29	60,3 ± 0,3	4,9 · 10 ⁸ ± 7,4 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	1	K()	2,29	40,5 ± 0,3	-3,40 · 10 ⁸ ± 4,2 · 10 ⁷	-8,0 · 10 ⁶ ± 1,1 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	1	K()	12,29	45 ± 0,3	-5,30 · 10 ⁸ ± 9,5 · 10 ⁷	-1,20 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	1	K()	2,29	43,5 ± 0,3	3,3 · 10 ⁸ ± 3,8 · 10 ⁷	7,6 · 10 ⁶ ± 9,1 · 10 ⁵
Erwärmung	7,5	1	K()	12,29	47,7 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,1 · 10 ⁸	1,2 · 10 ⁷ ± 2,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	1	Na()	2,29	43,5 ± 0,3	-4,90 · 10 ⁸ ± 8,2 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	1	Na()	12,29	41,2 ± 0,3	-3,70 · 10 ⁸ ± 5,0 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,2 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	1	Na()	2,29	46 ± 0,3	4,9 · 10 ⁸ ± 8,1 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	1	Na()	12,29	44,5 ± 0,3	3,5 · 10 ⁸ ± 4,0 · 10 ⁷	7,8 · 10 ⁶ ± 9,4 · 10 ⁵
Abkühlung	7,5	10	K()	22,91	42 ± 0,3	-5,20 · 10 ⁸ ± 9,3 · 10 ⁷	-1,20 · 10 ⁷ ± 2,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	32,91	46,5 ± 0,3	-5,30 · 10 ⁸ ± 9,6 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,1 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	52,91	52,2 ± 0,3	-4,90 · 10 ⁸ ± 7,9 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	122,91	59,5 ± 0,3	-5,40 · 10 ⁸ ± 9,0 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	22,91	44,5 ± 0,3	4,7 · 10 ⁸ ± 7,5 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	32,91	49 ± 0,3	5,4 · 10 ⁸ ± 9,7 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	52,91	54,7 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,1 · 10 ⁸	1,0 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	122,91	61,8 ± 0,3	5,0 · 10 ⁸ ± 7,8 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	22,91	38,1 ± 0,3	-3,70 · 10 ⁸ ± 4,8 · 10 ⁷	-1,0 · 10 ⁷ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,91	44,5 ± 0,3	-5,00 · 10 ⁸ ± 8,3 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	52,91	50,7 ± 0,3	-7,0 · 10 ⁸ ± 1,7 · 10 ⁸	-1,30 · 10 ⁷ ± 3,4 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	122,91	58,5 ± 0,3	-4,70 · 10 ⁸ ± 6,9 · 10 ⁷	-8,0 · 10 ⁶ ± 1,2 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	22,91	40,7 ± 0,3	4,0 · 10 ⁸ ± 5,6 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,4 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,91	47 ± 0,3	5,0 · 10 ⁸ ± 8,4 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	52,91	53,2 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	1,0 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	122,91	61,3 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	1 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶

Tabelle A.8: Auswertergebnisse der TRIS-HCl-Messung durch die Bestimmung des Maximalwertes des Gradienten mit anschließender Halbwertbreitenanalyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,5	10	K()	2,75	45,7 ± 0,3	-5,30 · 10 ⁸ ± 9,5 · 10 ⁷	-1,20 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	12,75	49 ± 0,3	-5,40 · 10 ⁸ ± 9,7 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	32,75	53,5 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	K()	102,75	60 ± 0,3	-5,40 · 10 ⁸ ± 9,1 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	2,75	48,2 ± 0,3	5,4 · 10 ⁸ ± 9,7 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 2,1 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	12,75	51,2 ± 0,3	4,9 · 10 ⁸ ± 7,8 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	32,75	55,8 ± 0,3	5,4 · 10 ⁸ ± 9,4 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	K()	102,75	62,8 ± 0,3	7 · 10 ⁸ ± 1,6 · 10 ⁸	1,1 · 10 ⁷ ± 2,6 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	2,75	45,3 ± 0,3	-5,10 · 10 ⁸ ± 8,8 · 10 ⁷	-1,10 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	12,75	48 ± 0,3	-4,60 · 10 ⁸ ± 7,0 · 10 ⁷	-1,0 · 10 ⁷ ± 1,5 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,75	52,3 ± 0,3	-5,00 · 10 ⁸ ± 7,9 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Abkühlung	7,5	10	Na()	102,75	59,3 ± 0,3	-5,50 · 10 ⁸ ± 9,6 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	2,75	47,8 ± 0,3	4,8 · 10 ⁸ ± 7,7 · 10 ⁷	1,0 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	12,75	50,5 ± 0,3	4,9 · 10 ⁸ ± 7,8 · 10 ⁷	1 · 10 ⁷ ± 1,6 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,75	54,8 ± 0,3	6 · 10 ⁸ ± 1,0 · 10 ⁸	1,0 · 10 ⁷ ± 1,9 · 10 ⁶
Erwärmung	7,5	10	Na()	102,75	61,8 ± 0,3	5,5 · 10 ⁸ ± 9,2 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,5 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	K()	2,75	42,8 ± 0,3	-4,40 · 10 ⁸ ± 6,7 · 10 ⁷	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,6 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	K()	12,75	45,3 ± 0,3	-4,70 · 10 ⁸ ± 7,6 · 10 ⁷	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	K()	32,75	51,7 ± 0,3	-5,30 · 10 ⁸ ± 9,1 · 10 ⁷	-1,00 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	K()	102,75	59,7 ± 0,3	-6,0 · 10 ⁸ ± 1,2 · 10 ⁸	-1,00 · 10 ⁷ ± 2,0 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	K()	2,75	45,2 ± 0,3	4,2 · 10 ⁸ ± 5,9 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	K()	12,75	48 ± 0,3	5,4 · 10 ⁸ ± 9,7 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁷ ± 2,1 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	K()	32,75	54 ± 0,3	5,0 · 10 ⁸ ± 8,0 · 10 ⁷	9 · 10 ⁶ ± 1,5 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	K()	102,75	61,7 ± 0,3	5,0 · 10 ⁸ ± 7,6 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	Na()	2,75	41 ± 0,3	-3,70 · 10 ⁸ ± 4,7 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,2 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	Na()	12,75	44,3 ± 0,3	-5,30 · 10 ⁸ ± 9,4 · 10 ⁷	-1,20 · 10 ⁷ ± 2,2 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	Na()	32,75	49,8 ± 0,3	-4,60 · 10 ⁸ ± 7,0 · 10 ⁷	-9,0 · 10 ⁶ ± 1,5 · 10 ⁶
Abkühlung	8,5	1	Na()	102,75	58,7 ± 0,3	-4,90 · 10 ⁸ ± 7,4 · 10 ⁷	-8,0 · 10 ⁶ ± 1,3 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	Na()	2,75	43,7 ± 0,3	3,7 · 10 ⁸ ± 4,6 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,1 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	Na()	12,75	46,7 ± 0,3	4,8 · 10 ⁸ ± 7,6 · 10 ⁷	1,0 · 10 ⁷ ± 1,7 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	Na()	32,75	52,7 ± 0,3	5,3 · 10 ⁸ ± 9,2 · 10 ⁷	1,0 · 10 ⁷ ± 1,8 · 10 ⁶
Erwärmung	8,5	1	Na()	102,75	60,8 ± 0,3	4,8 · 10 ⁸ ± 7,0 · 10 ⁷	8 · 10 ⁶ ± 1,2 · 10 ⁶

Tabelle A.9: Auswertergebnisse der HEPES-Messung durch die Anpassung der abgeleiteten expliziten Schmelzkurvenfunktion an den Gradienten (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,4	3,3	K()	2,8	31,3 ± 0,4	-1,610 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-5,10 · 10 ³ ± 2,7 · 10 ²
Abkühlung	7,4	3,3	K()	3,07	36,3 ± 0,2	-2,250 · 10 ⁵ ± 6,0 · 10 ³	-6,20 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,4	3,3	K()	6,07	40,6 ± 0,1	-4,170 · 10 ⁵ ± 6,3 · 10 ³	-1,030 · 10 ⁴ ± 1,7 · 10 ²
Abkühlung	7,4	3,3	K()	36,07	52,4 ± 0,1	-4,980 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	-9,50 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,4	3,3	K()	2,8	33,5 ± 0,5	1,74 · 10 ⁵ ± 8,5 · 10 ³	5,2 · 10 ³ ± 3,2 · 10 ²
Erwärmung	7,4	3,3	K()	3,07	38,1 ± 0,2	2,28 · 10 ⁵ ± 6,7 · 10 ³	6,0 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,4	3,3	K()	6,07	42,3 ± 0,1	4,19 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	9,9 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Erwärmung	7,4	3,3	K()	36,07	54,6 ± 0,1	5,09 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	9,3 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	8,31	40,7 ± 0,1	-4,20 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-1,020 · 10 ⁴ ± 3,1 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	18,31	44,4 ± 0,3	-4,10 · 10 ⁵ ± 1,8 · 10 ⁴	-9,30 · 10 ³ ± 4,4 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	38,31	49,1 ± 0,2	-3,70 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-7,50 · 10 ³ ± 2,8 · 10 ²
Abkühlung	7,4	10	Na()	108,31	57,4 ± 0,2	-3,760 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	-6,50 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,4	10	Na()	8,31	42,7 ± 0,1	4,5 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,05 · 10 ⁴ ± 3,8 · 10 ²
Erwärmung	7,4	10	Na()	18,31	44,5 ± 0,4	3,6 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	8,0 · 10 ³ ± 3,9 · 10 ²
Erwärmung	7,4	10	Na()	38,31	49,8 ± 0,2	3,57 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	7,0 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,4	10	Na()	108,31	58,1 ± 0,3	3,6 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	6,0 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	K()	2,62	38,3 ± 0,1	-3,420 · 10 ⁵ ± 5,9 · 10 ³	-8,90 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	K()	12,62	45,3 ± 0,1	-4,820 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	-1,060 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	K()	32,62	51,9 ± 0,1	-4,900 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	-9,50 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	K()	102,62	59,6 ± 0,1	-4,800 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	2,62	40,8 ± 0,1	3,45 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ³	8,5 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	12,62	47,7 ± 0,1	5,0 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	1,04 · 10 ⁴ ± 2,3 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	32,62	54,2 ± 0,1	5,01 · 10 ⁵ ± 8,9 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	K()	102,62	61,9 ± 0,1	4,93 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	8,0 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	2,62	42,5 ± 0,1	-3,80 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	-8,90 · 10 ³ ± 2,7 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	12,62	44,1 ± 0,1	-4,700 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	-1,070 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	32,62	50,2 ± 0,1	-4,670 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	-9,30 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	2,5	Na()	102,62	58,9 ± 0,1	-4,750 · 10 ⁵ ± 7,6 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	2,62	45,1 ± 0,1	3,86 · 10 ⁵ ± 6,5 · 10 ³	8,6 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	12,62	46,5 ± 0,1	4,84 · 10 ⁵ ± 8,5 · 10 ³	1,04 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	32,62	52,5 ± 0,1	4,9 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	9,3 · 10 ³ ± 2,1 · 10 ²
Erwärmung	7,5	2,5	Na()	102,62	61,2 ± 0,1	4,82 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	10,47	39,9 ± 0,1	-4,480 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	-1,120 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	30,47	49,4 ± 0,1	-4,880 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	-9,90 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	100,47	58,7 ± 0,1	-4,880 · 10 ⁵ ± 7,5 · 10 ³	-8,30 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	10,47	42,2 ± 0,1	4,59 · 10 ⁵ ± 7,5 · 10 ³	1,09 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	30,47	51,9 ± 0,1	4,93 · 10 ⁵ ± 9,3 · 10 ³	9,5 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	100,47	60,9 ± 0,1	5,03 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	8,3 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	10,47	40,2 ± 0,1	-4,480 · 10 ⁵ ± 8,9 · 10 ³	-1,110 · 10 ⁴ ± 2,3 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	10,47	42,7 ± 0,1	4,51 · 10 ⁵ ± 7,3 · 10 ³	1,06 · 10 ⁴ ± 1,8 · 10 ²

Tabelle A.10: Auswertergebnisse der MOPS-Messung durch die Anpassung der abgeleiteten expliziten Schmelzkurvenfunktion an den Gradienten (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	6,5	10	K()	2,29	40,9 ± 0,1	-4,20 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-1,030 · 10 ⁴ ± 3,3 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	12,29	47,1 ± 0,1	-4,80 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-1,020 · 10 ⁴ ± 2,5 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	32,29	51,3 ± 0,1	-5,00 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-9,70 · 10 ³ ± 2,5 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	102,29	59 ± 0,1	-4,90 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-8,30 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	2,29	43,4 ± 0,1	4,3 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	9,8 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	12,29	49,6 ± 0,1	4,8 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	9,7 · 10 ³ ± 2,4 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	32,29	53,7 ± 0,1	4,9 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	9,2 · 10 ³ ± 2,6 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	102,29	61,5 ± 0,1	4,87 · 10 ⁵ ± 8,5 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	2,29	41,5 ± 0,1	-4,10 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-1,00 · 10 ⁴ ± 3,4 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	12,29	43,7 ± 0,2	-4,60 · 10 ⁵ ± 2,1 · 10 ⁴	-1,060 · 10 ⁴ ± 5,2 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	32,29	50,2 ± 0,1	-4,710 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	-9,40 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	102,29	58,5 ± 0,1	-4,720 · 10 ⁵ ± 9,2 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	2,29	44,1 ± 0,2	4,1 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	9,3 · 10 ³ ± 3,5 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	12,29	46,1 ± 0,1	4,9 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,06 · 10 ⁴ ± 2,7 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	32,29	52,5 ± 0,1	4,86 · 10 ⁵ ± 9,2 · 10 ³	9,3 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	102,29	60,6 ± 0,1	4,8 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	7,9 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	K()	2,29	40,6 ± 0,1	-3,180 · 10 ⁵ ± 5,5 · 10 ³	-7,80 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	K()	12,29	45 ± 0,1	-4,820 · 10 ⁵ ± 7,5 · 10 ³	-1,070 · 10 ⁴ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	K()	2,29	43,5 ± 0,1	3,04 · 10 ⁵ ± 7,1 · 10 ³	7,0 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	K()	12,29	47,5 ± 0,1	5,04 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	1,06 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	Na()	2,29	43,7 ± 0,1	-4,700 · 10 ⁵ ± 9,3 · 10 ³	-1,070 · 10 ⁴ ± 2,3 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	Na()	12,29	41,5 ± 0,1	-3,140 · 10 ⁵ ± 6,9 · 10 ³	-7,50 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	Na()	2,29	46,2 ± 0,1	4,74 · 10 ⁵ ± 8,7 · 10 ³	1,03 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	Na()	12,29	44,3 ± 0,2	3,16 · 10 ⁵ ± 9,3 · 10 ³	7,1 · 10 ³ ± 2,3 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	22,91	42 ± 0,1	-4,60 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-1,090 · 10 ⁴ ± 2,8 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	32,91	46,5 ± 0,1	-4,830 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	-1,040 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	52,91	52,2 ± 0,1	-4,90 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-9,50 · 10 ³ ± 2,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	122,91	59,4 ± 0,1	-4,910 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	-8,30 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	22,91	44,5 ± 0,1	4,71 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	1,06 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	32,91	48,9 ± 0,1	5,0 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	1,02 · 10 ⁴ ± 2,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	52,91	54,5 ± 0,1	5,00 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	122,91	61,9 ± 0,1	4,87 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	22,91	38,4 ± 0,1	-3,780 · 10 ⁵ ± 5,8 · 10 ³	-9,90 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,91	44,5 ± 0,1	-4,70 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-1,050 · 10 ⁴ ± 3,1 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	52,91	50,5 ± 0,1	-4,90 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-9,60 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	122,91	58,9 ± 0,1	-4,680 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	-8,00 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	22,91	41,1 ± 0,1	3,92 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	9,5 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,91	47 ± 0,1	4,69 · 10 ⁵ ± 8,1 · 10 ³	1,0 · 10 ⁴ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	52,91	53 ± 0,1	4,79 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	9,0 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	122,91	61,1 ± 0,1	4,8 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	7,9 · 10 ³ ± 2,3 · 10 ²

Tabelle A.11: Auswertergebnisse der TRIS-HCl-Messung durch die Anpassung der abgeleiteten expliziten Schmelzkurvenfunktion an den Gradienten (vgl. Unterabschnitt 4.6.1). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,5	10	K()	2,75	45,5 ± 0,1	-4,630 · 10 ⁵ ± 9,6 · 10 ³	-1,020 · 10 ⁴ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	12,75	48,9 ± 0,1	-4,810 · 10 ⁵ ± 7,5 · 10 ³	-9,80 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	32,75	53,4 ± 0,1	-4,830 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	-9,00 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	102,75	59,9 ± 0,1	-4,880 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	2,75	48 ± 0,1	4,71 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	9,8 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	12,75	51,3 ± 0,1	4,96 · 10 ⁵ ± 8,4 · 10 ³	9,7 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	32,75	55,7 ± 0,1	4,93 · 10 ⁵ ± 9,6 · 10 ³	8,8 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	102,75	62,2 ± 0,1	5,0 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	8,0 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	2,75	45,4 ± 0,1	-4,530 · 10 ⁵ ± 9,4 · 10 ³	-1,00 · 10 ⁴ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	12,75	48,2 ± 0,1	-4,660 · 10 ⁵ ± 8,5 · 10 ³	-9,70 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,75	52,4 ± 0,1	-4,760 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	-9,10 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	102,75	59,2 ± 0,1	-4,650 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-7,80 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	2,75	47,8 ± 0,1	4,75 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	9,9 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	12,75	50,7 ± 0,1	4,7 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	9,3 · 10 ³ ± 3,1 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,75	54,7 ± 0,1	4,85 · 10 ⁵ ± 9,7 · 10 ³	8,9 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	102,75	61,6 ± 0,1	4,87 · 10 ⁵ ± 8,9 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	2,75	42,6 ± 0,1	-3,810 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ³	-8,90 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	12,75	45,6 ± 0,1	-4,820 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	-1,060 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	32,75	51,8 ± 0,1	-4,890 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	-9,50 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	102,75	59,4 ± 0,1	-4,820 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	2,75	45,1 ± 0,1	3,94 · 10 ⁵ ± 6,7 · 10 ³	8,7 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	12,75	48 ± 0,1	4,9 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,02 · 10 ⁴ ± 2,7 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	32,75	54,1 ± 0,1	4,99 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	102,75	61,7 ± 0,1	4,91 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	8,0 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	2,75	41,3 ± 0,1	-3,660 · 10 ⁵ ± 8,1 · 10 ³	-8,90 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	12,75	44,4 ± 0,1	-4,650 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	-1,050 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	32,75	50,2 ± 0,1	-4,720 · 10 ⁵ ± 9,7 · 10 ³	-9,40 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	102,75	58,8 ± 0,1	-4,70 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	-8,10 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	2,75	43,8 ± 0,1	3,71 · 10 ⁵ ± 6,3 · 10 ³	8,5 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	12,75	46,8 ± 0,1	4,8 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,02 · 10 ⁴ ± 3,3 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	32,75	52,5 ± 0,1	4,80 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ³	9,1 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	102,75	61,1 ± 0,1	4,84 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²

Tabelle A.12: Auswertergebnisse der HEPES-Messung durch die Anpassung der expliziten Schmelzkurvenfunktion an die gemessene dekadische Extinktionskurve (vgl. Unterabschnitt 4.6.3). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,5	10	K)	2,75	45,5 ± 0,1	-4,630 · 10 ⁵ ± 9,6 · 10 ³	-1,020 · 10 ⁴ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K)	12,75	48,9 ± 0,1	-4,810 · 10 ⁵ ± 7,5 · 10 ³	-9,80 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K)	32,75	53,4 ± 0,1	-4,830 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	-9,00 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K)	102,75	59,9 ± 0,1	-4,880 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K)	2,75	48 ± 0,1	4,71 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	9,8 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K)	12,75	51,3 ± 0,1	4,96 · 10 ⁵ ± 8,4 · 10 ³	9,7 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K)	32,75	55,7 ± 0,1	4,93 · 10 ⁵ ± 9,6 · 10 ³	8,8 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K)	102,75	62,2 ± 0,1	5,0 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	8,0 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na)	2,75	45,4 ± 0,1	-4,530 · 10 ⁵ ± 9,4 · 10 ³	-1,00 · 10 ⁴ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na)	12,75	48,2 ± 0,1	-4,660 · 10 ⁵ ± 8,5 · 10 ³	-9,70 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na)	32,75	52,4 ± 0,1	-4,760 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	-9,10 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na)	102,75	59,2 ± 0,1	-4,650 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-7,80 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na)	2,75	47,8 ± 0,1	4,75 · 10 ⁵ ± 8,8 · 10 ³	9,9 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na)	12,75	50,7 ± 0,1	4,7 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	9,3 · 10 ³ ± 3,1 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na)	32,75	54,7 ± 0,1	4,85 · 10 ⁵ ± 9,7 · 10 ³	8,9 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na)	102,75	61,6 ± 0,1	4,87 · 10 ⁵ ± 8,9 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K)	2,75	42,6 ± 0,1	-3,810 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ³	-8,90 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K)	12,75	45,6 ± 0,1	-4,820 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	-1,060 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K)	32,75	51,8 ± 0,1	-4,890 · 10 ⁵ ± 9,0 · 10 ³	-9,50 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K)	102,75	59,4 ± 0,1	-4,820 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K)	2,75	45,1 ± 0,1	3,94 · 10 ⁵ ± 6,7 · 10 ³	8,7 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K)	12,75	48 ± 0,1	4,9 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,02 · 10 ⁴ ± 2,7 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K)	32,75	54,1 ± 0,1	4,99 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K)	102,75	61,7 ± 0,1	4,91 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	8,0 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na)	2,75	41,3 ± 0,1	-3,660 · 10 ⁵ ± 8,1 · 10 ³	-8,90 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na)	12,75	44,4 ± 0,1	-4,650 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	-1,050 · 10 ⁴ ± 1,9 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na)	32,75	50,2 ± 0,1	-4,720 · 10 ⁵ ± 9,7 · 10 ³	-9,40 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na)	102,75	58,8 ± 0,1	-4,70 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	-8,10 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na)	2,75	43,8 ± 0,1	3,71 · 10 ⁵ ± 6,3 · 10 ³	8,5 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na)	12,75	46,8 ± 0,1	4,8 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,02 · 10 ⁴ ± 3,3 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na)	32,75	52,5 ± 0,1	4,80 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ³	9,1 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na)	102,75	61,1 ± 0,1	4,84 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²

Tabelle A.13: Auswertergebnisse der MOPS-Messung durch die Anpassung der expliziten Schmelzkurvenfunktion an die gemessene dekadische Extinktionskurve (vgl. Unterabschnitt 4.6.3). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	6,5	10	K()	2,29	40,9 ± 0,1	-4,160 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	-1,020 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	12,29	46,8 ± 0,1	-4,40 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	-9,30 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	32,29	51,1 ± 0,1	-4,30 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-8,50 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	K()	102,29	59,3 ± 0,2	-3,950 · 10 ⁵ ± 9,6 · 10 ³	-6,70 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	2,29	43,2 ± 0,1	4,2 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	9,8 · 10 ³ ± 3,3 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	12,29	49,4 ± 0,1	4,2 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	8,6 · 10 ³ ± 2,4 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	32,29	54 ± 0,2	4,11 · 10 ⁵ ± 9,7 · 10 ³	7,6 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	K()	102,29	61,3 ± 0,1	4,21 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	6,9 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	2,29	41,3 ± 0,1	-4,00 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-9,70 · 10 ³ ± 3,1 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	12,29	43,7 ± 0,1	-4,220 · 10 ⁵ ± 9,7 · 10 ³	-9,70 · 10 ³ ± 2,4 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	32,29	49,9 ± 0,1	-4,200 · 10 ⁵ ± 7,6 · 10 ³	-8,40 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	6,5	10	Na()	102,29	58,3 ± 0,1	-4,150 · 10 ⁵ ± 7,3 · 10 ³	-7,10 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	2,29	43,8 ± 0,1	3,7 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	8,6 · 10 ³ ± 2,8 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	12,29	45,8 ± 0,1	4,6 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	1,01 · 10 ⁴ ± 2,6 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	32,29	52,1 ± 0,1	4,38 · 10 ⁵ ± 9,9 · 10 ³	8,4 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	6,5	10	Na()	102,29	60,4 ± 0,1	4,19 · 10 ⁵ ± 8,4 · 10 ³	6,9 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	K()	2,29	40,5 ± 0,1	-3,220 · 10 ⁵ ± 3,5 · 10 ³	-7,910 · 10 ³ ± 9,3 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	1	K()	12,29	44,9 ± 0,1	-4,400 · 10 ⁵ ± 6,8 · 10 ³	-9,80 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	K()	2,29	43,5 ± 0,1	2,98 · 10 ⁵ ± 5,2 · 10 ³	6,8 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	K()	12,29	47,2 ± 0,1	4,68 · 10 ⁵ ± 9,1 · 10 ³	9,9 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	Na()	2,29	43,6 ± 0,1	-4,440 · 10 ⁵ ± 6,7 · 10 ³	-1,020 · 10 ⁴ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	1	Na()	12,29	41,3 ± 0,1	-3,100 · 10 ⁵ ± 4,5 · 10 ³	-7,50 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	Na()	2,29	46 ± 0,1	4,31 · 10 ⁵ ± 9,2 · 10 ³	9,4 · 10 ³ ± 2,1 · 10 ²
Erwärmung	7,5	1	Na()	12,29	44,2 ± 0,1	3,07 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	6,9 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	22,91	41,9 ± 0,1	-4,350 · 10 ⁵ ± 6,4 · 10 ³	-1,040 · 10 ⁴ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	32,91	46,3 ± 0,1	-4,410 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	-9,50 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	52,91	51,9 ± 0,1	-4,350 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ³	-8,40 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	122,91	59,1 ± 0,1	-4,330 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	-7,30 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	22,91	44,3 ± 0,1	4,51 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	1,02 · 10 ⁴ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	32,91	48,6 ± 0,1	4,51 · 10 ⁵ ± 9,4 · 10 ³	9,3 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	52,91	54,3 ± 0,1	4,49 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	8,3 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	122,91	61,7 ± 0,1	4,16 · 10 ⁵ ± 8,6 · 10 ³	6,7 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	22,91	38,3 ± 0,1	-3,690 · 10 ⁵ ± 4,7 · 10 ³	-9,70 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,91	44,3 ± 0,1	-4,320 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-9,70 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	52,91	50,3 ± 0,1	-4,420 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	-8,80 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	122,91	58,6 ± 0,1	-4,200 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-7,20 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	22,91	41 ± 0,1	3,96 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ³	9,7 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,91	46,9 ± 0,1	4,34 · 10 ⁵ ± 5,8 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	52,91	52,7 ± 0,1	4,33 · 10 ⁵ ± 7,6 · 10 ³	8,2 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	122,91	60,9 ± 0,1	4,20 · 10 ⁵ ± 7,5 · 10 ³	6,9 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²

Tabelle A.14: Auswertergebnisse der TRIS-HCl-Messung durch die Anpassung der expliziten Schmelzkurvenfunktion an die gemessene dekadische Extinktionskurve (vgl. Unterabschnitt 4.6.3). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,5	10	K()	2,75	45,4 ± 0,1	-4,250 · 10 ⁵ ± 7,3 · 10 ³	-9,40 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	12,75	48,7 ± 0,1	-4,370 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	-9,00 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	32,75	53,2 ± 0,1	-4,320 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	-8,10 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	K()	102,75	59,8 ± 0,1	-4,250 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	-7,10 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	2,75	47,8 ± 0,1	4,28 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	8,9 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	12,75	51 ± 0,1	4,52 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	8,9 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	32,75	55,5 ± 0,1	4,41 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	K()	102,75	62 ± 0,1	4,36 · 10 ⁵ ± 8,2 · 10 ³	7,0 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	2,75	45,2 ± 0,1	-4,140 · 10 ⁵ ± 6,4 · 10 ³	-9,20 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	12,75	48,1 ± 0,1	-4,220 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-8,80 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,75	52,2 ± 0,1	-4,280 · 10 ⁵ ± 6,7 · 10 ³	-8,20 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	7,5	10	Na()	102,75	59 ± 0,1	-4,190 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ³	-7,10 · 10 ³ ± 1,1 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	2,75	47,6 ± 0,1	4,36 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	12,75	50,5 ± 0,1	4,23 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	8,4 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,75	54,4 ± 0,1	4,29 · 10 ⁵ ± 7,6 · 10 ³	7,9 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	7,5	10	Na()	102,75	61,3 ± 0,1	4,24 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	6,9 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	2,75	42,5 ± 0,1	-3,630 · 10 ⁵ ± 5,0 · 10 ³	-8,50 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	12,75	45,4 ± 0,1	-4,460 · 10 ⁵ ± 7,1 · 10 ³	-9,80 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	32,75	51,6 ± 0,1	-4,390 · 10 ⁵ ± 7,1 · 10 ³	-8,50 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	K()	102,75	59,2 ± 0,1	-4,260 · 10 ⁵ ± 7,0 · 10 ³	-7,20 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	2,75	44,9 ± 0,1	3,80 · 10 ⁵ ± 5,6 · 10 ³	8,5 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	12,75	47,9 ± 0,1	4,42 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	32,75	53,8 ± 0,1	4,50 · 10 ⁵ ± 8,1 · 10 ³	8,4 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	K()	102,75	61,5 ± 0,1	4,21 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	6,8 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	2,75	41,2 ± 0,1	-3,610 · 10 ⁵ ± 4,6 · 10 ³	-8,80 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	12,75	44,3 ± 0,1	-4,210 · 10 ⁵ ± 6,5 · 10 ³	-9,50 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	32,75	50 ± 0,1	-4,320 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	-8,60 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ²
Abkühlung	8,5	1	Na()	102,75	58,7 ± 0,1	-4,210 · 10 ⁵ ± 6,8 · 10 ³	-7,20 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	2,75	43,7 ± 0,1	3,63 · 10 ⁵ ± 5,6 · 10 ³	8,3 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	12,75	46,7 ± 0,1	4,29 · 10 ⁵ ± 7,1 · 10 ³	9,2 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	32,75	52,3 ± 0,1	4,36 · 10 ⁵ ± 7,4 · 10 ³	8,3 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ²
Erwärmung	8,5	1	Na()	102,75	60,9 ± 0,1	4,24 · 10 ⁵ ± 7,8 · 10 ³	7,0 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ²

Tabelle A.15: Auswerteergebnisse der HEPES-Messung durch die Anpassung der Basislinien der gemessene dekadische Extinktionskurve mit anschließender Medianbildung und Van't Hoff-Analyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.2). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,4	3,3	K(I)	2,8	31,7 ± 0,3	-2,250 · 10 ⁵ ± 4,0 · 10 ³	-7,40 · 10 ² ± 1,3 · 10 ¹
Abkühlung	7,4	3,3	K(I)	3,07	36,3 ± 0,2	-2,650 · 10 ⁵ ± 3,4 · 10 ³	-8,60 · 10 ² ± 1,1 · 10 ¹
Abkühlung	7,4	3,3	K(I)	6,07	40,5 ± 0,1	-4,060 · 10 ⁵ ± 3,8 · 10 ³	-1,300 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ¹
Abkühlung	7,4	3,3	K(I)	36,07	52,3 ± 0,1	-4,870 · 10 ⁵ ± 4,0 · 10 ³	-1,500 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	3,3	K(I)	2,8	34,2 ± 0,4	2,37 · 10 ⁵ ± 7,3 · 10 ³	7,7 · 10 ² ± 2,3 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	3,3	K(I)	3,07	37,7 ± 0,2	2,77 · 10 ⁵ ± 5,6 · 10 ³	8,9 · 10 ² ± 1,8 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	3,3	K(I)	6,07	42,1 ± 0,1	4,19 · 10 ⁵ ± 5,9 · 10 ³	1,33 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	3,3	K(I)	36,07	54,5 ± 0,1	4,88 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ³	1,49 · 10 ³ ± 2,3 · 10 ¹
Abkühlung	7,4	10	Na(I)	8,31	40,7 ± 0,2	-4,260 · 10 ⁵ ± 2,6 · 10 ³	-1,3570 · 10 ³ ± 8,2 · 10 ⁰
Abkühlung	7,4	10	Na(I)	18,31	44 ± 0,2	-4,050 · 10 ⁵ ± 3,8 · 10 ³	-1,280 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ¹
Abkühlung	7,4	10	Na(I)	38,31	49,1 ± 0,3	-3,940 · 10 ⁵ ± 4,5 · 10 ³	-1,220 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ¹
Abkühlung	7,4	10	Na(I)	108,31	56,7 ± 0,3	-4,050 · 10 ⁵ ± 4,8 · 10 ³	-1,230 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	10	Na(I)	8,31	42,6 ± 0,2	5,3 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	1,67 · 10 ³ ± 4,5 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	10	Na(I)	18,31	45,1 ± 0,7	3,94 · 10 ⁵ ± 7,1 · 10 ³	1,24 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	10	Na(I)	38,31	49,8 ± 0,3	3,72 · 10 ⁵ ± 5,8 · 10 ³	1,15 · 10 ³ ± 1,8 · 10 ¹
Erwärmung	7,4	10	Na(I)	108,31	57,3 ± 0,4	3,80 · 10 ⁵ ± 5,1 · 10 ³	1,15 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	K(I)	2,62	38,3 ± 0,2	-4,050 · 10 ⁵ ± 5,1 · 10 ³	-1,300 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	K(I)	12,62	45,1 ± 0,1	-4,580 · 10 ⁵ ± 3,3 · 10 ³	-1,440 · 10 ³ ± 1,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	K(I)	32,62	51,6 ± 0,1	-4,860 · 10 ⁵ ± 6,3 · 10 ³	-1,500 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	K(I)	102,62	59,2 ± 0,2	-5,30 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-1,580 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	K(I)	2,62	40,6 ± 0,2	3,99 · 10 ⁵ ± 5,2 · 10 ³	1,27 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	K(I)	12,62	47,4 ± 0,1	4,98 · 10 ⁵ ± 9,1 · 10 ³	1,56 · 10 ³ ± 2,8 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	K(I)	32,62	53,8 ± 0,1	5,2 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,60 · 10 ³ ± 3,5 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	K(I)	102,62	61,5 ± 0,2	5,4 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	1,61 · 10 ³ ± 4,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	Na(I)	2,62	42,3 ± 0,2	-4,290 · 10 ⁵ ± 5,2 · 10 ³	-1,360 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	Na(I)	12,62	43,9 ± 0,1	-4,620 · 10 ⁵ ± 3,6 · 10 ³	-1,460 · 10 ³ ± 1,1 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	Na(I)	32,62	50 ± 0,2	-4,670 · 10 ⁵ ± 4,8 · 10 ³	-1,450 · 10 ³ ± 1,5 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	2,5	Na(I)	102,62	58,6 ± 0,2	-5,20 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-1,580 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	Na(I)	2,62	44,8 ± 0,2	4,30 · 10 ⁵ ± 6,2 · 10 ³	1,35 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	Na(I)	12,62	46,2 ± 0,1	4,85 · 10 ⁵ ± 6,6 · 10 ³	1,52 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	Na(I)	32,62	52,1 ± 0,1	5,4 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,65 · 10 ³ ± 4,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	2,5	Na(I)	102,62	60,8 ± 0,1	5,3 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,59 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K(I)	10,47	39,7 ± 0,1	-4,130 · 10 ⁵ ± 4,1 · 10 ³	-1,320 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K(I)	30,47	49 ± 0,1	-4,560 · 10 ⁵ ± 7,7 · 10 ³	-1,420 · 10 ³ ± 2,4 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K(I)	100,47	58,3 ± 0,1	-4,640 · 10 ⁵ ± 7,9 · 10 ³	-1,400 · 10 ³ ± 2,4 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K(I)	10,47	41,8 ± 0,1	4,37 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	1,39 · 10 ³ ± 2,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K(I)	30,47	51,4 ± 0,1	4,8 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	1,48 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K(I)	100,47	60,5 ± 0,1	4,9 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	1,46 · 10 ³ ± 3,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na(I)	10,47	40 ± 0,1	-4,080 · 10 ⁵ ± 4,4 · 10 ³	-1,310 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na(I)	10,47	42,4 ± 0,1	4,28 · 10 ⁵ ± 6,8 · 10 ³	1,36 · 10 ³ ± 2,1 · 10 ¹

Tabelle A.16: Auswertergebnisse der MOPS-Messung durch die Anpassung der Basislinien der gemessene dekadische Extinktionskurve mit anschließender Medianbildung und Van't Hoff-Analyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.2). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m n °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	6,5	10	K()	2,29	40,3 ± 0,3	-4,70 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	-1,510 · 10 ³ ± 4,8 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	K()	12,29	46,7 ± 0,2	-5,30 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	-1,650 · 10 ³ ± 4,5 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	K()	32,29	50,9 ± 0,2	-5,50 · 10 ⁵ ± 1,6 · 10 ⁴	-1,700 · 10 ³ ± 5,0 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	K()	102,29	58,4 ± 0,4	-5,80 · 10 ⁵ ± 2,1 · 10 ⁴	-1,750 · 10 ³ ± 6,2 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	K()	2,29	42,5 ± 0,3	4,2 · 10 ⁵ ± 1,8 · 10 ⁴	1,33 · 10 ³ ± 5,6 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	K()	12,29	49,1 ± 0,2	5,5 · 10 ⁵ ± 2,0 · 10 ⁴	1,70 · 10 ³ ± 6,0 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	K()	32,29	53,3 ± 0,1	5,2 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	1,59 · 10 ³ ± 4,3 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	K()	102,29	61,1 ± 0,2	5,2 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,56 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	Na()	2,29	40,7 ± 0,2	-4,30 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	-1,370 · 10 ³ ± 4,4 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	Na()	12,29	43,5 ± 0,2	-4,60 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	-1,460 · 10 ³ ± 4,5 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	Na()	32,29	49,9 ± 0,2	-4,880 · 10 ⁵ ± 7,1 · 10 ³	-1,510 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ¹
Abkühlung	6,5	10	Na()	102,29	58,2 ± 0,2	-5,20 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-1,590 · 10 ³ ± 3,8 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	Na()	2,29	43,2 ± 0,3	4,4 · 10 ⁵ ± 1,4 · 10 ⁴	1,39 · 10 ³ ± 4,4 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	Na()	12,29	45,7 ± 0,2	5,4 · 10 ⁵ ± 1,8 · 10 ⁴	1,69 · 10 ³ ± 5,5 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	Na()	32,29	52,1 ± 0,1	5,5 · 10 ⁵ ± 1,9 · 10 ⁴	1,70 · 10 ³ ± 5,6 · 10 ¹
Erwärmung	6,5	10	Na()	102,29	60,2 ± 0,2	5,6 · 10 ⁵ ± 1,7 · 10 ⁴	1,69 · 10 ³ ± 5,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	1	K()	2,29	40,4 ± 0,2	-3,990 · 10 ⁵ ± 9,4 · 10 ³	-1,270 · 10 ³ ± 3,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	1	K()	12,29	44,8 ± 0,2	-4,720 · 10 ⁵ ± 4,2 · 10 ³	-1,490 · 10 ³ ± 1,3 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	1	K()	2,29	43,1 ± 0,3	4,0 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	1,26 · 10 ³ ± 3,1 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	1	K()	12,29	47,2 ± 0,1	5,2 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,63 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	1	Na()	2,29	43,5 ± 0,2	-4,760 · 10 ⁵ ± 5,6 · 10 ³	-1,500 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	1	Na()	12,29	41,1 ± 0,2	-3,780 · 10 ⁵ ± 6,7 · 10 ³	-1,200 · 10 ³ ± 2,1 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	1	Na()	2,29	45,9 ± 0,2	5,0 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	1,58 · 10 ³ ± 3,2 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	1	Na()	12,29	43,8 ± 0,4	4,2 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	1,33 · 10 ³ ± 4,0 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	22,91	41,9 ± 0,2	-4,730 · 10 ⁵ ± 3,9 · 10 ³	-1,500 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	32,91	46,3 ± 0,2	-4,720 · 10 ⁵ ± 5,6 · 10 ³	-1,480 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	52,91	51,9 ± 0,2	-4,940 · 10 ⁵ ± 8,1 · 10 ³	-1,520 · 10 ³ ± 2,5 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	122,91	59 ± 0,2	-5,40 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-1,630 · 10 ³ ± 4,0 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	22,91	44,3 ± 0,2	5,2 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,64 · 10 ³ ± 3,8 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	32,91	48,6 ± 0,1	5,10 · 10 ⁵ ± 9,8 · 10 ³	1,59 · 10 ³ ± 3,0 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	52,91	54,2 ± 0,1	5,3 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	1,61 · 10 ³ ± 3,3 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	122,91	61,5 ± 0,2	5,4 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,62 · 10 ³ ± 4,3 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	22,91	38,2 ± 0,2	-4,260 · 10 ⁵ ± 6,1 · 10 ³	-1,370 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,91	44,3 ± 0,2	-4,700 · 10 ⁵ ± 5,1 · 10 ³	-1,480 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	52,91	50,3 ± 0,1	-5,00 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-1,550 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	122,91	58,5 ± 0,2	-5,30 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-1,610 · 10 ³ ± 3,7 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	22,91	40,9 ± 0,2	4,7 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	1,51 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,91	46,9 ± 0,1	4,68 · 10 ⁵ ± 5,2 · 10 ³	1,46 · 10 ³ ± 1,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	52,91	52,7 ± 0,1	5,2 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,61 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	122,91	60,8 ± 0,2	5,5 · 10 ⁵ ± 1,6 · 10 ⁴	1,66 · 10 ³ ± 4,7 · 10 ¹

Tabelle A.17: Auswertergebnisse der TRIS-HCl-Messung durch die Anpassung der Basislinien der gemessene dekadische Extinktionskurve mit anschließender Medianbildung und Van't Hoff-Analyse (vgl. Unterabschnitt 4.6.2). Angegeben wird die Art der Temperaturänderung, der pH-Wert, die Pufferkonzentration, die gesamte Kationenkonzentration, die Schmelztemperatur T_m , die molare Enthalpieänderung ΔH und die molare Entropieänderung ΔS .

Temperaturrampe	pH	[Puffer] n mM	on	[Me(I)] _{ges} n mM	T_m °C	ΔH n J mol ⁻¹	ΔS n J mol ⁻¹ K ⁻¹
Abkühlung	7,5	10	K()	2,75	45,4 ± 0,2	-4,620 · 10 ⁵ ± 4,6 · 10 ³	-1,450 · 10 ³ ± 1,4 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	12,75	48,6 ± 0,2	-4,970 · 10 ⁵ ± 8,3 · 10 ³	-1,550 · 10 ³ ± 2,5 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	32,75	53,2 ± 0,2	-5,20 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-1,610 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	K()	102,75	59,6 ± 0,2	-5,30 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	-1,590 · 10 ³ ± 3,5 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	2,75	47,8 ± 0,2	4,75 · 10 ⁵ ± 6,1 · 10 ³	1,48 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	12,75	51 ± 0,1	5,3 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,63 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	32,75	55,4 ± 0,2	5,4 · 10 ⁵ ± 1,2 · 10 ⁴	1,63 · 10 ³ ± 3,6 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	K()	102,75	61,8 ± 0,2	5,5 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,66 · 10 ³ ± 4,5 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	2,75	45,2 ± 0,2	-4,410 · 10 ⁵ ± 3,4 · 10 ³	-1,390 · 10 ³ ± 1,1 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	12,75	48 ± 0,2	-4,620 · 10 ⁵ ± 3,7 · 10 ³	-1,440 · 10 ³ ± 1,2 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	32,75	52,2 ± 0,2	-5,030 · 10 ⁵ ± 9,6 · 10 ³	-1,550 · 10 ³ ± 2,9 · 10 ¹
Abkühlung	7,5	10	Na()	102,75	58,9 ± 0,2	-5,30 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-1,590 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	2,75	47,6 ± 0,2	4,91 · 10 ⁵ ± 8,0 · 10 ³	1,53 · 10 ³ ± 2,5 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	12,75	50,4 ± 0,2	4,82 · 10 ⁵ ± 5,4 · 10 ³	1,49 · 10 ³ ± 1,7 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	32,75	54,4 ± 0,1	5,1 · 10 ⁵ ± 1,0 · 10 ⁴	1,55 · 10 ³ ± 3,1 · 10 ¹
Erwärmung	7,5	10	Na()	102,75	61,2 ± 0,2	5,5 · 10 ⁵ ± 1,6 · 10 ⁴	1,66 · 10 ³ ± 4,6 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	K()	2,75	42,5 ± 0,2	-3,960 · 10 ⁵ ± 3,3 · 10 ³	-1,260 · 10 ³ ± 1,0 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	K()	12,75	45,4 ± 0,2	-4,760 · 10 ⁵ ± 6,4 · 10 ³	-1,500 · 10 ³ ± 2,0 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	K()	32,75	51,5 ± 0,2	-5,000 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	-1,540 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	K()	102,75	59 ± 0,2	-5,40 · 10 ⁵ ± 1,3 · 10 ⁴	-1,620 · 10 ³ ± 3,9 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	K()	2,75	44,8 ± 0,2	4,39 · 10 ⁵ ± 7,2 · 10 ³	1,38 · 10 ³ ± 2,2 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	K()	12,75	47,8 ± 0,1	4,72 · 10 ⁵ ± 6,1 · 10 ³	1,47 · 10 ³ ± 1,9 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	K()	32,75	53,8 ± 0,1	5,4 · 10 ⁵ ± 1,5 · 10 ⁴	1,66 · 10 ³ ± 4,4 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	K()	102,75	61,2 ± 0,2	5,5 · 10 ⁵ ± 1,6 · 10 ⁴	1,66 · 10 ³ ± 4,7 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	Na()	2,75	41,2 ± 0,2	-4,100 · 10 ⁵ ± 3,2 · 10 ³	-1,3060 · 10 ³ ± 9,9 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	Na()	12,75	44,2 ± 0,2	-4,270 · 10 ⁵ ± 3,2 · 10 ³	-1,3470 · 10 ³ ± 9,9 · 10 ⁰
Abkühlung	8,5	1	Na()	32,75	50 ± 0,2	-4,870 · 10 ⁵ ± 6,8 · 10 ³	-1,510 · 10 ³ ± 2,1 · 10 ¹
Abkühlung	8,5	1	Na()	102,75	58,5 ± 0,2	-5,20 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	-1,580 · 10 ³ ± 3,3 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	Na()	2,75	43,6 ± 0,2	4,5 · 10 ⁵ ± 1,1 · 10 ⁴	1,42 · 10 ³ ± 3,4 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	Na()	12,75	46,7 ± 0,2	4,58 · 10 ⁵ ± 3,5 · 10 ³	1,43 · 10 ³ ± 1,1 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	Na()	32,75	52,3 ± 0,2	5,10 · 10 ⁵ ± 9,9 · 10 ³	1,57 · 10 ³ ± 3,0 · 10 ¹
Erwärmung	8,5	1	Na()	102,75	60,7 ± 0,2	5,5 · 10 ⁵ ± 1,7 · 10 ⁴	1,66 · 10 ³ ± 4,9 · 10 ¹

Anhang B: Fehlerbetrachtung

Für die Fehleranalyse wird die Größtfehlerabschätzung genutzt. Für die Berechnung wird das 68 % Intervall der jeweiligen Kurvenanpassung genutzt.

Für die Berechnung des Fehlers der Entropie aus der Schmelztemperatur und Enthalpie gilt

$$\Delta S = \frac{\Delta H}{T_m} \quad \rightarrow \quad \Delta(\Delta S) = \left| \frac{1}{T_m} \cdot \Delta(\Delta H) \right| + \left| \frac{\Delta H}{T_m^2} \cdot \Delta(T_m) \right| \quad (\text{B.1})$$

Die Abweichung der Gibbs-Energie ist somit

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta H + T \cdot \Delta S \\ \Delta(\Delta G) &= |\Delta(\Delta H)| + |-\Delta S \cdot \Delta T| + |-T \cdot \Delta(\Delta S)| \end{aligned} \quad (\text{B.2})$$

B.1 Gradientenanalyse

Der Fehler der Enthalpie aus der Halbwertbreitenmessung berechnet sich durch

$$\begin{aligned} \Delta(\Delta H) &= \left| \frac{\alpha \cdot T_{\max}^2}{(T_{\max} - T_{3/4})^2} \cdot \Delta T_{3/4} \right| \\ &+ \left| -\frac{\alpha \cdot T_{3/4}^2}{(T_{\max} - T_{3/4})^2} \cdot \Delta T_{\max} \right| + \left| -\frac{1}{(T_{\max} - T_{3/4})^2} \cdot \Delta \alpha \right| \end{aligned} \quad (\text{B.3})$$

B.2 Median

Der Fehler der gefalteten Anteile aus der Basislinienanpassung berechnet sich als

$$\begin{aligned} \Delta(\theta(T)) &= \left| \frac{1}{(m_u \cdot T + n_u) - (m_o \cdot T + n_o)} \cdot \Delta E_d \right| + \left| \frac{m_u(n_o - E_d) + m_o(E_d - n_u)}{[T(m_u - m_o) + n_u + n_o]^2} \cdot \Delta T \right| \\ &+ \left| \frac{T([m_o \cdot T + n_o] - E_d)}{[T(m_u - m_o) + n_u - n_o]^2} \cdot \Delta m_u \right| + \left| \frac{[m_o \cdot T + n_o] - E_d}{[T(m_u - m_o) + n_u - n_o]^2} \cdot \Delta n_u \right| \\ &+ \left| \frac{T((m_u \cdot T + n_u) - E_d)}{[T(m_u - m_o) + n_u - n_o]^2} \cdot \Delta m_o \right| + \left| \frac{E_d - [m_u \cdot T + n_u]}{[T(m_u - m_o) + n_u - n_o]^2} \cdot \Delta n_o \right| \end{aligned} \quad (\text{B.4})$$

Für die Abweichung der Assoziationskonstante gilt

$$\Delta K_a = \left| \frac{1}{(1 - \theta(T))^2} \cdot \Delta \theta \right| \quad (\text{B.5})$$

Die Wichtung für die lineare Regression im Van't Hoff Diagramm ist somit

$$\Delta \ln K_a = \left| \frac{1}{\theta - \theta(T)^2} \cdot \Delta\theta \right| \quad (\text{B.6})$$

Die Anpassungsfunktion des Van't Hoff Diagramms ist

$$\ln K_a = \alpha \frac{1}{T} + \beta \quad (\text{B.7})$$

Der Fehler für Enthalpie und Entropie ist somit

$$\Delta H = -\alpha \cdot R \quad \rightarrow \quad \Delta(\Delta H) = |-R \cdot \Delta\alpha| \quad (\text{B.8})$$

$$\Delta S = +\beta \cdot R \quad \rightarrow \quad \Delta(\Delta S) = |R \cdot \Delta\beta| \quad (\text{B.9})$$

B.3 Abschätzung des Konzentrationsfehlers

Vor und nach der Messung wurde jeweils ein Foto der Küvetten vor einem kariertem Blatt Papier getätigt. Damit lässt sich ein Konzentrationsfehler abschätzen. Der Volumenverlust beträgt circa. 40 μL . Bei 400 μL Ausgangsvolumen entspricht dies einem Volumenverlust von ca. 10 %.

$$V_1 \cdot c_1 = V_2 \cdot c_2 \rightarrow c_1 = c_2 \cdot \frac{V_1}{V_2} = c_1 \cdot \frac{10}{9}$$
$$\Delta c = c_2 - c_1 = c_1 \left(\frac{V_1}{V_2} - 1 \right) = \frac{c_1}{9} \quad (\text{B.10})$$

Anhang C: Aufbau und Arbeitsplatz des Spektrometers

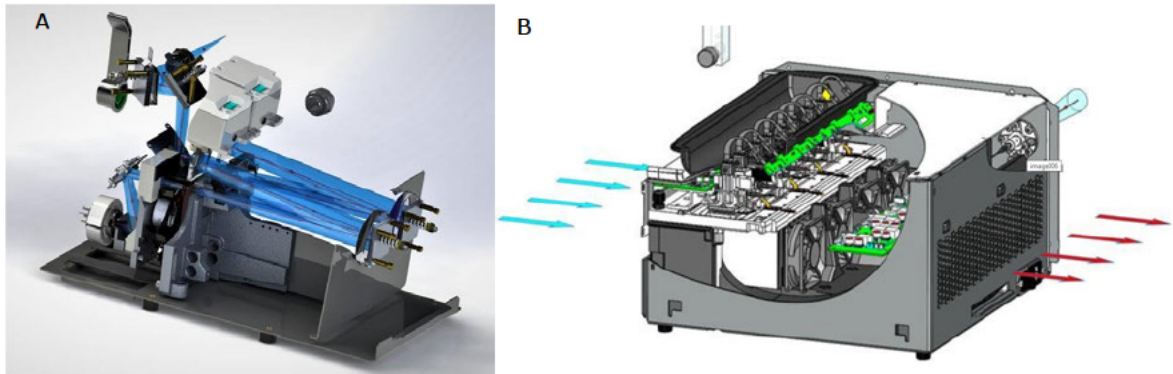


Abbildung C.1: Aufbau des Spektrometers mit Strahlengang Cary 3500. A: Engine, B: Multicell [6].



Abbildung C.2: Arbeitsplatz des Cary 3500.

Literaturverzeichnis

- [1] DAVID E. DRAPER. „A guide to ions and RNA structure“. In: *RNA* 10.3 (2004), S. 335–343. DOI: 10.1261/rna.5205404. URL: <https://doi.org/10.1261%2Frna.5205404>.
- [2] Wolfram Saenger. *Principles of Nucleic Acid Structure*. Springer New York, 1984. DOI: 10.1007/978-1-4612-5190-3. URL: <https://doi.org/10.1007%2F978-1-4612-5190-3>.
- [3] J. D. WATSON und F. H. C. CRICK. „Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid“. In: *Nature* 171.4356 (1953), S. 737–738. DOI: 10.1038/171737a0. URL: <https://doi.org/10.1038%2F171737a0>.
- [4] Jeremy M. Berg u. a. *Stryer Biochemie*. Springer Berlin Heidelberg, 2018. DOI: 10.1007/978-3-662-54620-8. URL: <https://doi.org/10.1007%2F978-3-662-54620-8>.
- [5] Albrecht Böttcher, Danny Kowerko und Roland K.O. Sigel. „Explicit analytic equations for multimolecular thermal melting curves“. In: *Biophysical Chemistry* 202 (2015), S. 32–39. DOI: 10.1016/j.bpc.2015.04.001. URL: <https://doi.org/10.1016%2Fj.bpc.2015.04.001>.
- [6] *Cary 3500 Compact UV-Vis Spectrophotometer*. [Online; accessed 31. Oct. 2023]. 2023. URL: <https://www.agilent.com/en/product/molecular-spectroscopy/uv-vis-uv-vis-nir-spectroscopy/uv-vis-uv-vis-nir-systems/cary-3500-compact-uv-vis-spectrophotometer>.
- [7] Norman E. Good u. a. „Hydrogen Ion Buffers for Biological Researchsup*/sup“. In: *Biochemistry* 5.2 (1966), S. 467–477. DOI: 10.1021/bi00866a011. URL: <https://doi.org/10.1021%2Fbi00866a011>.
- [8] *Technische Info: Biologische Puffer*. Techn. Ber. Karlsruhe, DE: Carl Roth GmbH + Co. KG, 2016.
- [9] W. A. Kibbe. „OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator“. In: *Nucleic Acids Research* 35.Web Server (2007), W43–W46. DOI: 10.1093/nar/gkm234. URL: <https://doi.org/10.1093%2Fnar%2Fgkm234>.
- [10] K J Breslauer u. a. „Predicting DNA duplex stability from the base sequence.“ In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83.11 (1986), S. 3746–3750. DOI: 10.1073/pnas.83.11.3746. URL: <https://doi.org/10.1073%2Fpnas.83.11.3746>.

- [11] Naoki Sugimoto u. a. „Improved Thermodynamic Parameters and Helix Initiation Factor to Predict Stability of DNA Duplexes“. In: *Nucleic Acids Research* 24.22 (1996), S. 4501–4505. DOI: 10.1093/nar/24.22.4501. URL: <https://doi.org/10.1093%2Fnar%2F24.22.4501>.
- [12] James G. Wetmur. „DNA Probes: Applications of the Principles of Nucleic Acid Hybridization“. In: *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 26.3-4 (1991), S. 227–259. DOI: 10.3109/10409239109114069. URL: <https://doi.org/10.3109%2F10409239109114069>.
- [13] *Best Practice für die Messung der thermischen Stabilität von Nukleinsäuren mit dem Cary 3500 UV-Vis-Spektralphotometer*. Techn. Ber. DE50410706. Santa Clara, CA: Agilent Technologies, Inc. 2022, 2022.
- [14] M. Newville. „LMFIT: Non-Linear Least-Square Minimization and Curve-Fitting for Python“. In: (2014). DOI: 10.5281/zenodo.11813.
- [15] Jay Gralla und Donald M. Crothers. „Free energy of imperfect nucleic acid helices“. In: *Journal of Molecular Biology* 78.2 (1973), S. 301–319. DOI: 10.1016/0022-2836(73)90118-6. URL: <https://doi.org/10.1016%2F0022-2836%2873%2990118-6>.
- [16] Roland K. Hartmann u. a. *Handbook of RNA Biochemistry*. en. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2015. ISBN: 978-3-527-32776-8.
- [17] „Corrosion Books: Chemie einfach alles. By: Peter W. Atkins, Loretta Jones“. In: *Materials and Corrosion* 57.11 (2006), S. 892–892. DOI: 10.1002/maco.200690117. URL: <https://doi.org/10.1002%2Fmaco.200690117>.
- [18] Jean-Louis Mergny und Laurent Lacroix. „Analysis of Thermal Melting Curves“. In: *Oligonucleotides* 13.6 (2003), S. 515–537. DOI: 10.1089/154545703322860825. URL: <https://doi.org/10.1089%2F154545703322860825>.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich – Paul Lehmann – an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.

Sämtliche Stellen der Arbeit, die im Wortlaut oder dem Sinn nach Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt oder anderweitig veröffentlicht.

Mittweida, 31.10.2023

Ort, Datum

A solid black rectangular box used to redact the signature of Paul Lehmann.

Paul Lehmann