



JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ

GELBILDUNG VON HYDROKOLLOIDMISCHUNGEN UND DEREN WECHSELWIRKUNG MIT NIEDERMOLEKULAREN CO-SOLUTEN

DIPLOMARBEIT

zur Erlangung des akademischen Grades eines Diplom-Chemikers

vorgelegt dem Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

von

Natalie Ruß

(Matrikelnummer 2647658)

April 2013



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

Diese Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz erstellt.

Danksagungen

An erster Stelle möchte Ich mich vielmals bei Prof. Hans Wolfgang Spiess für die Ermöglichung meiner Diplomarbeit am Max-Planck-Institut für Polymerforschung bedanken.

Mein ganz herzlicher Dank geht aber in erster Linie an Prof. Thomas Vilgis, der es mir in meinem ganzen Studium ermöglichte hochinteressanten und „wohl schmeckenden“ Fragestellungen nachzugehen. Zudem möchte ich mich mehrfach für die sehr gute Betreuung während der Diplomarbeit und für die Motivation den wissenschaftlichen Zweig weiter zu verfolgen, bedanken.

Auch Prof. Kurt Kremer gebührt an dieser Stelle ein großer Dank für die Aufnahme in seiner Arbeitsgruppe und das Aufrechterhalten unserer Food Science Gruppe.

Ein riesen Dank geht an Dr. Birgitta Schiedt. Durch ihre mühevollen Hilfe und Geduld konnten viele offene Fragen gelöst werden. Vielen Dank, dass du mir bei allen theoretischen und praktischen Problemen und Aufgaben helfend beiseite standest. Ein weiterer Dank geht an alle „Foodies“ sowie Ehemalige, Felix Bröcker, Neyla Chatti, Johannes Franz, Marta Ghebremedhin, Julia Mann, Sania Maurer, Benny Viezens und Gustav Waschatko für die vielen netten und lustigen Stunden inner- und außerhalb des Instituts.

Ganz liebevoll möchte ich noch Doris Kirsch danken, die mir den Eintritt in die MPG überhaupt ermöglichte und die zu jeder Zeit ein offenes Ohr für mich hatte und hoffentlich weiterhin haben wird. Ganz besonders möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und vor allem Benny Dietz danken, die mir auf diesem langen Weg immer wieder neuen Mut, Kraft und Motivation schenkten.

Abstract

Hydrocolloids are widely used in the daily life, especially in the food industry to improve the quality and texture of different food products. Mainly, they are used as thickening and gelling agents. Hydrocolloids consist of long chain polymers (polysaccharides and proteins) and form viscous dispersions and/or gels by dispersing in water. Due to their thickening, gelling and stabilizing abilities these water-soluble polysaccharides have an extensive application as food additives. In this study Agarose, a typical gelling agent, is examined and combined with the thickening agents Natriumalginate and Xanthan. Furthermore, the impact of two disaccharides, Sucrose and Trehalose, is studied. It is demonstrated, that hydrogels, consisting of an Agarose network, is modified by adding alginate or xanthan and by a controlled mixture with sugars. Material properties, like viscoelasticity, texture, water holding capacity, gelling temperature and thermal stability, are adapted and their range of application therefor enormously enlarged. According to shear-depending viscosity measurements and strain-depending oscillation experiments, thickeners and sweeteners showed an obvious change in the viscoelastic properties of the hydrogels. Alginate and Xanthan showed a considerable difference in influencing the viscoelastic character of the Agarose gels. Thus a model to describe the network building of Agarose in a mixture with alginate respectively xanthan are developed. Different drying experiments allowed the examination of the water holding behavior and showed a consistent increase of the water holding capacity with increasing sugar concentration. Thermal properties, like stability, gelling and melting temperature, could be investigated by temperature depending oscillation measurements and DSC experiments. The composite Agarose-Alginate exhibits a more distinctive stability than Agarose-Xanthan and offers an opposite behavior by adding sugar. The melting point of the pure Agarose gel decreases with increasing sugar concentration. The gelling points of the Agarose and the binary systems increase with increasing temperature. CLSM and SEM pictures enable conclusions with respect of network building of Agarose in composite with Alginate respectively Xanthan and the determination of representative structures of the individual hydrocolloids.

Zusammenfassung

Hydrokolloide finden im täglichen Leben eine große praktische Anwendung, besonders in der Lebensmittelindustrie um Qualitätsmerkmale und Texturen verschiedenster Nahrungsmittel zu verbessern. Hauptsächlich werden sie dabei als Verdickungs- und Gelierungsmittel eingesetzt. Hydrokolloide bestehen im Allgemeinen aus langkettigen Polymeren (Polysaccharide, Proteine) und können beim Dispergieren in Wasser viskose Dispersionen und/oder Gele ausbilden. Diese wasserlöslichen Polysaccharide haben auf Grund ihrer verdickenden, gelierenden und stabilisierenden Fähigkeit eine große und weitreichende Anwendung als Zusatzstoffe in Lebensmitteln. Im Rahmen dieser Arbeit wird Agarose als typisches Geliermittel untersucht und mit den Verdickungsmitteln Natriumalginat und Xanthan versetzt. Zudem wird in allen Systemen der Einfluss der Disaccharide Saccharose und Trehalose analysiert. In dieser Studie wird gezeigt, dass Hydrogele aus einem Agarosenetzwerk durch den Zusatz der Verdickungsmittel Alginat oder Xanthan, sowie durch kontrollierte Zuckerzusätze entsprechend ihren Anforderungsbedingungen modifiziert werden können. Materialspezifische Eigenschaften, wie Viskoelastizität, Textur, Wasserbindungsverhalten, Gelbildungstemperatur oder Hitze-stabilität können so angepasst und ihr Anwendungsbereich enorm vergrößert werden. Die Untersuchung der Rheologie durch scherratenabhängige Viskositätsmessungen und deformationsabhängige Oszillationsmessungen zeigt eine deutliche Veränderung der viskoelastischen Eigenschaften der Agarosegele durch den Zusatz der Verdickungs- und Süßungsmittel. Bei der Beeinflussung des viskoelastischen Charakters der Agarosegele durch Alginat bzw. Xanthan können deutliche Differenzen beobachtet werden und die Aufstellung eines Modells über die Netzwerkbildung in den Mischungen wird ermöglicht. Auch das Wasserbindungsverhalten wird durch systematische Trocknungsexperimente untersucht und zeigt mit wachsender Zuckerkonzentration eine stetige Zunahme des Wasserbindungsvermögens. Die thermischen Eigenschaften, wie Hitzestabilität, Gelierungs- und Schmelztemperatur, werden durch temperaturabhängige Oszillationsmessungen und DSC-Messungen geprüft. Die Mischungen Agarose-Alginat besitzen eine ausgeprägtere Hitzestabilität als Agarose-Xanthan und zeigen ein gegenläufiges Verhalten bei der Zugabe von Zucker. Der Schmelzpunkt nimmt mit wachsender Zuckerkonzentration in dem reinem Agarosegel ab; die Gelierungstemperatur nimmt im Rein- sowie Mischsystem mit wachsender Zuckerkonzentration zu. CLSM- und REM-Aufnahmen erlauben Rückschlüsse auf die Netzwerkbildung der Agarose in den Mischungen mit Alginat bzw. Xanthan und helfen bei der Aufklärung repräsentativer Strukturmerkmale der verschiedenen Hydrokolloide.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen.....	I
Abstract.....	II
Zusammenfassung.....	III
Inhaltsverzeichnis.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	XIV
Abkürzungsverzeichnis.....	XV
1 Einleitung.....	1
2 Theoretischer Hintergrund.....	3
2.1 Hydrokolloide als Gelierungs- und Verdickungsmittel.....	3
2.1.1 Verdickungsmittel.....	3
2.1.2 Gele und Gelierungsmittel.....	4
2.1.3 Physikalische Betrachtung der Gelbildung.....	6
2.2 Agarose.....	9
2.2.1 Chemische und physikalische Eigenschaften.....	9
2.2.2 Mechanismus der Gelbildung.....	10
2.2.3 Anwendungen.....	13
2.3 Alginat.....	14
2.3.1 Chemische Eigenschaften.....	15
2.3.2 Alginatlösungen und Gele.....	16
2.3.3 Anwendungen.....	20
2.4 Xanthan.....	21
2.4.1 Chemische Struktur.....	21
2.4.2 Physikalische Eigenschaften in Lösung.....	22
2.4.3 Anwendungen.....	27
2.5 Saccharose und Trehalose als Zusatzstoffe.....	28
2.5.1 Saccharose, Trehalose und deren Wechselwirkung mit Wasser.....	29
2.5.2 Einfluss des Zuckers auf die physikalischen Eigenschaften der Hydrokolloide.....	31
2.6 Mischungen aus verschiedenen Hydrokolloiden.....	32
3 Materialien und Methoden.....	35
3.1 Verwendete Materialien.....	35

3.2	Allgemeine Probenpräparation	36
3.3	Methoden	37
3.3.1	Rheologische Messungen	38
3.3.2	Feuchtegehaltanalyse.....	46
3.3.3	Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	47
3.3.4	Scanning Electron Microscopy (SEM).....	50
3.3.5	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	51
4	Ergebnisse und Diskussion	53
4.1	Viskositäts- und Oszillationsmessungen	53
4.1.1	Untersuchungen der wässrigen Disaccharidlösungen	53
4.1.2	Viskoelastische Eigenschaften von Agarosegelen	56
4.1.3	Fließ- und viskoelastische Eigenschaften von Alginatlösungen	59
4.1.4	Fließ- und viskoelastische Eigenschaften von Xanthandispersionen	63
4.1.5	Viskoelastische Eigenschaften der Mischsysteme	69
4.1.6	Genauere Betrachtung des Zuckereinflusses	77
4.1.7	Temperaturabhängige Messungen	80
4.2	Wasserbindungsvermögen der Hydrokolloidsystem	91
4.2.1	Untersuchung der Wasserbindung auf langer Zeitskala	92
4.2.2	Untersuchung der Wasserbindung auf kurzer Zeitskala.....	98
4.3	Mikroskopische Untersuchung der Hydrokolloidsysteme durch CLSM und REM	102
4.3.1	Untersuchung der Netzwerkstruktur durch CLSM.....	102
4.3.2	Strukturaufklärung durch Rasterelektronenmikroskopie (REM)	109
4.4	Analyse der thermischen Eigenschaften durch kalorimetrische Messungen.....	114
5	Zusammenfassung und Ausblick	117
	Anhang A Temperaturabhängige Messungen	121
A.1	Vergleichsmessungen am KIT Karlsruhe	121
A.2	Auswertung der Gelierungstemperaturen	121
	Anhang B Messkurven der Restfeuchtebestimmung	125
	Anhang C CLSM-Bilder der Hydrogele mit Zuckerzusatz	127
	Literaturverzeichnis	129
	Eidesstattliche Erklärung.....	134

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 Unterschiedliche Polymer-Polymer Wechselwirkungen in Polysaccharid-Systemen.....	7
Abbildung 2.2 1% w/w Agarosegel, angefärbt mit Hagebuttentee.....	9
Abbildung 2.3 Chemische Struktur der Agarose.....	9
Abbildung 2.4 Agarosenetzwerk aus geordneten und ungeordneten Regionen. Einzelne Polymerketten durchlaufen abwechselnd geordnete und ungeordnete Bereiche im Netzwerk (ARNOTT, FULMER, SCOTT, DEA, MOORHOUSE, & REES, 1974).....	11
Abbildung 2.5 Agarose Doppelhelix, Ansicht senkrecht zur Helixachse (ARNOTT, FULMER, SCOTT, DEA, MOORHOUSE, & REES, 1974).....	12
Abbildung 2.6 Model der molekularen Basis der Gelbildung. Die entropisch günstigen Polymerknäuel lagern sich durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu Doppelhelices an (REES & WELSH, 1977)....	12
Abbildung 2.7 Gelierungsmechanismus der Agarose. Willkürlich verteilte Polymerknäuel assoziieren beim Abkühlen zunächst zu Helices, die beim weiteren Abkühlen zu einem Netzwerk aggregieren (IMESON, 2009).....	13
Abbildung 2.8 1% w/w Na-Alginatlösung, angefärbt mit Hagebuttentee.....	14
Abbildung 2.9 Chemische Struktur des Alginats. Oben: Sequenz aus Guluronsäuremolekülen, Mitte: Block aus Mannuronsäuremolekülen und Unten: alternierende Anordnung von Mannuronsäure- und Guluronsäuremolekülen. Je nach Blocktyp bilden sich unterschiedliche Konformationen aus. In den G-Blockregionen ist das Polymer eher geknickt und steif, in den M-Blockregionen hat das Polymer eine flexible und bandartige Struktur und in den MG-Blöcken besitzt das Polymer eine mittlere Steifheit. (IMESON, 1997).....	15
Abbildung 2.10 Schematische Darstellung der Konformation von Polymannuronsäure und Polyguluronsäure. Jedes ebene Segment repräsentiert eine Zuckereinheit. (WHISTLER, 1993).....	16
Abbildung 2.11 Scherinduzierte Neuorientierung der Polymerketten des Alginats. Durch eine parallele Anordnung wird der Fließwiderstand herabgesetzt und die Viskosität der Lösung nimmt mit wachsender Scherrate ab. (IMESON, 1997).....	17
Abbildung 2.12 Positionierung der Ca^{2+} -Ionen zwischen einem Dimer aus Guluronsäuremolekülen. Durch die sterische Anordnung der Guluronsäuremoleküle innerhalb der Polymerkette können sich Chelate bilden. (IMESON, 1997).....	18
Abbildung 2.13 <i>Egg-box</i> -Modell der Gelierung von Alginat mit Ca^{2+} -Kationen. Calciumionen lagern sich zwischen zwei Polymerketten an und bewirken über elektrostatische Wechselwirkungen eine Assoziation der Ketten. Durch die Anlagerung weiterer Schichten entstehen so die Verknüpfungszonen und ein dreidimensionales Netzwerk kann sich ausbilden. (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009).....	19
Abbildung 2.14 Schematische Chelatisierung der Ca^{2+} -Kationen. Die schwarzen Punkte symbolisieren O-Atome (BRACCINI & PÉREZ, 2001).....	19

Abbildung 2.15 1% w/w Xanthan, angefärbt mit Hagebuttentee.	21
Abbildung 2.16 Chemische Struktur des Xanthans. (SWORN, 2009).....	22
Abbildung 2.17 Übergang von (a) ungeordneter Konformation von Xanthan über (b) lokal geordneter Konformation zu (c) Aggregation von geordneten Kettensequenzen zu einem schwach gelartigem Netzwerk (NORTON, GOODALL, FRANGOU, MORRIS, & REES, 1984).	23
Abbildung 2.18 Knäuel-Helix bzw. ungeordnet-geordnet Übergang. Bei hohen Temperaturen und geringer Ionenstärke nehmen die Xanthanmoleküle eine ungeordnete Knäuelkonformation ein, bei geringen Temperaturen und hoher Ionenstärke wird die geordnete Helixstruktur stabilisiert (E. R. MORRIS, REES, YOUNG, WALKINSHAW, & DARKE, 1977).	24
Abbildung 2.19 Bei geringer Konzentration (links) sind nur wenige geladenen Stäbchen in der Lösung vorhanden und sie können sich frei bewegen. Bei hohen Konzentrationen (rechts) wird die elektrostatische Abstoßung so hoch, dass sich die Stäbchen gegenseitig behindern und an willkürlichen Positionen und Orientierungen eingefroren werden (VILGIS, 2012).....	25
Abbildung 2.20 Molekulare Sicht des scherverdünnenden Verhaltens von Xanthan. Durch Erhöhung der Scherrate werden die Verschlaufungen zwischen den Polymerketten gelöst, die Polymerketten parallelisieren sich und der Fließwiderstand wird herabgesetzt. Die Viskosität der Lösung verringert sich mit wachsender Scherrate. (SWORN, 2009).....	26
Abbildung 2.21 Hohe Scherraten sind fähig die stäbchenförmigen Moleküle aus ihrem eingefrorenen Zustand zu deformieren. Die Stäbchen ordnen sich parallel an und vermindern so den Fließwiderstand (VILGIS, 2012).....	27
Abbildung 2.22 Vergleich des Fließverhaltens von Xanthan und anderen Hydrokolloiden. Xanthan erreicht auch nur mit einer Konzentration von 0,3% eine höhere Nullscherviskosität als die anderen Hydrokolloide mit einer Konzentration von 1%. Auch die Scherverdünnung wirkt sich beim Xanthan viel stärker aus. (SWORN, 2009).....	28
Abbildung 2.23 Chemische Struktur der Saccharose aus α -D-Glcp(1,2)-D-Fru. (Quelle: http://en.wikipedia.org/wiki/Sucrose).....	29
Abbildung 2.24 Chemische Struktur der Trehalose aus α -D-Glcp(1,1)- α -D-Glcp (ELBEIN, PAN, PASTUSZAK, & CARROLL, 2003).	29
Abbildung 2.25 Polymernetzwerke aus zwei Komponenten. (a) gequollenes Netzwerk, (b) interpenetrierende Netzwerke, (c) phasenseparierte Netzwerke und (d) gekoppelte Netzwerke. (V. J. MORRIS, 2007).	32
Abbildung 3.1 Vergleich von 1% w/w Agarose-Alginat 1-1 (links) und Agarose- Xanthan 1-1 (rechts), angefärbt mit Hagebuttentee.	37
Abbildung 3.2 Parallele Plattenmodell. (Übernommen mit freundlicher Genehmigung von Dr. Birgitta Schiedt, MPI für Polymerforschung, Mainz)....	38
Abbildung 3.3 Darstellung der sinusförmigen Deformation γt und deren Phasenverschiebung zur Spannung τt . (Übernommen mit freundlicher Genehmigung von Dr. Birgitta Schiedt, MPI für Polymerforschung, Mainz)....	39
Abbildung 3.4 Logarithmische Auftragung der normierten Viskosität gegen die normierte Scherrate zur Verdeutlichung der Scherverdünnung von Polysaccharidlösungen, (Δ)Guarkernmehl, (\blacktriangle)Karrageen, (\bullet)Johannisbrotkernmehl, (\blacksquare)Alginat, (\circ)Hyaluronat (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).....	41

Abbildung 3.5 Abhängigkeit von G' , G'' und der komplexen Viskosität η^* von der Frequenz. Oben: konzentrierte Lösungen, unten: verdünnte Lösungen. (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).	42
Abbildung 3.6 Unterschiedliche Messgeometrien des Rotationsrheometers, Platte-Platte und koaxialer Zylinder.	44
Abbildung 3.7 Durch die Ladung der Polyelektrolyte bildet sich eine Hydrathülle aus, die sich durch den dipolaren Charakter der Wassermoleküle stabilisiert. (VILGIS, 2012).....	46
Abbildung 3.8 Schematische Darstellung des Strahlengangs eines Fluoreszenz-CLSM. Oben: Anregung, nur das Fluoreszenzlicht kann den Spiegel passieren; unten: Detektion, durch den Einsatz der Lochblende liegt der Detektionsfokus genau in der Fokalebene des Objektivs. (Quelle: Praktikumsskript PC-Grundmodul, Uni Mainz, 2011, http://www.uni-mainz.de/FB/Chemie/fbhome/physc/Dateien/Modul_Einzelmolekuelmikroskopie.pdf).....	48
Abbildung 3.9 Chemische Struktur von 5-DTAF als Fluoreszenzmarker von Agarose.....	48
Abbildung 3.10 Schematischer Aufbau einer Feldemissionselektrodenquelle. (Quelle: http://tu-dresden.de/die_tu_dresden/fakultaeten/fakultaet_mathematik_und_naturwissenschaften/fachrichtung_physik/isp/tbg/lehre/TEM.pdf)	50
Abbildung 3.11 Thermogramm eines Agarosegels mit unterschiedlichem Zuckerzusatz von (NORMAND, AYMARD, LOOTENS, AMICI, PLUCKNETT, & FRITH, 2003).	52
Abbildung 4.1 Viskosität in Abhängigkeit von der Zeit bei einer konstanten Scherrate $\dot{\gamma} = 137 \text{ 1/s}$ und Temperatur $T = 25 \text{ °C}$. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen die unterschiedlich konzentrierten Saccharoselösungen und die nicht-ausgefüllten die Trehaloselösungen. Mit zunehmender Zuckerkonzentration ist eine Viskositätserhöhung erkennbar.	54
Abbildung 4.2 Logarithmische Darstellung des viskosen Modul G'' (Verlustmodul) in Abhängigkeit von der Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und Temperatur $T = 25 \text{ °C}$ für die verschiedenen Zuckerlösungen. Die ausgefüllten Symbole stehen wieder für die Saccharoselösungen und die nicht-ausgefüllten spiegeln die entsprechenden Trehaloselösungen wider.....	55
Abbildung 4.3 Logarithmische Darstellung des elastischen G' und viskosen G'' Modul in Abhängigkeit von der Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und Temperatur $T = 25 \text{ °C}$ für links: Agarose/Saccharose-Gele und rechts: Agarose/Trehalose-Gele. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils G' und die nicht-ausgefüllten G''	56
Abbildung 4.4 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen das Wachstum von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole das für den Zusatz von Trehalose.....	57
Abbildung 4.5 Logarithmische Darstellung der Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und konstanter Temperatur $T = 25 \text{ °C}$. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen die Alginatelösungen mit Saccharosezusatz und die nicht-ausgefüllten die mit Trehalosezusatz.	59

- Abbildung 4.6 Links: Nullscherviskosität in Abhängigkeit der Zuckerkonzentration für die zwei unterschiedlichen Alginatsysteme; rechts: Scherrate, ab der die Scherverdünnung einsetzt, als Funktion der Zuckerkonzentration der unterschiedlichen Alginatlösungen. Schwarze Zeichen symbolisieren die Alginatlösungen mit Saccharosezusatz und grau die mit Trehalosezusatz..... 60
- Abbildung 4.7 Logarithmische Darstellung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Alginat/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' 61
- Abbildung 4.8 Logarithmische Darstellung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Alginat/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' 61
- Abbildung 4.9 Elastischer G' und viskoser Modul G'' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation $\gamma = 0,1$ für beide Alginat/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbolen stehen für G' , die nicht-ausgefüllten für G'' , schwarz symbolisiert das Saccharosesystem und grau das Trehalosesystem. 62
- Abbildung 4.10 Logarithmische Auftragung der Viskosität als Funktion der Scherrate für links: das Xanthan/Saccharose-System und rechts: das Xanthan/Trehalose-System bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C..... 63
- Abbildung 4.11 Viskosität der Xanthandispersionen in Abhängigkeit zur eingesetzten Zuckerkonzentration. Schwarze Zeichen symbolisieren den Zusatz von Saccharose und graue Zeichen den von Trehalose..... 64
- Abbildung 4.12 Logarithmische Auftragung des elastische G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Xanthan/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' 66
- Abbildung 4.13 Logarithmische Auftragung des elastische G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Xanthan/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' 66
- Abbildung 4.14 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen den Verlauf von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole den für den Zusatz von Trehalose. 68
- Abbildung 4.15 Logarithmische Auftragung des elastischen Moduls G' als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C der reinen Agarosegele und der Mischsysteme mit Alginat bzw. Xanthan. 70
- Abbildung 4.16 Oben: Modellvorstellung der Netzworkebildung in der Agarose-Alginat-Mischung, Mitte: Modellvorstellung der Polymerverteilung vor dem Gelieren in der Mischung Agarose-Xanthan, Unten: Modellvorstellung der Netzworkebildung in der Agarose-Xanthan-Mischung. Die schwarzen

Helices und Linien symbolisieren jeweils die Agarose, die blauen Verschlaufungen Alginat (oben) und die blauen Zylinder die Xanthanstäbchen (mitte, unten).....	71
Abbildung 4.17 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Alginat/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G''	72
Abbildung 4.18 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Alginat/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G''	73
Abbildung 4.19 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen den Verlauf von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole den für den Zusatz von Trehalose.	74
Abbildung 4.20 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Xanthan/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G''	75
Abbildung 4.21 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Xanthan/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G''	75
Abbildung 4.22 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen den Verlauf von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole den für den Zusatz von Trehalose.	76
Abbildung 4.23 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (<i>strain</i>) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' . Im Vergleich sind jeweils die wässrigen Systeme mit 1,68% w/w und 1% w/w Hydrokolloidkonzentration gegenüber den 1%-igen Hydrokolloidsysteme mit 40% w/w Zuckeranteil dargestellt.	78
Abbildung 4.24 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation (<i>strain</i>). Links: das Alginat/Zuckersystem und rechts: das Xanthan/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht-ausgefüllten Symbole G''	81
Abbildung 4.25 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan\delta$ als Funktion der Temperatur für 1%-ige Agarose. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgerade und den Schnittpunkt mit der Abszisse bzw. Ordinate.....	83
Abbildung 4.26 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation	

- $\gamma = 0,01$ (*strain*) für das Agarose/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht-ausgefüllten Symbole G'' . Die roten Geraden verdeutlichen den theoretischen Überkreuzungspunkt von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur..... 84
- Abbildung 4.27 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für das Agarose-Alginat/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht-ausgefüllten Symbole G'' . Die roten Geraden verdeutlichen den theoretischen Überkreuzungspunkt von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur..... 85
- Abbildung 4.28 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan\delta$ als Funktion der Temperatur für das 1%-ige Agarose-Xanthan-System. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgeraden und deren Schnittpunkt. 86
- Abbildung 4.29 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für das Agarose-Xanthan/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht-ausgefüllten Symbole G'' . Die roten Geraden verdeutlichen den Anstieg von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur. 87
- Abbildung 4.30 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für die Agarose-Alginat-Systeme. Die roten Geraden verdeutlichen den theoretischen Schnittpunkt von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur. 88
- Abbildung 4.31 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für die Agarose-Xanthan-Systeme. Die roten Geraden verdeutlichen den Anstieg von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur..... 89
- Abbildung 4.32 Verlust des Feuchtigkeitsgehalts als Funktion der Zeit bei einer konstanten Temperatur $T = 50$ °C für die unterschiedlich konzentrierten Lösungen von Saccharose und Trehalose. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf der Saccharoselösungen und die nicht-ausgefüllten Vierecke den der Trehaloselösungen..... 93
- Abbildung 4.33 Restfeuchtegehalt der Zuckerlösungen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von $T = 50$ °C. Der schwarze Verlauf symbolisiert die Änderung der Saccharoselösungen und der graue Verlauf den der Trehaloselösungen. 94
- Abbildung 4.34 Verlust des Feuchtigkeitsgehalts als Funktion der Zeit bei einer konstanten Temperatur $T = 50$ °C (links) und $T = 80$ °C (rechts) für die 1%-igen Agarosegele. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf des Saccharosezusatzes und die nicht-ausgefüllten Vierecke den des Trehalosezusatzes..... 95
- Abbildung 4.35 Restfeuchtegehalt der 1%-igen Agarose/Zucker-Gele als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von links: $T = 50$ °C und rechts: $T = 80$ °C. Der schwarze Verlauf symbolisiert die Änderung durch Saccharosezusatz und der graue Verlauf den durch Trehalose..... 96

Abbildung 4.36 Restfeuchtegehalt der 1%-igen Alginat/Zucker- und Xanthan/Zucker-Dispersionen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von links: $T = 50\text{ °C}$ und rechts: $T = 80\text{ °C}$. Der schwarze Verlauf symbolisiert das Alginat/Zucker-System und der blaue Verlauf das Xanthan/Zucker-System. Dabei stellen die ausgefüllten Symbole jeweils die Änderung durch Saccharose und die nicht-ausgefüllten Symbole die durch Trehalose dar.	97
Abbildung 4.37 Restfeuchtegehalt der 1%-igen Agarose-Alginat/Zucker- und Agarose-Xanthan/Zucker-Gele als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von links: $T = 50\text{ °C}$ und rechts: $T = 80\text{ °C}$. Der schwarze Verlauf symbolisiert das Agarose-Alginat/Zucker-System und der blaue Verlauf das Agarose-Xanthan/Zucker-System. Dabei stellen die ausgefüllten Symbole jeweils die Änderung durch Saccharose und die nicht-ausgefüllten Symbole die durch Trehalose dar.	98
Abbildung 4.38 Gemessener Feuchteverlust in Abhängigkeit zur Zeit der 10% w/w Saccharoselösung und die Auswertung zur Bestimmung der Anfangssteigung mit Hilfe einer exponentiellen Funktion.	99
Abbildung 4.39 Steigungen der angelegten Exponentialfunktionen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Funktion $T = 50\text{ °C}$. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf durch den Zusatz von Saccharose und die nicht-ausgefüllten den durch Trehalosezusatz.....	100
Abbildung 4.40 Steigungen der angelegten Exponentialfunktionen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Funktion $T = 80\text{ °C}$. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf durch den Zusatz von Saccharose und die nicht-ausgefüllten den durch Trehalosezusatz.....	101
Abbildung 4.41 CLSM-Aufnahme eines 1%-igen fluoreszierenden Agarosegels durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	103
Abbildung 4.42 CLSM-Aufnahme eines 0,25%-igen fluoreszierenden Agarosegels durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	104
Abbildung 4.43 CLSM-Aufnahme der fluoreszierenden links: Agarose-Alginat-Gele und rechts: Agarose-Xanthan-Gele im Mischungsverhältnis 1-3 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	104
Abbildung 4.44 CLSM-Aufnahme des fluoreszierenden 0,5%-igen Agarosegels und unten links: der fluoreszierenden Agarose-Alginat-Gele, sowie unten rechts: Agarose-Xanthan-Gele im Mischungsverhältnis 1-1 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	106
Abbildung 4.45 CLSM-Aufnahme des fluoreszierenden 0,75%-igen Agarosegels und unten links: der fluoreszierenden Agarose-Alginat-Gele, sowie unten rechts: Agarose-Xanthan-Gele im Mischungsverhältnis 3-1 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	107
Abbildung 4.46 CLSM-Aufnahme der fluoreszierenden links: Agarose-Alginat-Gele mit 40% w/w Saccharose und rechts: Agarose-Xanthan-Gele 40% w/w Saccharose im Mischungsverhältnis 1-3 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	108
Abbildung 4.47 REM-Aufnahmen eines durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-igen Agarosegels mit 40% w/w Trehalosezusatz.	109
Abbildung 4.48 REM-Aufnahmen eines durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-igen Agarosegels in verschiedenen Auflösungen.....	110

Abbildung 4.49 REM-Aufnahmen einer durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-igen Alginatlösung in verschiedenen Auflösungen.	111
Abbildung 4.50 REM-Aufnahmen einer durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-igen Xanthandispersion in verschiedenen Auflösungen.	112
Abbildung 4.51 REM-Aufnahmen der durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-tigen Agarose-Alginat-Gele bzw. Agarose-Xanthan-Gele in drei verschiedenen Zusammensetzungen.	113
Abbildung 4.52 Aufheizkurve des 1%-igen Agarosegels (schwarz), Agarose mit 20% w/w Saccharosezusatz (blau) und Agarose mit 40% w/w Saccharosezusatz (grau) mit einer Heizrate von 1 K/min.	115
Abbildung 4.53 Aufheizkurve des 1%-igen Agarose-Alginat-Gels 1-1 (schwarz), Agarose-Alginat 1-3 (blau) und Agarose-Xanthan 1-1 (grau) mit einer Heizrate von 1 K/min.	116
Abbildung A.1 Temperaturabhängige Oszillationsmessung der 1%-igen Agarose im Vergleich zu den Messungen an dem hochsensitivem DHR3 Rheometer von TA Instruments am KIT in Karlsruhe.	121
Abbildung A.2 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan\delta$ als Funktion der Temperatur für 1%-ige Agarose mit entsprechendem Zuckerzusatz. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgerade und den Schnittpunkt mit der Abszisse bzw. Ordinate.	122
Abbildung A.3 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan\delta$ als Funktion der Temperatur für die 1%-ige Agarose-Alginat-Mischungen in unterschiedlichen Konzentrationsverhältnis und mit entsprechendem Zuckerzusatz. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgerade und den Schnittpunkt mit der Abszisse bzw. Ordinate.	123
Abbildung A.4 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regressionen an der Kurve des $\tan\delta$ als Funktion der Temperatur für die 1%-ige Agarose-Xanthan-Mischungen in unterschiedlichen Konzentrationsverhältnis und mit entsprechendem Zuckerzusatz. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgeraden und deren Schnittpunkt bzw. den Schnittpunkt mit der Abszisse.	124
Abbildung B.1 Verlust des Feuchtigkeitsgehalts als Funktion der Zeit bei einer konstanten Temperatur $T = 50\text{ °C}$ (jeweils links) und $T = 80\text{ °C}$ (jeweils rechts) für die 1%-igen Hydrokolloidsysteme. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf des Saccharosezusatzes und die nicht-ausgefüllten Vierecke den des Trehalosezusatzes.	126
Abbildung C.1 CLSM-Aufnahme der fluoreszierenden Agarose-Alginat-Gele mit 40% w/w Disacchariden und Agarose-Xanthan-Gele 40% w/w Disacchariden im Mischungsverhältnis 1-3, 1-1 und 3-1 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.	128

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1 Beispiele von Hydrokolloiden als Verdickungsmittel.	4
Tabelle 2.2 Beispiele von Hydrokolloiden als Gelierungsmittel.	5
Tabelle 3.1 Wichtige Messparameter der unterschiedlichen Versuche und Probenmaterialien.	45
Tabelle 3.2 Eingesetzten Chemikalien und Mengen zur Markierung der Agarose.	49
Tabelle 4.1 Gelierungstemperaturen des reinen Agarosesystems und der Mischsysteme mit Alginat bzw. Xanthan mit dem jeweiligen Zuckerzusatz.	90
Tabelle 4.2 Gemessener Wassergehalt der verschieden konzentrierten Zuckerlösungen für Saccharose und Trehalose.	93

Abkürzungsverzeichnis

a	Mark-Houwink-Exponent
CLSM	Confocal Laser Scanning Microscopy
CMC	Carboxymethyl Cellulose
c	Konzentration [mol/l, % w/w, % w/v]
c^*	kritische Konzentration
DSC	Differential Scanning Calorimetry
5-DTAF	5-(4,6-Dichlorotriazinyl)aminofluorescein
δ	Phasenverschiebung [°]
E	Young Modul [Pa]
ε	Deformation [dimensionslos]
$\dot{\varepsilon}$	Deformationsrate [1/s]
G	Schermodul [Pa]
G'	Speichermodul, elastischer Modul [Pa]
G''	Verlustmodul, viskoser Modul [Pa]
γ	Scherung, <i>strain</i> [dimensionslos]
$\dot{\gamma}$	Scherrate, <i>strain rate</i> [1/s]
k	Mark-Houwink-Konstante
LBG	<i>Locust Bean Gum</i> , Johannisbrotkernmehl
LVE	Linear viskoelastischer Bereich
λ	Wellenlänge [nm]
λ_{ab}	Absorptionswellenlänge [nm]
λ_{em}	Emissionswellenlänge [nm]
M	Molare Masse [g/mol]
η	Viskosität [Pas]
$[\eta]$	Intrinsische Viskosität [ml/g]
η^*	komplexe Viskosität [Pas]
η_0	Nullscherviskosität [Pas]

η_{red}	Reduzierte Viskosität [Pas]
η_{spe}	Spezifische Viskosität [Pas]
n_h^η	Hydratisierungszahl [dimensionslos]
PP	Polypropylen
REM	Rasterelektronenmikroskop
SEM	Scanning Electron Microscopy
σ	Spannung [Pa]
$\tan \delta$	G''/G'
T_{gel}	Gelierungstemperatur, Gelpunkt [°C]
T_m	Schmelztemperatur, Schmelzpunkt [°C]
T_{onset}	Temperatur des Beginns des Schmelzprozesses [°C]
T_{peak}	Schmelzpunkt [°C]
τ	Scherspannung, <i>stress</i> [Pa]
XRD	X-Ray Diffraction

1 Einleitung

Im täglichen Leben werden Hydrokolloide in den unterschiedlichsten Anwendungsbereichen eingesetzt und finden besonders in der Pharmazie und Lebensmittelindustrie Verwendung. Dabei werden sie hauptsächlich als Zusatzstoffe um verdickende und gelierende Eigenschaften zu fördern, bei gemischt. Als Verdickungsmittel werden Hydrokolloide beispielsweise Suppen, Saucen, Salatdressings oder Getränken zugesetzt; als Gelierungsmittel finden sie Anwendung in Marmeladen, Gelees, Fruchtgummis oder zuckerfreien und kalorienarmen Lebensmitteln. Hydrokolloide bestehen aus langkettigen Polymeren (Polysaccharide, Proteine) und können beim Dispergieren in Wasser viskose Dispersionen und/oder Gele ausbilden. Der Grund für das ausgedehnte Anwendungsspektrum der Hydrokolloide in der Lebensmittelindustrie liegt in ihrer Fähigkeit die Rheologie und Textur vieler Nahrungsmittel zu modifizieren. Die gezielte und steuerbare Beeinflussung der Textur und/oder der Viskosität hilft bei der Verbesserung der sensorischen Eigenschaften, besonders bei der Optimierung des Mundgefühls. Aufgrund dieser wichtigen Rolle beim Anpassen vieler Eigenschaften von Lebensmitteln, wurden bereits zahlreiche wissenschaftliche Studien über die Optimierung der Hydrokolloidanwendung in verschiedensten Systemen durchgeführt. Typische Hydrokolloide, die eine Anwendung als Verdickungsmittel besitzen, sind Stärke, Xanthan, Guarkernmehl, Johannisbrotkernmehl oder Cellulosederivate; typische Gelierungsmittel sind Alginat, Pektin, Karrageen, Gelatine, Gellan oder Agar.

In dieser Arbeit wurde Agarose, der gelierende Bestandteil des Agars und aus einer Rotalgenform gewonnen, als typisches Gelierungsmittel studiert. Natriumalginat, gewonnen aus einer Braunalge, wurde hier als typisches Verdickungsmittel eingesetzt und Xanthan, durch bakterielle Fermentation aus Stärke gewonnen, als stark thixotropes Verdickungsmittel. Agarose zeichnet sich durch die Bildung eines dreidimensionalen Netzwerks beim Abkühlen einer wässrigen Lösung aus. Alginat stellt ein hochmolekulares flexibles Polymer dar und liegt als Natriumsalz der Alginsäure vor. Xanthan ist ein negativ geladenes, ebenfalls hochmolekulares Polymer aus steifen und stäbchenförmigen Molekülen. Die Kombination beider Hydrokolloide verspricht daher eine Vielzahl von Möglichkeiten, vor allem wegen der gegensätzlichen physikalischen Struktur (flexibel, steif) und den Wechselwirkungen (polar, geladen).

Agarose stellt in der heutigen Zeit eine vegetarische Alternative zu der in der Regel verwendeten Gelatine dar. Die Agarosegele sind hitzestabiler, elastischer, zeigen jedoch starke Trübungen und sind stark synäreseanfällig. Durch den Zusatz anderer Hydrokolloide können die viskoelastischen Eigenschaften, sowie die Textur und das Mundgefühl der Agarosegele sensorisch positiv verändert werden. Auch der Zusatz von niedermole-

kularen Co-Soluten, wie Saccharide, beeinflusst nicht nur die Süße der Gele, sondern auch deren physikalische Eigenschaften. Nicht-gelierende Hydrokolloide, wie Xanthan oder Guarkernmehl, werden schon oft in der Lebensmittelindustrie mit gelierenden Hydrokolloiden, wie Karrageene oder Agar, um bessere Eigenschaften zu gewinnen, kombiniert.

Um das Gelverhalten von Agarose zu studieren werden in dieser Arbeit Mischungen mit Xanthan und Alginat primär über rheologische Messungen untersucht. Eine rheologische Charakterisierung von Hydrokolloidsystemen ist sehr hilfreich um strukturelle Merkmale und somit sensorische Eigenschaften und die damit verbundene Verbraucherakzeptanz zu erforschen. Darüber hinaus wird das Wasserbindungsvermögen der Hydrokolloidsysteme durch ein definiertes Trocknen, Netzwerkstrukturen durch konfokale Mikroskopie und Rasterelektronenmikroskopie, sowie thermische Eigenschaften durch kalorimetrische Messmethoden analysiert. Dabei werden mögliche Modellvorstellungen über die Gelbildung der Agarose, in Verbindung mit einem Hydrokolloid aus flexiblen Polymerketten und mit einem Hydrokolloid aus starren stäbchenförmigen Polymerketten, gewonnen. Zudem wird in allen Systemen der Einfluss von Zucker, Saccharose und Trehalose, auf die physikalischen Eigenschaften untersucht. In vielen Lebensmitteln, wie in Süßwaren, Backwaren oder Confiserieprodukten, liegen oft sehr hohe Zuckerkonzentrationen vor und können Veränderungen in der Physik der zugesetzten Hydrokolloide verursachen. Es wird gezeigt, dass schon bei kleineren Zuckerkonzentrationen Veränderungen in den Messergebnissen zu sehen sind und daraus mögliche Rückschlüsse auf das Eingreifen der Zuckermoleküle in die Struktur der Hydrokolloidsysteme gemacht werden können.

2 Theoretischer Hintergrund

In dem folgenden Einführungskapitel werden zunächst der theoretische Hintergrund dieser Diplomarbeit dargestellt und schon zum Teil wichtige Ergebnisse auf diesem Forschungsgebiet präsentiert.

2.1 Hydrokolloide als Gelierungs- und Verdickungsmittel

Hydrokolloide haben eine große Anwendung in der Lebensmittelindustrie unter anderem zur Verbesserung der Materialeigenschaften und der Haltbarkeitsdauer. Unter Hydrokolloiden kann man eine heterogene Gruppe aus langen Polymerketten, Polysacchariden und Proteinen verstehen, die es zur Eigenschaft haben viskose Dispersionen und/oder Gele zu bilden, sobald sie in Wasser dispergiert werden (SAHA & BHATTACHARYA, 2010). Durch ihre große Anzahl an Hydroxylgruppen haben diese Hydrokolloide eine große Affinität Wassermoleküle zu binden. Neben diesem hydrophilen Charakter weisen sie jedoch durch ihre –CH Gruppen auch geringfügig hydrophobe Eigenschaften auf (RINAUDO, 2008). Der Ausdruck „Hydrokolloid“ entstammt somit der Fähigkeit durch hydrophile Eigenschaften eine wässrige Dispersion zu bilden, die eine Verbindung aus Lösung und Suspension darstellt.

Diese wasserlöslichen Polysaccharide haben auf Grund ihrer verdickenden, gelierenden, stabilisierenden und emulgierenden Eigenschaften eine große und weitreichende Anwendung in der Lebensmittelindustrie. Die Hauptanwendung der Hydrokolloide ist jedoch die der Verdickungs- und Gelierungsmittel in der Lebensmittelindustrie. Obwohl alle Hydrokolloide verdicken und wässrigen Dispersionen eine gewisse Viskosität verleihen, haben nur wenige Biopolymere auch noch die Fähigkeit Gele zu bilden. Diese Gelbildung basiert auf der Verbindung bzw. Vernetzung der Polymerketten zu dreidimensionalen Netzwerken (SAHA & BHATTACHARYA, 2010).

2.1.1 Verdickungsmittel

Hydrokolloide wie Stärke, Xanthan, Guarkernmehl oder Carboxymethyl Cellulose finden hauptsächlich Anwendung als Verdickungsmittel. Der Verdickungseffekt ist stark von dem verwendeten Hydrokolloid, der Konzentration, dem pH-Wert und der Temperatur abhängig. Die verdickende Wirkung beruht auf der Eigenschaft von ungeordneten Polymerketten über nicht-spezifische Verschlaufungen miteinander Wechsel zu wirken (WHISTLER, 1993). In verdünnten Dispersionen können sich die einzelnen Polysaccharidmoleküle frei bewegen und beeinflussen sich nicht gegenseitig. Erhöht sich nun die Konzentration der Hydrokolloide treten die Moleküle immer weiter in Kontakt und die

Bewegung der Moleküle wird immer weiter beschränkt. Die langen Polymerketten liegen nicht mehr frei in der Dispersion vor, sondern verhaken sich. Die verdickte Dispersion kann also als eine Art Netzwerk aus Verschlaufungen von Polymerketten angesehen werden (SAHA & BHATTACHARYA, 2010). Verdickung findet also nur über einer kritischen Konzentration c^* (Überlappungskonzentration) an Hydrokolloid statt. Unter dieser kritischen Konzentration zeigt die Polymerdispersion newtonsches Fließverhalten und darüber nicht-newtonsches (siehe Kapitel 3.3.1).

In der nachfolgenden Tabelle sind einige Verdickungsmittel, deren Eigenschaften und Anwendungen in der Lebensmittelindustrie dargestellt:

Tabelle 2.1 Beispiele von Hydrokolloiden als Verdickungsmittel.

Hydrokolloid	Eigenschaften	Anwendung in der Lebensmittelindustrie
Xanthan (SWORN, 2009)	Netzwerk aus verhakten stäbchenförmigen Molekülen, in Lösung hoch negativ geladen, stark scherverdünnend, im weiten Bereich temperatur- und pH-Wert unabhängig	Salatdressings und Saucen, Back- und Patisserieprodukte, Diätprodukte (Desserts), Instantprodukte, Getränke
Carboxymethyl Cellulose (CMC) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2008)	Synthese durch Umsetzung von Cellulose mit Alkalimetallen und Chloressigsäure, pH-abhängige Löslichkeit und Viskosität	Gelees, Pasteten und Streichkäsen, Zuckerwaren und Backwaren
Guarkernmehl (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2008)	Hochviskos, scherverdünnend, pH-Wert und temperaturabhängige Viskosität	Salatdressings, Eiscreme, Ketchup, Fruchtsäfte
Konjak Glucomannan (THOMAS, 1997)	Hochviskose Dispersionen, Gelierung mit monovalenten Kationen	Hartweizenprodukte, Tofu, Dessertgelees

2.1.2 Gele und Gelierungsmittel

Ein Gel zeichnet sich durch flüssige und feste Eigenschaften aus. Die Eigenschaften einer Flüssigkeit resultieren aus der Tatsache, dass es sich bei dem Hauptbestandteil um Wasser (>80%) handelt; das Verhalten eines Feststoffes basiert auf einem Netzwerk mit

begrenztem elastischen Modul (KATSUYOSHI NISHINARI & TAKAHASHI, 2003). Sie bestehen aus vernetzten Polymerketten in einem wässrigen Medium. Hydrokolloide bilden Gele durch die physikalische Anlagerung von Polymerketten durch Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophobe Wechselwirkungen oder werden durch Kationen vermittelt. Man unterscheidet die physikalischen Gele auf Polysaccharid-Basis deutlich von den chemischen Gelen, bei denen es sich in der Regel um gequollene Netzwerke aus kovalent gebundenen Homo- oder Copolymeren handelt (K. NISHINARI, ZHANG, & IKEDA, 2000).

Nachfolgend sind einige Hydrokolloide aufgelistet, die die Fähigkeit haben Gele zu bilden:

Tabelle 2.2 Beispiele von Hydrokolloiden als Gelierungsmittel.

Hydrokolloid	Eigenschaften	Anwendung in der Lebensmittelindustrie
Agar (IMESON, 2009)	Thermoreversibel, nur in kochendem Wasser löslich, $T_{gel} = 30-40\text{ °C}$, Gelierung ab 0,2%, $T_m = 80-90\text{ °C}$	Fruchtgummis und Gelees, Kuchenglasuren, Diätprodukte, Suppen und Saucen, Joghurt und Cremes
Alginat (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009)	Dispersion: Scherverdünnend, Gel: Gelierung durch bivalente Kationen, hitzestabil, Synärese anfällig	Verdickungsmittel in kalten Dessertcremes und Suppen, Gelbildner in Tierfutter, Diätprodukten, Verkapselung
κ-Karrageen und ι-Karrageen (BLAKEMORE & HARPELL, 2009)	Thermoreversibel, κ -Karrageen bildet mit anderen Polymannosen starke und feste Gele, ι -Karrageen bildet weiche und elastische Gele	Press- und Dosenfleisch, Dessertgelees, Glasurmassen
Gelatine (STEVENS, 2009)	Hydrokolloid auf Collagenbasis, gute Wasserlöslichkeit und hohe Wasserbindung, Gelierung ab 0,8%, $T_{gel} = 20-29\text{ °C}$, $T_m = 25-35\text{ °C}$	Süßwaren, Diätprodukte, Joghurt, Creme und Mousse, Fleischemulsionen und –aspiks

Für die Gelierung von Hydrokolloiden wurden drei verschiedenen Mechanismen vorgestellt (BUREY, BHANDARI, HOWES, & GIDLEY, 2008). Die ionische Gelbildung findet durch die Verknüpfung der Polymerketten durch Ionen statt. Typischerweise werden dabei negativ geladenen Polymerketten durch Kationen vernetzt, wie es beim Alginat,

Karrageen oder Pektin der Fall ist (siehe Kapitel 2.3). Werden Hydrokolloidpulver in heißem oder kochendem Wasser zu einer Dispersion gelöst, aus der beim Abkühlen ein festes Gel resultiert, spricht man von einem *cold-set* Gel. Beispiele hierfür sind Gelatine oder Agar (siehe Kapitel 2.2). Zuletzt gibt es noch die sogenannten *heat-set* Gele, die zur Gelbildung Wärme benötigen. Dieser Mechanismus beruht auf der Entfaltung bzw. Expansion von nativer Stärke oder Proteinen und deren Umordnung zu dreidimensionalen Netzwerken. Konjak Glucomannan, Stärke oder Methyl-Cellulose gelieren nach diesem Mechanismus (SAHA & BHATTACHARYA, 2010).

Die Gelbildung beruht auf der Anlagerung von zufällig dispergierten Polymersegmenten zu einem dreidimensionalen Netzwerk, welches in seinen Zwischenräumen das Lösungsmittel einschließt. Die Knotenpunkte (*engl. junction zones*) können von zwei oder mehreren Polymerketten gebildet werden und nach und nach wird ein dreidimensionales Netzwerk aufgebaut. Es gibt verschiedene Arten von diesen Verknüpfungspunkten in Hydrokolloidgelen. Zum Beispiel findet man in Karrageen gestapelte Doppel-Helices oder Trippel-Helices in Gelatine, die zu einer Verknüpfungszone aggregieren. In Gelen aus Alginat und Pektin bilden sich die Verknüpfungszonen durch den Zusatz an bivalenten Kationen im sogenannten *egg-box*-Modell (siehe Kapitel 2.3). (V. J. MORRIS, 2007). Je länger diese Verknüpfungspunkte ausfallen, bzw. je mehr intermolekulare Bindungen ausgebildet werden, desto stabiler ist das intermolekulare Netzwerk. Der Hauptteil der dabei wirkenden Kräfte wird durch Wasserstoffbrückenbindungen gebildet. Die Festigkeit des Gels hängt von der Stärke der intermolekularen Bindungen an den Knotenpunkten ab. Sind die Bindungen schwach, bricht das Gel schon bei geringer Beanspruchung und man bezeichnet das schwache Gel als thixotrop. Das heißt bei einer Scherung besitzen die aufgebrachtten Kräfte genügend Energie um die meisten Verknüpfungen des Netzwerks wieder aufzubrechen und eine Dispersion mit herabgesetzter Viskosität resultiert. Wird die Scherung jedoch wieder unterbrochen, können die Polymerketten wieder kollidieren und die Verknüpfungspunkte und das Gel werden regeneriert. Besitzen die Verknüpfungen jedoch eine hohe Stärke, weisen die gebildeten Gele eine hohe Stabilität auf und zerbrechen oder zerreißen unter zu hoher Beanspruchung und könnten erst durch Zufuhr von Energie in Form von Hitze zurückgebildet werden. (WHISTLER, 1993).

Für die Gelierung ist die Bildung der Knotenpunkte also essentiell (SAHA & BHATTACHARYA, 2010). Die mechanischen und thermischen Eigenschaften eines gebildeten Gels hängen von der Anzahl der gebildeten Verknüpfungen der dort vorhandenen Moleküle und der Flexibilität der dazwischen liegenden Segmente ab.

2.1.3 Physikalische Betrachtung der Gelbildung

Aufgrund der großen Variation in der chemischen Primärstruktur zeigen Polysaccharide enorme Unterschiede in ihrem Lösungsverhalten. Die chemische Struktur bestimmt die

Form der Moleküle und deren Verhalten in wässriger Lösung, sowie in der kondensierten festen Phase. Lineare Polymerketten verursachen zum Beispiel eine viel größere Viskositätszunahme als verzweigte Polymere (WHISTLER, 1993). Die lösungsverdickende Wirkung von Polysacchariden basiert auf der Wechselwirkung der ungeordneten Polymerketten via Verschlaufungen; die feste Gelstruktur resultiert jedoch aus permanenten Ketten-Ketten Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol- oder ionischen Wechselwirkungen. Bedeutend werden diese Wechselwirkungen durch den kooperativen Effekt, d.h. einzeln betrachtet handelt es sich bei diesen Wechselwirkungen um sehr schwache Kräfte, wirken sie jedoch simultan in großer Zahl können sie eine geordnete Polymerstruktur verursachen. Diese kooperative Stabilisierung fördert die Anlagerung und Wechselwirkung von Segmenten von zwei oder mehreren Polymerketten. Die Verknüpfungszonen sind durch Segmente getrennt, die nicht zu einer geordneten Anlagerung fähig sind. Das Verhältnis aus geordneten und ungeordneten Polysaccharidketten bestimmt die Eigenschaften der Hydrokolloidgele.

Die Assoziation der Polymerketten kann auf unterschiedliche Weisen geschehen. In einer Polymerlösung wirken unterschiedliche Wechselwirkungen, bei denen immer die Polymer-Polymer-Wechselwirkungen mit denen zwischen Polymer-Solvens konkurrieren. Kommt es entsprechend zu einer Reduktion der Wasseraktivität in der Lösung, vergrößern sich die intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Polymerketten. So eine Wasserreduktion kann durch die Zugaben von niedermolekularen Molekülen wie beispielsweise Zucker verursacht werden. Die Zuckermoleküle binden die Wassermoleküle an sich, es bildet sich eine Hydrathülle und die Polymer-Polymer Wechselwirkung steigt. Liegen geladene Polymerketten in Lösung vor, kann eine Reduktion der intermolekularen Repulsion, zum Beispiel durch eine pH-Wert Senkung oder den Zusatz von Elektrolyten, ebenfalls die Wechselwirkung zwischen den Polymerketten steigern.

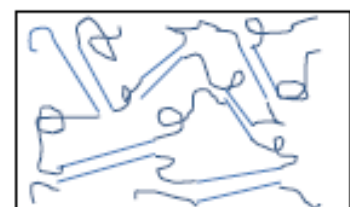
Man unterscheidet drei verschiedene Wechselwirkungen zwischen Polysaccharid-Polymerketten (WHISTLER, 1993).



Durchdringung von flexiblen Knäulen



Schwache Assoziation von starren Stäbchen



Intermolekulare tertiäre Struktur

Abbildung 2.1 Unterschiedliche Polymer-Polymer Wechselwirkungen in Polysaccharid-Systemen.

Handelt es sich bei den Polysacchariden um flexible Polymerketten, liegen diese als willkürlich verteilte Knäuel in der Lösung vor, können sich gegenseitig durchdringen und bilden Verschlaufungen aus. Ungeladene stäbchenförmige und starre Polymere können sich parallelisieren und bilden schwache Assoziationen aus. Zusätzlich können Polymerketten tertiäre Strukturen wie Helices oder Bänder ausbilden und darüber intermolekulare Wechselwirkungen zu benachbarten Polymerketten ausbilden. Solche Verknüpfungspunkte aus Aggregaten von ausgedehnten und geordneten Konformationen können zur Gelbildung führen. Beispiele sind die Kation vermittelte Gelierung von Alginate oder die Ausbildung von Doppel- oder Dreifach-Helices bei Karrageenen.

In Lösung verhalten sich die gelierenden Polysaccharide wie starre Knäuel. Die Steifigkeit und das eingenommene Volumen in Lösung der Polymerknäuel hängen von deren chemischen Struktur ab. Steigt die Polymerkonzentration in der Lösung fangen die Polymervolumina immer mehr an sich zu überlagern und die Polymerketten dringen ineinander ein und bilden ein dreidimensionales Netzwerk. (V. J. MORRIS, 2007). Während diesem Sol-Gel Übergang nehmen die willkürlich verteilten Polymerknäuel eine immer mehr geordnete Konformation ein. Diese geordneten Strukturen können aggregieren und bilden ein kontinuierliches Netzwerk, in dessen Zwischenräumen das Lösungsmittel eingeschlossen wird.

Eine Besonderheit der Hydrokolloidgele zeigt sich beim Erwärmen der zuvor verfestigten Gele. Hat sich beim Abkühlen der Lösung ein Gel gebildet, schmilzt dieses meist erst bei einer höheren Temperatur als die des Gelpunkts. Man spricht hier von der thermischen Hysterese bei der Sol-Gel-Umwandlung (BANERJI & GHOSH, 1930). Die bei der Gelierung entstandenen geordneten Verknüpfungszonen benötigen zum Wiederlösen eine größere Energie als die, die bei der Aggregation frei wurde. Dementsprechend findet der Übergang zum Sol erst bei höheren Temperaturen statt.

Eine weitere wichtige Eigenschaft vieler Hydrogele ist die Fähigkeit zur Synärese. Darunter versteht man die spontane Phasentrennung eines Zweiphasen-Systems, d.h. im Fall der Hydrogele eine Trennung des Wassers aus der Netzwerkstruktur. Einmal gefestigte Gele können durch Streckung oder Dehnung entlang ihrer Verknüpfungszonen gezogen werden. Dabei rutschen die Moleküle übereinander und es resultiert eine Verlängerung der Verknüpfungszonen. Dadurch wird das gesamte Netzwerk gestreckt und der von Wasser ausgefüllte Zwischenraum verkleinert sich. Dementsprechend tritt Wasser aus und man spricht von Synärese (WHISTLER, 1993). Die dabei zugeführte Energie kann aber auch in Form von Wärme solch einen Wasserverlust verursachen.

2.2 Agarose

Agar ist ein hydrophiles Kolloid, wird aus der roten Meeresalge vom Typ *Rhodophyceae* extrahiert und schon seit vielen Jahren in der Lebensmittelindustrie als

Gelierung-, Verdickungs- und Stabilisierungsmittel eingesetzt (IMESON, 2009). Agar besteht aus zwei Hauptkomponenten, der Agarose, ein neutrales Polymer und dem Agaropectin, ein anionisches Polymer mit Sulfatgruppen. Beide Polysaccharide sind polydispers. Als mittlere Molekulargewichte (\overline{M}_w) konnten Werte zwischen 80.000 und 140.000 g/mol und eine Polydispersität



Abbildung 2.2 1% w/w Agarosegel, angefärbt mit Hagebuttentee.

kleiner als 1,7 gefunden werden (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006). Agarose ist dabei das Hauptgelierungsmittel des Agars und wurde ausschließlich in der vorliegenden Arbeit betrachtet. Agarose ist unlöslich in kaltem Wasser und bildet im siedenden Wasser eine klare Lösung, die beim Abkühlen ein leicht trübes Gel bildet.

2.2.1 Chemische und physikalische Eigenschaften

Agarose liegt als ein lineares Polymer aus alternierenden (1-3)-verknüpften Agarobioseeinheiten von β -D-Galaktopyranose über (1-4)-verknüpften 3,6-anhydro- α -L-Galaktopyranose vor:

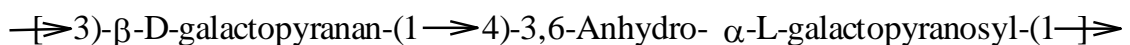
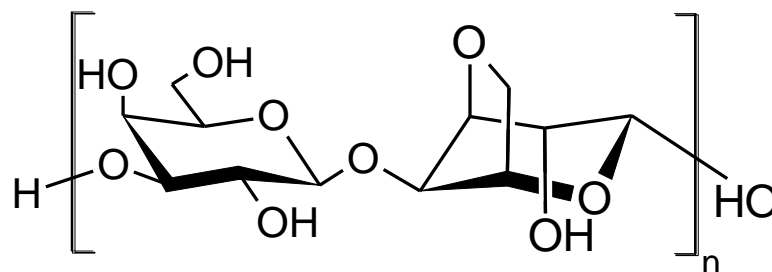


Abbildung 2.3 Chemische Struktur der Agarose.

Je nach Extraktion und Quelle der Agarose bzw. des Agars können die sich wiederholenden Einheiten unterschiedliche Substituenten tragen. Sulfat-, Pyruvat- oder O-

Methylgruppen unterbrechen dabei die einheitliche Agarosekette (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

Bei Raumtemperatur ist Agarose unlöslich in Wasser und kann erst bei Temperaturen über 80 °C dispergiert werden. Die Viskosität von Agarosedispersionen hängt stark von dem Rohmaterial und den Präparationsmethoden ab. Allgemein ist diese stark von der Polysaccharidkonzentration abhängig und ist im Vergleich zu anderen Hydrokolloiden hier sehr gering. STANLEY begründet diese Tatsache in *Food Polysaccharides and their application* (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006) mit dem Fehlen an geladenen Gruppen. Dies resultiert in weniger hydrophilen Molekülen mit flexiblen und wenig aufgeweiteten Polymerketten, die einen geringen Fließwiderstand aufweisen. Bei 45 °C zeigt die Viskosität solcher Dispersionen im pH-Bereich von 4,5 bis 9 keine Veränderung und auch ionische Einflüsse oder Alterung haben keinen Einfluss. (WHISTLER, 1993).

Agarose Gele zeigen eine außerordentlich große thermische Hysterese, da der Gelpunkt sehr weit vom Schmelzpunkt liegt. Agarosegele haben eine Gelierungstemperatur (T_{gel}) von 35-40 °C und eine Schmelztemperatur (T_m) zwischen 75 und 95 °C und stellen beide eine Funktion von Konzentration und Molekulargewicht dar. Der Hysteresebereich reicht also von 40 bis 60 °C; für κ -Karrageen und ι -Karrageen liegt der Bereich gerade mal bei 15-27 °C bzw. bei 2-5 °C (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006). Die Festigkeit von Gelen wird gewöhnlich als Druckkraft definiert, die das Gel zum Brechen bringt. In *Industrial Gums* behaupten SELBY und WHISTLER, dass Agarosegele bei 25 °C nach acht Stunden eine Festigkeitszunahme von 1% pro Stunde zeigen, die Festigkeit weiter ansteigt bis sie nach 15 Stunden vollständige Stabilität erreichen. Außerdem gehen sie von einer mizellaren Struktur in den Gelen aus, die eher energieelastisches Verhalten als entropieelastisches¹ zeigen. Agarosegele haben eine große Tendenz zur Synärese und verlieren beim Altern Wasser. Das Ausmaß dieses Wasserverlustes hängt von der Konzentration, Gelfestigkeit und Kompressionsdruck ab (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

2.2.2 Mechanismus der Gelbildung

Polysaccharide zeigen oft in ihrer Sekundärstruktur Helices oder Bänder. In tertiären oder höheren Strukturen können diese zu Arrangements wie Doppelhelices, Helixaggregaten oder Bändern angeordnet werden (REES & WELSH, 1977). Entropisch ist es

¹ Energieelastisches Verhalten: Polymere, bei denen unter Krafteinwirkung eine Dehnung erfolgt, die bis zu Werten von 1-2% reversibel ist.

Entropieelastisches Verhalten: Bei Krafteinwirkung erfolgt eine Dehnung, die bis zu sehr hohen Werten (50-100%) reversibel ist.

Viskoelastisches Verhalten: Polymere, die unter plötzlicher Krafteinwirkung elastisch reagieren und unter längerer Einwirkung irreversibel verformt werden. (TIEKE, 2012)

in allen Polymersystemen günstiger einen ungeordneten Zustand aus willkürlich verteilten Polymerknäueln einzunehmen. Bevor also eine geordnete Form eingenommen werden kann, muss dieser Entropieverlust überwunden werden. In Polysaccharidsystemen kann dies durch bestimmte Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol- oder ionische Wechselwirkungen oder Lösungsvorgänge geschehen. Diese können aber nur kooperativ wirken, d.h. es benötigt der Anordnung und Wechselwirkung von zwei oder mehreren Kettensegmenten mit regelmäßig kovalenten Sequenzen (REES & WELSH, 1977). Diese regelmäßigen Sequenzen werden oft durch Regionen mit Verzweigungen oder anderer Monomeranordnung unterbrochen und sind nicht zur Assoziation fähig. Durch diese Unterbrechungen baut sich ein dreidimensionales Netzwerk bzw. eine Gelstruktur auf, indem einzelne Polymerketten verschiedene Zonen von Kettenassoziationen durchlaufen können.

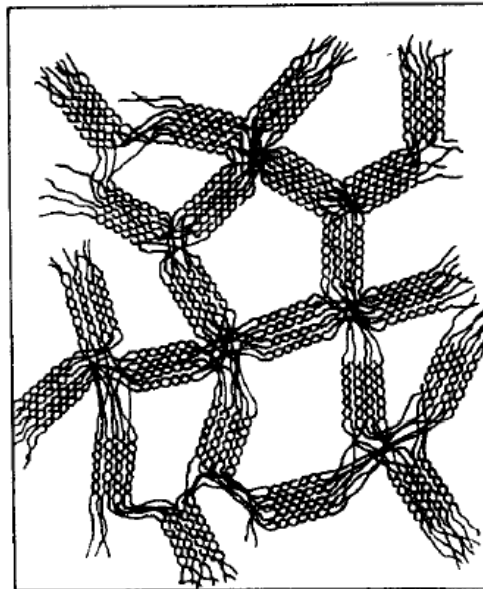


Abbildung 2.4 Agarosenetzwerk aus geordneten und ungeordneten Regionen. Einzelne Polymerketten durchlaufen abwechselnd geordnete und ungeordnete Bereiche im Netzwerk (ARNOTT, FULMER, SCOTT, DEA, MOORHOUSE, & REES, 1974).

Die Unterbrechungen bestimmen die Dichte und Verteilung der Verknüpfungszonen und dadurch die Hydratation und Porenstruktur der Gele (REES & WELSH, 1977).

ARNOTT ET AL. (ARNOTT, FULMER, SCOTT, DEA, MOORHOUSE, & REES, 1974) führten 1974 Röntgendiffraktometrie (XRD), optische Rotationsmessungen und Modellsimulationen unter anderem an Agarosegelen durch und konnten so Aufklärungen zu deren molekularen Struktur gewinnen. Die Agarosegele werden durch eine doppelte Helixkonformation gebildet, in der die einzelnen Polysaccharidketten eine linksgängige Helixsymmetrie einnehmen.

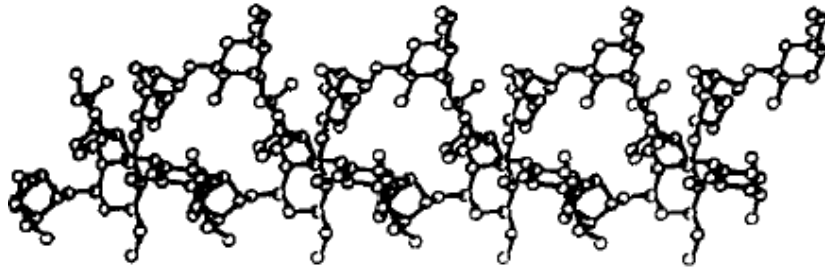


Abbildung 2.5 Agarose Doppelhelix, Ansicht senkrecht zur Helixachse (ARNOTT, FULMER, SCOTT, DEA, MOORHOUSE, & REES, 1974).

In flüssiger Phase bei Temperaturen nahe dem Siedepunkt von Wasser, nehmen die Agarosemoleküle eine willkürliche Knäuelkonformation ein und liegen homogen in der gesamten Lösung verteilt vor (LABROPOULOS, NIESZ, DANFORTH, & KEVREKIDIS, 2002). Um diese entropisch-günstige Lage auf zu geben sind die einzelnen Polysaccharidketten gezwungen sich mit anderen Ketten durch Wasserstoffbrückenbindungen zu kombinieren, um diesen Entropieverlust durch einen Gewinn an Enthalpie zu kompensieren.

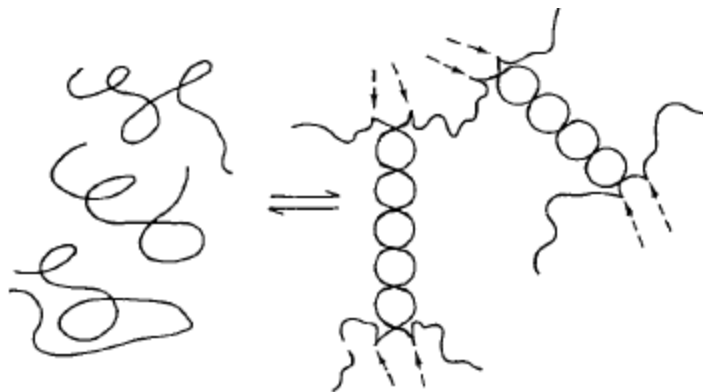


Abbildung 2.6 Model der molekularen Basis der Gelbildung. Die entropisch günstigen Polymerknäuel lagern sich durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu Doppelhelices an (REES & WELSH, 1977).

Wird die Lösung nun abgekühlt findet der Prozess des Gelierens statt. In der Gelphase aggregieren die Doppelhelices zu den Verknüpfungszonen und bilden durch die ungeordneten Unterbrechungen ein dreidimensionales Netzwerk.

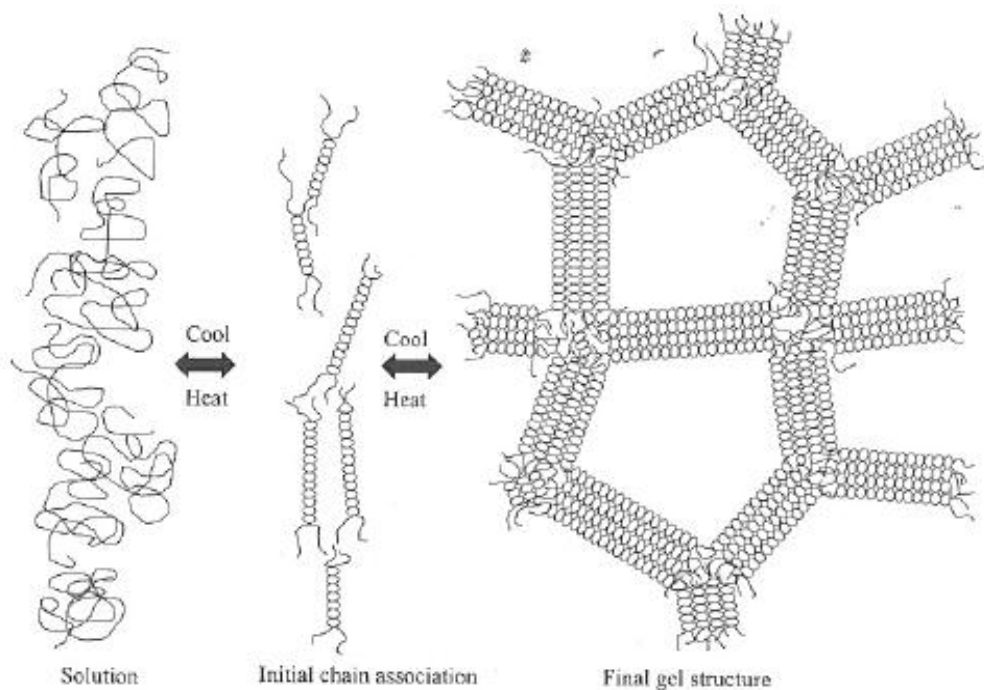


Abbildung 2.7 Gelierungsmechanismus der Agarose. Willkürlich verteilte Polymerknäuel assoziieren beim Abkühlen zunächst zu Helices, die beim weiteren Abkühlen zu einem Netzwerk aggregieren (IMESON, 2009).

ARNOTT ET AL. (ARNOTT, FULMER, SCOTT, DEA, MOORHOUSE, & REES, 1974) argumentierten, dass die Zwischenräume des Netzwerkes groß genug seien um Wassermoleküle einzuschließen. Die nach außenzeigenden Hydroxylgruppen der Agarobiose-Einheiten können mit Wassermolekülen oder mit benachbarten Helices über Wasserstoffbrückenbindungen wechselwirken. Es entstehen Aggregate höherer Ordnung die von LABROPOULOS ET AL. (LABROPOULOS, NIESZ, DANFORTH, & KEVREKIDIS, 2002) *suprafibers* bezeichnet werden. Unterschiedliche Substituenten in der Primärstruktur können aus sterischen Gründen die Bildungen der Doppelhelices stören, bilden die Unterbrechungen der *suprafibers* und können nur als Verschlaufungen der Polymerketten vorliegen.

2.2.3 Anwendungen

Die Hauptanwendung von Agarose bzw. Agar liegt aufgrund der charakteristisch festen Textur, der hohen Hitzestabilität und der großen Säuretoleranz der Gele in der Lebensmittelindustrie.

R. ARMISEN stellte in *Thickening and Gelling agents for food* (IMESON, 1997) die wichtigsten Eigenschaften der Agargele zur Anwendung im Lebensmittelbereich zusammen. Dazu zählt die geringe Konzentration an Agar, die es benötigt um ein Gel auszubilden;

die Grenzkonzentration liegt hier bei 0,2%. Des Weiteren sind die große Hysterese zwischen der Gel- und Schmelztemperatur der Gele von großem Vorteil, sowie die hohe Hitzebeständigkeit und Thermoreversibilität. Flüssigkeiten können so bei 40 °C gehalten werden ohne zu gelieren und feste Produkte können bis auf 80 °C erwärmt werden ohne zu schmelzen. Die Beständigkeit im sauren Milieu ermöglicht den Einsatz von Agargelen in Fruchteprodukten. Diese und viele weitere Eigenschaften, die von ARMISEN noch weiter ausgeführt werden ermöglichen ein weites Anwendungsspektrum von Agar in der Lebensmittelindustrie. Beispielsweise wird es in wasserbasierenden Gelen aller Art genutzt, wie Marmeladen, Götterspeisen, Aspik aus Fleisch und Fisch oder künstlichen Kaviar. In der Konditorei findet es Anwendung in Bonbons, Nougat oder Fruchtgummis und in Glasuren verschiedenster Backwaren.

2.3 Alginat

Alginat werden aus der Braunalge von Typ *Phaeophyceae* extrahiert. Produziert werden sie als verschiedenen Salze, wobei das Natriumalginat die größte industrielle Anwendung hat und auch in dieser Arbeit ausschließlich verwendet wurde.

Na-Alginat ist in kaltem oder heißem Wasser löslich und bildet viskose Lösungen. Durch den Zusatz von Calciumionen können Gele erhalten werden, die hitzebeständig und scherirreversibel sind. Aufgrund der guten Wasserbindung, der gelierungs-, viskositätserhöhenden und stabilisierenden Wirkung haben Alginat eine große industrielle Anwendung. In der Lebensmittelindustrie stellt Alginat sogar eins der meist verwendeten Hydrokolloide dar (IMESON, 1997). Alginat sind hochmolekulare Polymere mit steifen und flexiblen Sektionen. Es handelt sich um Salze der Alginsäure mit einem Polymerisationsgrad von 100-3000 und Molekulargewichte zwischen 20.000 und 600.000 g/mol (IMESON, 1997).

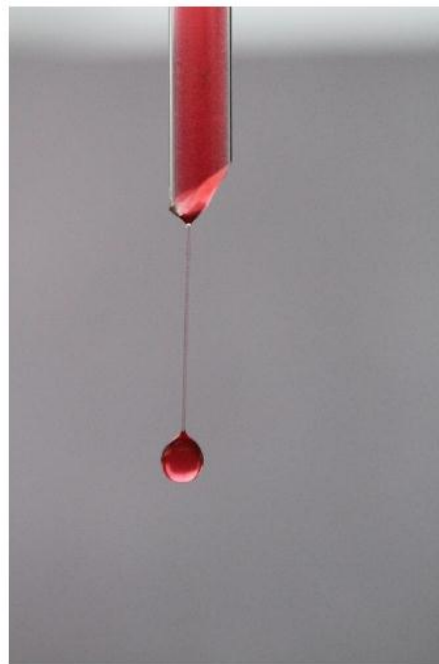


Abbildung 2.8 1% w/w Na-Alginatlösung, angefärbt mit Hagebuttentee.

2.3.1 Chemische Eigenschaften

Bei den Alginaten handelt es sich um Salze der Alginsäure, die ein Block-Co-Polymer aus den Monomeren β -D-Mannuronsäure (M) und α -L-Guluronsäure (G) bildet. Die beiden monomeren Einheiten sind über eine 1,4-glykosidische Bindung zu linearen Ketten gebunden. Je nach Herkunft und Quelle der Alginsäure variiert die Komposition aus beiden Monomeren. Es konnte gezeigt werden, dass diese M- und G-Einheiten entweder in homopolymeren M- (MMMMMM) bzw. G-Blöcken (GGGGGG) in der Polymerkette vorliegen oder heteropolymere alternierende Blöcke (MGMGMG) ausbilden (IMESON, 1997). Das Verhältnis aus Mannuronsäure und Guluronsäure, sowie deren Anordnung in der Kette bestimmen die Gelierungseigenschaften der Alginat. Alginat mit hohem G-Blockanteil bilden Gele mit großer Festigkeit, hingegen Alginat mit hohem M-Anteil zeigen eine geringere Festigkeit aber eine bessere Beständigkeit gegenüber Synärese (WHISTLER, 1993).

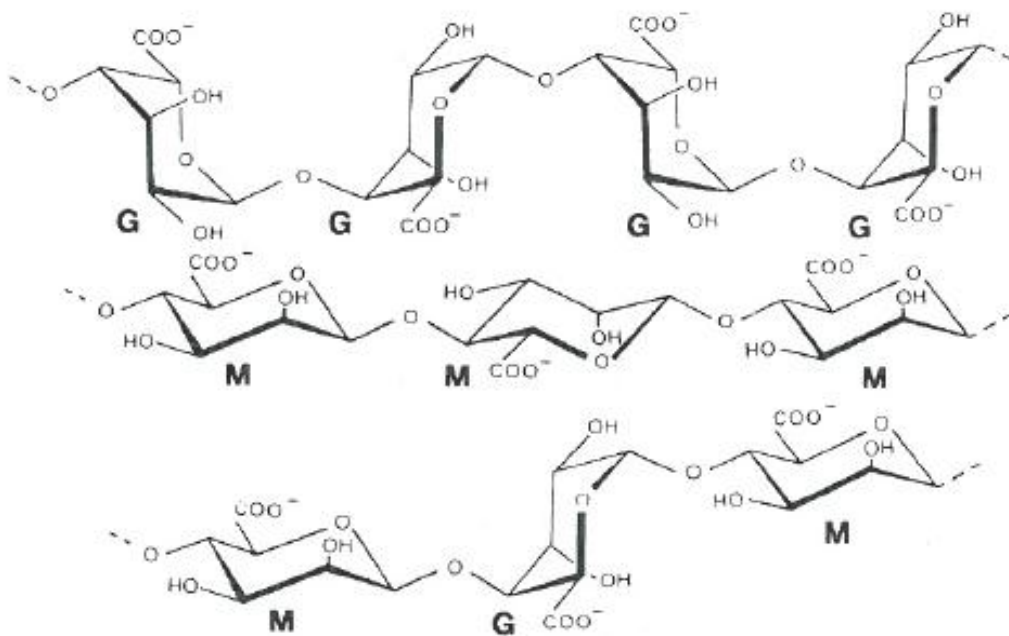


Abbildung 2.9 Chemische Struktur des Alginats. Oben: Sequenz aus Guluronsäuremolekülen, Mitte: Block aus Mannuronsäuremolekülen und Unten: alternierende Anordnung von Mannuronsäure- und Guluronsäuremolekülen. Je nach Blocktyp bilden sich unterschiedliche Konformationen aus. In den G-Blockregionen ist das Polymer eher geknickt und steif, in den M-Blockregionen hat das Polymer eine flexible und bandartige Struktur und in den MG-Blöcken besitzt das Polymer eine mittlere Steifheit. (IMESON, 1997).

Aufgrund der unterschiedlichen geometrischen Anordnungen der Monomere in den verschiedenen Sequenzen kann ein G-Block eher als geknicktes und steifes Polymer angesehen werden und ein M-Block eher als flexible Bandstruktur.

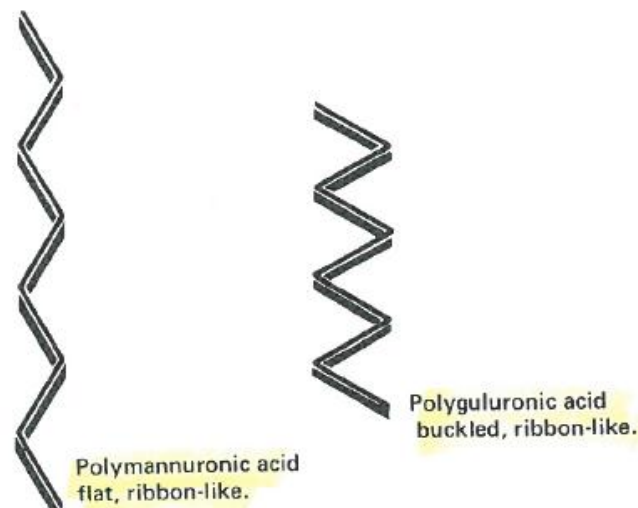


Abbildung 2.10 Schematische Darstellung der Konformation von Polymannuronsäure und Polyguluronsäure. Jedes ebenes Segment repräsentiert eine Zuckereinheit. (WHISTLER, 1993).

2.3.2 Alginatlösungen und Gele

Wasserlösliche Salze der Alginsäure hydratisieren bei der Zugabe zu Wasser und bilden viskose Lösungen. Der Viskositätsanstieg wird durch eine zunehmende Dissoziation der Carboxylgruppen und der dadurch zunehmenden elektrostatischen Abstoßung der ionischen Gruppen entlang der Polymerketten verursacht (TIEKE, 2012). Die zuvor geknäuelten Ketten gehen immer mehr in eine gestreckte Stäbchenform über und die innere Reibung der Lösung vergrößert sich. Der Viskositätsanstieg wird durch die Länge der Alginatketten und durch das Molekulargewicht der Moleküle bestimmt. Die Mark-Houwink Gleichung (Gleichung 2.1) verdeutlicht die Abhängigkeit der intrinsischen Viskosität $[\eta]$ von dem Molekulargewicht, mit dem mittlerem Molekulargewicht M , der Mark-Houwink Konstante K und dem Exponenten a . Die Konstante K beschreibt dabei die Wechselwirkungen zwischen Polymer und Lösungsmittel und der Exponent die Geometrie der Polymerketten in der Lösung.

$$[\eta] = K \cdot M^a \quad (2.1)$$

Die intrinsische Viskosität stellt eine Stoffkonstante dar und kann anschaulich als das Volumen angesehen werden, das die Polymerknäuel von einem Gramm gelöstes Polymer in einer unendlich verdünnten Lösung ausfüllen. $[\eta]$ gibt also an wie die Lösungsmittelviskosität η_0 durch die Konzentration c der gelösten Partikel beeinflusst wird. Die intrinsische Viskosität kann als Grenzfall der reduzierten Viskosität η_{red} bei unendlich verdünnten Lösungen angesehen werden und beschreibt das hydrodynamische Volumen pro Gramm Polymer:

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta(c) - \eta_0}{c \cdot \eta_0} = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{spec}}{c} = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red} \quad (2.2)$$

$$[\eta] = 2,5 \frac{\varphi}{c} \quad (2.3)$$

Gleichung 2.3, mit φ als Volumenbruch der gelösten Teilchen, erhält man durch das Einstein Gesetz, welches die Viskosität von Dispersionen bzw. Lösungen aus festen kugelförmigen Partikeln beschreibt.

Aufgrund der langen und steifen Polymerketten verhalten sich Alginatlösungen scherverdünnend oder pseudoplastisch. Ab einer kritischen Molmasse, was beim Alginat erfüllt ist, verknäulen sich die Polymerketten und im unbewegtem Zustand kommt es aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung zum ständigen Lösen und Neubilden der Verschlaufungen bis sich ein Gleichgewicht und eine konstante Verknäulungsdichte einstellt. Bei kleinen Scherraten lösen sich die Verschlaufungen, aber bilden sich sofort wieder neu. Bei dieser Nullscherviskosität zeigen die Lösungen eine konstante Viskosität. Bei großen Scherraten bleibt keine Zeit mehr zur Neubildung der Verschlaufungen, die Polymerketten gleiten voneinander ab und die Lösung verdünnt sich. Das heißt die Dichte der Verknäulungen fällt mit wachsender Scherrate ab. Man spricht auch von scherinduzierter Deformation. ONSØYEN führt den Effekt der Scherverdünnung in *Thickening and Gelling Agents for Food* (IMESON, 1997) auf eine scherinduzierte Neuorientierung der Alginatmoleküle zurück. Bei kleinen Scherraten seien diese willkürlich in der Lösung verteilt ohne gegenseitige Beeinflussung. Wird die Scherrate erhöht bilden die Moleküle eine parallele Anordnung und der Fließwiderstand wird herabgesetzt.

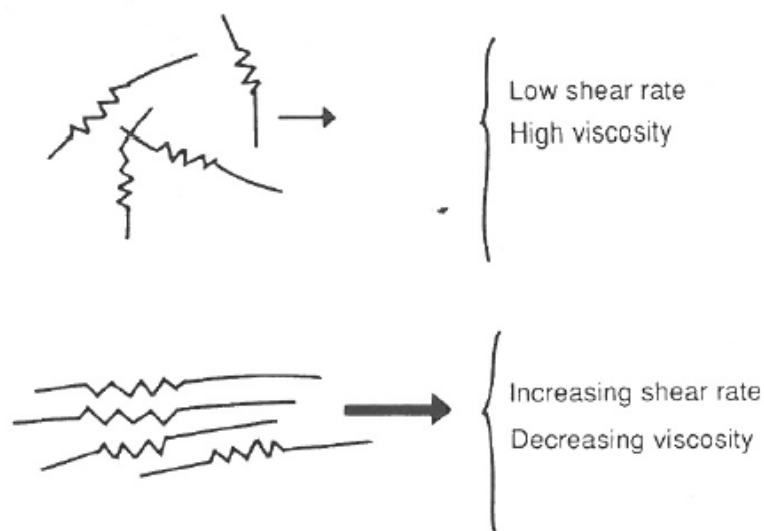


Abbildung 2.11 Scherinduzierte Neuorientierung der Polymerketten des Alginats. Durch eine parallele Anordnung wird der Fließwiderstand herabgesetzt und die Viskosität der Lösung nimmt mit wachsender Scherrate ab. (IMESON, 1997).

Eine besondere Eigenschaft der homopolymeren Blockstruktur in den Alginatketten ist die Fähigkeit feste Gele mit bivalenten Kationen auszubilden. Diese sind hitzebeständig und bilden sich bei Raumtemperatur aus. Voraussetzung der Gelbildung ist ein hoher Anteil an homopolymeren Guluronsäureblöcken. Die Verknüpfungszonen in einem Netzwerk aus Alginatmolekülen werden durch bivalente Kationen, in der Regel Calciumionen vermittelt. Dabei kommt es zu einer physikalischen Verknüpfung zwischen zwei Guluronsäurekettensegmenten und den Ca^{2+} -Ionen. Durch die sterische Anordnung zweier dissoziierter Guluronsäuremoleküle können sich Chelate ausbilden.

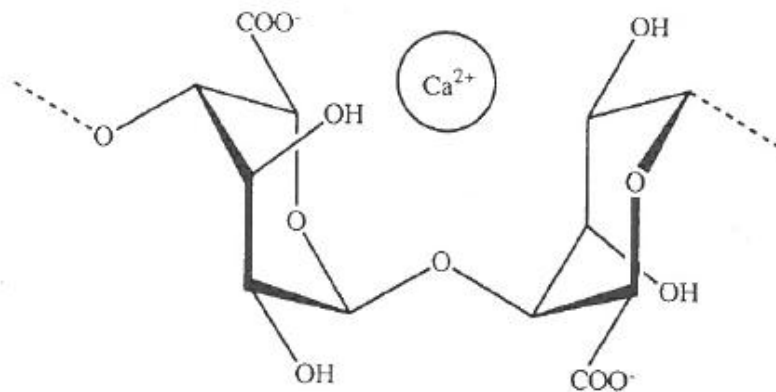


Abbildung 2.12 Positionierung der Ca^{2+} -Ionen zwischen einem Dimer aus Guluronsäuremolekülen. Durch die sterische Anordnung der Guluronsäuremoleküle innerhalb der Polymerkette können sich Chelate bilden. (IMESON, 1997).

Die homopolymeren Blöcke aus Mannuronsäure sowie die alternierenden Sequenzen tragen nicht zu solchen Verknüpfungszonen bei und bilden elastische Kettensegmente in dem Netzwerk (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009). Die Wechselwirkung zwischen den Polymerketten des Alginats und der Calciumionen werden durch das sogenannte *egg-box* Modell beschrieben (GRANT, MORRIS, REES, SMITH, & THOM, 1973).

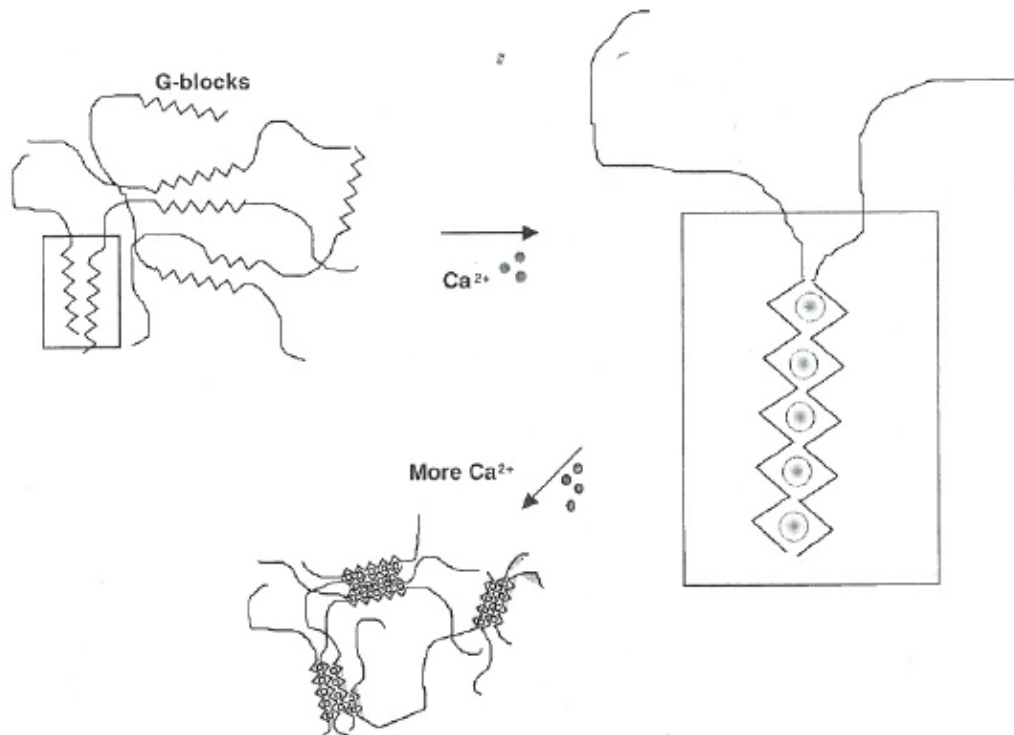


Abbildung 2.13 *Egg-box*-Modell der Gelierung von Alginat mit Ca^{2+} -Kationen. Calciumionen lagern sich zwischen zwei Polymerketten an und bewirken über elektrostatische Wechselwirkungen eine Assoziation der Ketten. Durch die Anlagerung weiterer Schichten entstehen so die Verknüpfungszonen und ein dreidimensionales Netzwerk kann sich ausbilden. (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009).

Die Calciumionen induzieren hierbei eine intermolekulare Assoziation der Polymerketten und damit die Bildung der Verknüpfungszonen des Netzwerkes. Bivalente Kationen begünstigen die Paarbildung zweier Polymerketten und die Bildung stabiler Verknüpfungszonen.

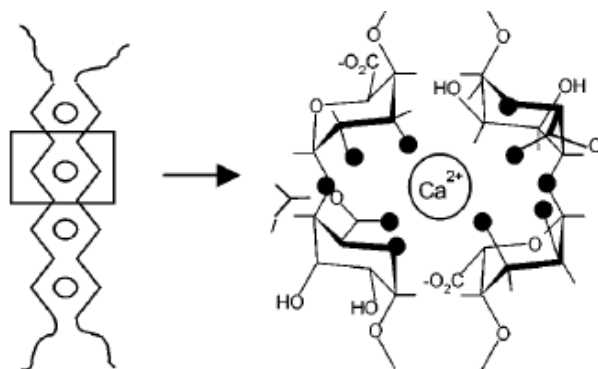


Abbildung 2.14 Schematische Chelatisierung der Ca^{2+} -Kationen. Die schwarzen Punkte symbolisieren O-Atome (BRACCINI & PÉREZ, 2001).

Zwei Paare von zwei aufeinanderfolgenden G-Einheiten, wobei jedes Paar zu unterschiedlichen Polymerketten gehört, werden durch die Koordination des Kations zusammengehalten (SIKORSKI, MO, SKJÅK-BRÆK, & STOKKE, 2007). Die Polymerketten nehmen eine Zickzack-Struktur ein, in dessen Lücken sich die Calciumionen einlagern können.

Die Fähigkeit zur Gelbildung und dessen Festigkeit hängt also stark mit dem Ausmaß an Verknüpfungszonen und somit mit dem Anteil an G-Blöcken zusammen. HELGERUD ET AL. (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009) betrachten die Gelbildung auch als eine Art Ionenaustausch-Reaktion. Während dem Sol-Gel Übergang wird das Gegenion des Alginats, Na^+ , aufgrund geringerer Affinität zu den Alginatmolekülen durch Ca^{2+} -Ionen ausgetauscht.

Nach der Gelbildung im wässrigen Medium sind die Wassermoleküle von dem Alginatnetzwerk eingeschlossen, aber weiterhin befähigt durch Diffusion sich frei zu bewegen (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009). Auch Alginatgele sind deshalb stark synäreseanfällig und können durch leichte Kontraktionen des Netzwerkes Wasser absondern. Auch hier hängt der Grad an Wasserbindungsfähigkeit von dem Guluronsäureanteil ab.

2.3.3 Anwendungen

Wie schon erwähnt können Alginat die Viskosität von wässrigen Lösungen erhöhen oder durch den Zusatz von Calcium Gele bilden. In der industriellen Anwendung ist es jedoch schwierig eine genaue Trennung dieser Eigenschaften zu erkennen (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009), da weitere Zusatzstoffe beeinflussend wirken. Wichtiges Beispiel der verdickenden Wirkung des Alginats ist der Einsatz in Saucen und Dessertcremes.

Wasserlösliche Alginat können aber auch als Stabilisatoren in Öl-in-Wasser Emulsionen dienen. In Salatdressings, Eiscreme oder Fruchtsäften wirkt Alginat als Stabilisator. Durch die Viskositätserhöhung der wässrigen Phase und durch die Bildung eines geladenen Oberflächenfilms werden die einzelnen Partikel gezwungen sich gegenseitig abzustößeln und Koaleszenz oder Phasenseparation wird verhindert (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009). Die erste Anwendung von Alginaten in der Lebensmittelindustrie fand in Eiscremes statt. Hier vermindert es die Bildung von Eiskristallen und bewirkt eine cremige und sanfte Textur (HELGERUD, GÅSERØD, FJÆREIDE, ANDERSEN, & LARSEN, 2009). Eine synergistische Gelierung zwischen guluronsäureerhöhten Alginat und hoch veresterten Pektin wird in Marmeladen, Gelees oder Fruchtfüllungen eingesetzt. Dieses Alginat/Pektin System bildet thermoreversible Gele, deren Eigenschaften unabhängig von hohen Zuckerzusätzen sind. Im Vergleich sind die reinen

Alginatele nicht thermoreversibel und die reinen Pektinglele zeigen eine große Beeinflussung durch hohe Zuckerzusätze (MOE, DRAGET, SKJÅK-BRÆK, & SMIDSRØD, 1995).

2.4 Xanthan

Xanthan ist ein hochmolekulares Heteropolysaccharid, gewonnen durch die Fermentation mit Hilfe des Bakteriums *Xanthomonas campestris* (URLACHER & NOBLE, 1997).

Gelöst in kaltem Wasser bildet Xanthan hochviskose Lösungen mit pseudoplastischem Verhalten. Dadurch entstehen Suspensionen, die bei kleinen Scherraten haften und bei großen anfangen zu fließen (SWORN, 2009). Xanthan stellt neben Gellan das meist verwendete bakteriell erzeugte Polysaccharid in der Lebensmittelindustrie dar. Molekular besteht Xanthan aus einem celluloseartigen Rückgrat mit geladenen Seitenketten. Diese Seitenketten sorgen für eine exzellente Stabilität in einem weiten pH-Bereich und gegenüber hohen Salzkonzentrationen. Das starre Rückgrat gewährt die Viskosität auch bei hohen Temperaturen (SWORN, 2009).



Abbildung 2.15 1% w/w Xanthan, angefärbt mit Hagebuttentee.

2.4.1 Chemische Struktur

Die Primärstruktur von Xanthan besteht aus einem Cellulose ähnelndem Rückgrat aus β -(1,4) verknüpften D-Glukoseeinheiten, die alternierend eine Trisaccharid-Seitenkette tragen. Diese Seitenketten bestehen aus zwei Mannoseeinheiten, getrennt durch ein Glucuronsäure-Molekül. Das terminierende Mannosemolekül der Seitenketten trägt in der Regel als Rest R' eine Pyruvatgruppe und die eingeschlossene Mannose erhält für R eine Acetylgruppe (SWORN, 2009).

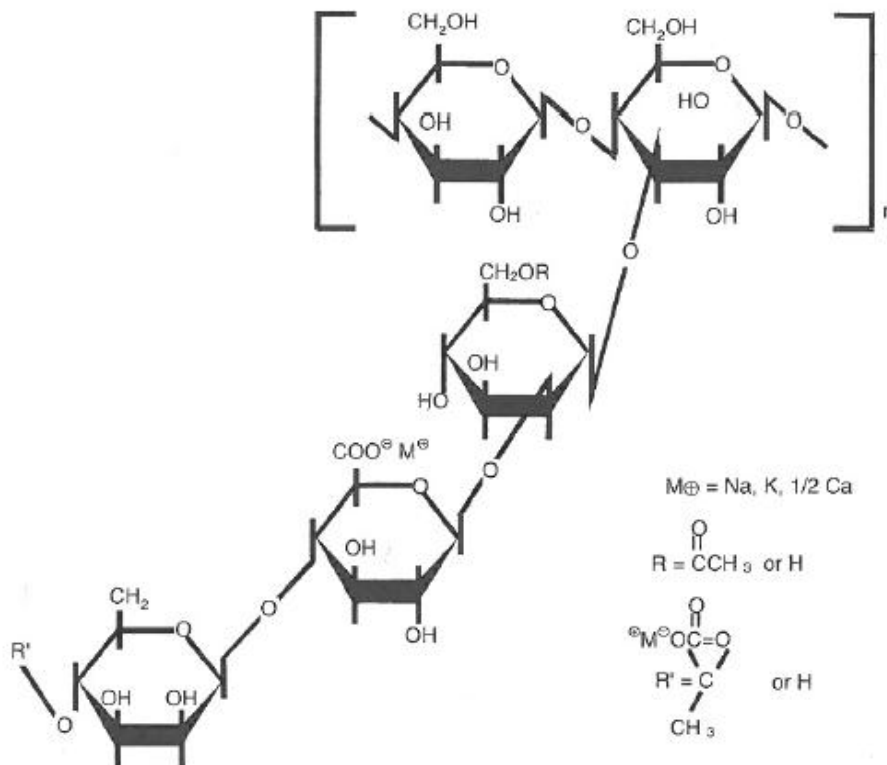


Abbildung 2.16 Chemische Struktur des Xanthans. (SWORN, 2009).

Durch die Glucuronsäure und die damit verbundene Carboxylgruppe erhält die Seitengruppe einen anionischen Charakter. Das mittlere Molekulargewicht von Xanthan beträgt etwa 2.500.000 g/mol und die Polydispersität ist vergleichsweise gering (SWORN, 2009). 1977 studierten MOORHOUSE ET AL. (MOORHOUSE, WALKINSHAW M, & ARNOTT, 1977) über Röntgendiffraktometrie die Sekundärstruktur von Xanthan in orientierten Fasern und identifizierten eine Helixkonformation, bei der die Seitenketten die Hauptkette über Wasserstoffbrückenbindungen stabilisieren. Ob sich hier jedoch eine Einfach- oder Doppelhelix ausbildet konnte noch nicht sicher bewiesen werden (WHISTLER, 1993).

2.4.2 Physikalische Eigenschaften in Lösung

Xanthan unterläuft in Lösung einen Konformationsübergang in Abhängigkeit von der Temperatur und Ionenstärke. Von einer starren geordneten Struktur geht Xanthan dabei in eine ungeordnete flexible Form über. Dieser Übergang von einer geordneten zu einer ungeordneten Struktur wurde hauptsächlich durch optische Rotationsmessungen, aber auch durch DSC-, Viskositäts-, Lichtstreuungs- und rheologische Messmethoden untersucht (MILAS & RINAUDO, 1979, 1986; E. R. MORRIS, REES, YOUNG, WALKINSHAW, & DARKE, 1977; NORTON, GOODALL, FRANGOU, MORRIS, & REES, 1984; PELLETIER,

VIEBKE, MEADOWS, & WILLIAMS, 2001). Wie schon unter Kapitel 2.2.2 angedeutet, ist solch eine geordnete Kettenkonformation nur möglich wenn der dabei entstehende Entropieverlust durch enthalpische Wechselwirkungen ausgeglichen wird. Solche Wechselwirkungen können Wasserstoffbrückenbindungen, dipolare oder elektrostatische Wechselwirkungen sein. Die geordnete Struktur ist jedoch nur über einer kritischen Sequenzlänge stabil. Zwischen den geordneten Strukturen liegen immer ungeordnete Enden vor, deren Entropieverlust nicht durch nicht-kovalente Wechselwirkungen kompensiert werden können. Deshalb muss der geordnete Teil immer eine gewisse Länge zur Stabilität erreichen. Dieser Übergang von einer ungeordneten entropisch-günstigen Struktur zur entropisch-ungünstigen kann deshalb als eine Art Wachstumsmechanismus, ausgehend von einem stabilen Helixkern und folgender Propagation angesehen werden. (NORTON, GOODALL, FRANGOU, MORRIS, & REES, 1984). Xanthan unterläuft einen thermisch induzierten Übergang von einer ungeordneten Kettenkonformation bei hohen Temperaturen und geringer Ionenstärke zu einer geordneten Konformation bei gemäßigten Temperaturen und hohen Salzkonzentrationen. Die geordnete Struktur besteht zunächst aus einzelnen Polymerketten, bei denen die Seitenketten sich zum Glucose-Rückgrat falten und die enthalpisch-günstigen Wechselwirkungen, wie zum Beispiel Wasserstoffbrückenbindungen, ausbilden. Da diese Seitenketten jedoch negativ geladen sind und in der geordneten Konformation sehr nah beieinander liegen, wird die Struktur durch repulsive Kräfte wieder destabilisiert. Eine genügend hohe Salzkonzentration verhindert diese Repulsion hingegen und die geordnete Konformation wird stabilisiert (E. R. MORRIS, REES, YOUNG, WALKINSHAW, & DARKE, 1977).

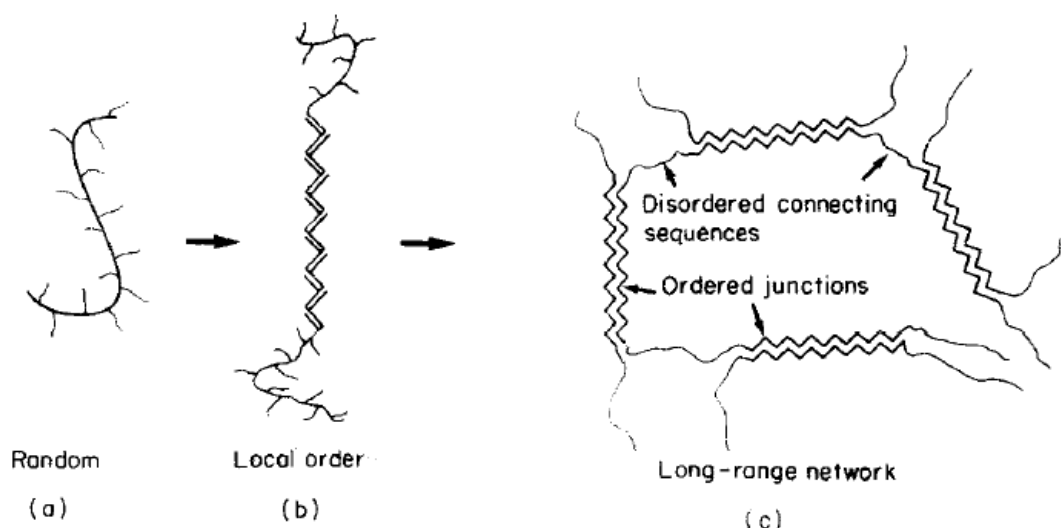


Abbildung 2.17 Übergang von (a) ungeordneter Konformation von Xanthan über (b) lokal geordneter Konformation zu (c) Aggregation von geordneten Kettensequenzen zu einem schwach gelartigem Netzwerk (NORTON, GOODALL, FRANGOU, MORRIS, & REES, 1984).

NORTON ET AL. implizierten durch ihre Messergebnisse, dass es sich bei dem Konformationsübergang nicht um einen vollständigen Umwandlungsprozess handelt, sondern geordnete und ungeordnete Strukturen in einer Polymerkette koexistieren können. Die Autoren behaupten, dass die gelartigen Eigenschaften von Xanthanlösungen durch eine Anlagerung von mehreren Kettensequenzen, analog zu den Verknüpfungszonen in einem richtigen Gel (siehe Agarosegele), verursacht werden. Diese Verknüpfungszonen im Xanthanetzwerk seien jedoch viel schwächer und können schon unter leichter Deformation gebrochen werden und die Lösung zum Fließen bringen.

Zusammengefasst kann Xanthan je nach Temperatur und Ionenstärke unterschiedliche Konformationen in Lösung einnehmen. Bei hohen Temperaturen und geringer Ionenstärke liegen die Xanthanmoleküle als willkürlich verteilte Knäuel in Lösung vor, also in ungeordneter Form. Durch Herabsetzen der Temperatur und durch Erhöhung der Salzkonzentration können die Xanthanmoleküle in eine geordnete Helixstruktur übergehen.

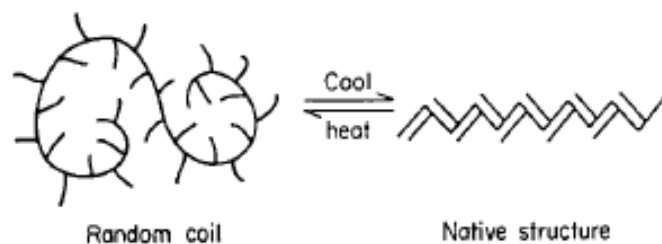


Abbildung 2.18 Knäuel-Helix bzw. ungeordnet-geordnet Übergang. Bei hohen Temperaturen und geringer Ionenstärke nehmen die Xanthanmoleküle eine ungeordnete Knäuelkonformation ein, bei geringen Temperaturen und hoher Ionenstärke wird die geordnete Helixstruktur stabilisiert (E. R. MORRIS, REES, YOUNG, WALKINSHAW, & DARKE, 1977).

Bei Lösungen aus Xanthan in deionisiertem Wasser mit Konzentrationen bis zu 0,3% findet dieser Konformationsübergang bei etwa 40 °C statt, bei Anwesenheit von geringen Salzkonzentrationen, wie es in vielen Lebensmittelprodukten der Fall ist, verschiebt sich diese Temperatur jedoch bis über 90 °C (SWORN, 2009). Durch dieses hochgeordnete Netzwerk aus verkeilten stäbchenförmigen Molekülen erhalten Lösungen aus Xanthan viskoelastische Eigenschaften eines schwachen Gels. Das heißt ihr elastischer Anteil ist höher als der viskose (detaillierte Erklärung folgt in 3.3.1). Man spricht aber nur von gelartigen Wechselwirkungen zwischen den Xanthanmolekülen, da diese nicht permanent und absolut scherreversibel sind (URLACHER & NOBLE, 1997). V.J. MORRIS behauptet in *Food Polysaccharides and their Applications* (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006) dass Xanthan aufgrund der geordneten Helixstruktur eins der steifsten natürlichen Biopolymere darstelle. Die Form der Xanthanmoleküle hänge von dem Molekulargewicht des Polysaccharids ab. Bei kleineren Molekulargewichten, wenn die

Konturlänge kleiner bzw. ähnlich zur Persistenzlänge des Polymers ist, verhalten sich die Moleküle wie Stäbchen und bei höheren wie steife Polymerknäuel.

Die viskositätssteigernde Eigenschaft des Xanthans wurden von NORDQVIST und VILGIS (Nordqvist & Vilgis, 2011; Vilgis, 2012) über ein einfaches Modell basierend auf der starren und geordneten Struktur des Xanthans erläutert. Zur Vereinfachung wird Xanthan hier als starres und hochgeladenes (in salzfreier Lösung) Polysaccharid mit stäbchenförmigen Molekülen angesehen. Die Annahme der steifen stäbchenförmigen Moleküle wird auch hier durch die negativ geladenen Seitenketten gerechtfertigt. Diese verursachen eine elektrostatische Abstoßung entlang der Polymerketten wodurch die Moleküle zur Helixbildung gezwungen werden und die Polymere eine gewisse Steifheit erhalten. Das gesamte Polymer wird also aus langen, geladenen und starren Polymerketten mit einem gewissen effektiven Volumen aufgebaut. Solange sich keine Kationen in der Lösung befinden, stoßen sich die Stäbchen aufgrund der Coulomb-Wechselwirkung ab. Zwei Stäbchen sind also nicht in der Lage sich zu parallelisieren und bei gemäßigten Konzentrationen wirkt Xanthan als Verdickungsmittel ohne besondere Eigenschaften. Wird jedoch eine gewisse kritische Konzentration c^* überschritten, stoßen sich die einzelnen Stäbchen immer stärker ab. Die kritische Konzentration c^* hängt hier stark von dem Molekulargewicht, der Länge und der effektiven Ladung der Moleküle ab. Durch die starke Abstoßung ist die gegenseitige Beeinflussung der Stäbchen so stark, dass sie sich nicht mehr frei in der Lösung bewegen können und einen Stillstand der Brown'schen Molekularbewegung verursachen (*engl. jamming transition*). Die Moleküle werden praktisch an einer willkürlichen Position, mit willkürlicher Orientierung „eingefroren“. Bei nicht geladenen Molekülen würde man hier von der Bildung von Flüssigkristallen sprechen. Die Bildung von flüssigkristallinen Phasen ist bei geladenen Polymeren jedoch nicht möglich, da in einer parallelen Orientierung die stärkste Repulsion statt fände und die Stäbchen nicht stabil zusammen gehalten werden könnten.

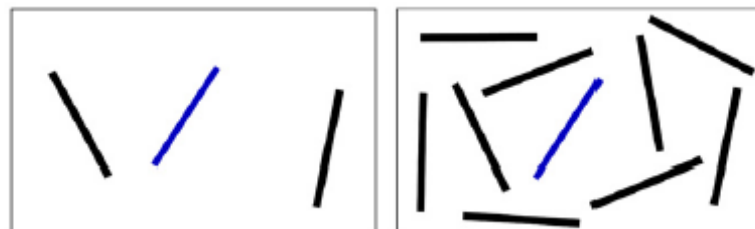


Abbildung 2.19 Bei geringer Konzentration (links) sind nur wenige geladenen Stäbchen in der Lösung vorhanden und sie können sich frei bewegen. Bei hohen Konzentrationen (rechts) wird die elektrostatische Abstoßung so hoch, dass sich die Stäbchen gegenseitig behindern und an willkürlichen Positionen und Orientierungen eingefroren werden (VILGIS, 2012).

Durch diese Immobilisierung der Stäbchen erhält die Lösung ihre hochviskosen Eigenschaften. Durch diese Anordnung wird ein Kompromiss aus Energieminimierung und Entropiemaximierung gefunden; auf der einen Seite können die Moleküle den größtmöglichen Abstand zwischen einander beibehalten, werden aber durch die wachsende Dichte zusammengehalten. Wichtig bei dieser Modellvorstellung ist die Tatsache, dass es sich bei dem Xanthan um lange stäbchenförmige Moleküle handelt und sehr hohe Molekulargewichte und Längen für solch einen verdickenden Prozess benötigt werden.

Wässrige Lösungen aus Xanthan zeigen scherverdünnendes bzw. pseudoplastisches Verhalten. Bei sehr kleinen Scherraten zeigen solche Lösungen newtonsches Verhalten, also eine konstante Nullscherviskosität η_0 . Mit steigender Scherrate nimmt die Viskosität der Lösung weiter ab bis schließlich bei sehr hohen Scherraten ein weiteres Plateau auftritt.

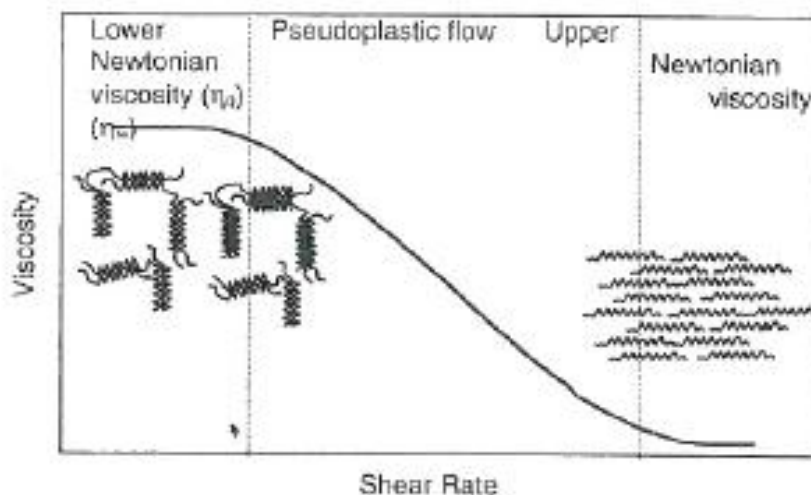


Abbildung 2.20 Molekulare Sicht des scherverdünnenden Verhaltens von Xanthan. Durch Erhöhung der Scherrate werden die Verschlaufungen zwischen den Polymerketten gelöst, die Polymerketten parallelisieren sich und der Fließwiderstand wird herabgesetzt. Die Viskosität der Lösung verringert sich mit wachsender Scherrate. (SWORN, 2009).

Dieses Fließverhalten kann einmal durch die vorher beschriebene netzwerkartige Assoziation der miteinander verhakten stäbchenförmigen Moleküle erklärt werden. Durch eine Scherung können diese Verschlaufungen gelöst werden. Bei sehr kleinen Scherraten ist die scherinduzierte Entwirrung der Verhakungen jedoch langsamer als die Neubildung von Verschlaufungen, so dass die Viskosität konstant bleibt. Bei erhöhter Scherrate kann das Gleichgewicht zwischen Neubilden und Lösen der Verschlaufungen nicht mehr aufrechterhalten werden, so dass das pseudoplastische Fließen resultiert. Bei sehr hohen Scherraten kann keine Zerstörung der Verschlaufungen mehr auftreten und die Viskosität nimmt wieder einen konstanten Wert ein. (SWORN, 2009).

Auch VILGIS (VILGIS, 2012) erklärt das scherverdünnende Verhalten des Xanthans mit seinem vorher beschriebenen Modell. Bei kleinen Scherraten werden die eingefrorenen Moleküle in ihrem *jamming* nicht gestört, da die aufgebrachte Energie durch die Scherung nicht ausreicht um die Energie der willkürlichen Immobilisierung zu überwinden. Die aufgebrachte Energie bei hohen Scherraten zwingt die Stäbchen zu einer mehr oder weniger parallelen Konformation, da sie größer ist als die elektrostatische Repulsionsenergie. Das Energiegleichgewicht wird aufgebrochen und die Moleküle können gegeneinander verschoben werden. Bei Wegnahme der Scherspannung nimmt die Repulsion wieder überhand und der eingefrorene Zustand wird zurückgebildet.

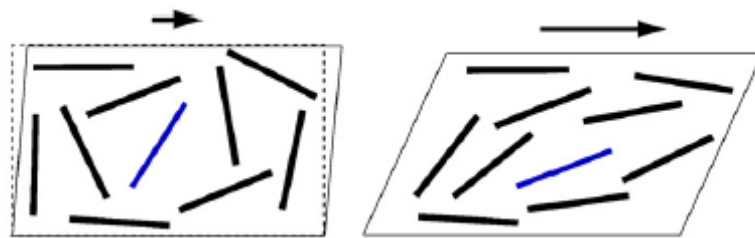


Abbildung 2.21 Hohe Scherraten sind fähig die stäbchenförmigen Moleküle aus ihrem eingefrorenen Zustand zu deformieren. Die Stäbchen ordnen sich parallel an und vermindern so den Fließwiderstand (VILGIS, 2012).

Neben dem pseudoplastischen Verhalten von Xanthanlösungen haben sie noch als besonderes Merkmal die hohe Stabilität gegenüber dem pH-Wert und der Temperatur. Im pH-Wertbereich zwischen 1 und 13 bleibt die Viskosität der Lösung weitgehend konstant. Über einem pH-Wert von 9 kann Xanthan zwar deacetyliert werden, was aber nicht die Viskosität beeinflusst. Auch in Abhängigkeit von der Temperatur kann keine große Beeinflussung der Viskosität beobachtet werden.

2.4.3 Anwendungen

Xanthanlösungen zeigen ein ganz besonderes Fließverhalten, wodurch sie eine gesonderte Anwendung in der Lebensmittelindustrie zugeschrieben bekommen. Hohe Viskosität bei kleiner Scherrate liefern exzellente stabilisierende Eigenschaften, während das pseudoplastische Verhalten ein gutes Mundgefühl und hervorragende Fließqualität sichert. Schon bei kleinen Konzentrationen kann eine sehr hohe Nullscherviskosität der Lösung verursacht werden und ein ausgeprägtes pseudoplastisches Verhalten bei lebensmittelrelevanten Scherraten verursacht werden. Im Vergleich zu anderen Hydrokolloiden stellt Xanthan daher ein äußerst effektives Verdickungs- und Stabilisierungsmittel dar.

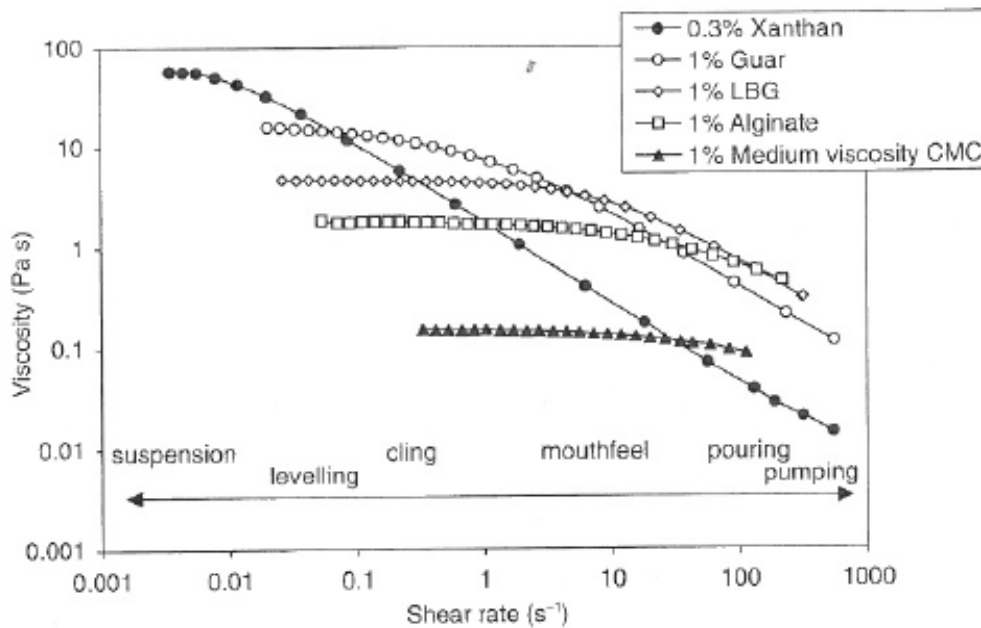


Abbildung 2.22 Vergleich des Fließverhaltens von Xanthan und anderen Hydrokolloiden. Xanthan erreicht auch nur mit einer Konzentration von 0,3% eine höhere Nullscherviskosität als die anderen Hydrokolloide mit einer Konzentration von 1%. Auch die Scherverdünnung wirkt sich beim Xanthan viel stärker aus. (SWORN, 2009).

In der Lebensmittelindustrie findet Xanthan hauptsächlich Anwendung in verschiedenen Dressings und Saucen zur Stabilisierung von Emulsionen und Suspensionen von Partikeln und Gewürzen. Auch in der Backwarenindustrie wird es verwendet um Früchte oder Schokoladenstücke bereits im Teig zu suspendieren oder um die Volumenzunahme von Kuchen zu verbessern. In Diätprodukten oder glutenfreien Nahrungsmitteln wird es oft in Kombination mit anderen Hydrokolloiden wie Stärke oder Karrageenen verwendet. Durch das schnelle Hydratisieren wird es auch bevorzugt in trockenen Instantprodukten eingesetzt. (SWORN, 2009).

2.5 Saccharose und Trehalose als Zusatzstoffe

Verdickungs- und Gelierungsmittel haben in der Lebensmittelindustrie oft eine große Anwendung in Produkten mit hohen Zuckergehalten, wie Desserts, Eiscremes oder Süßwaren. In solchen Produkten erreicht der Zuckergehalt oft sehr hohe Konzentrationen was enorme Einflüsse auf die physikalischen Eigenschaften der Verdickungs- und Gelierungsmittel haben kann. Bei den in dieser Arbeit untersuchten Co-Soluten handelt es sich um Saccharose und Trehalose, die im Folgenden zunächst etwas genauer vorgestellt werden sollen.

2.5.1 Saccharose, Trehalose und deren Wechselwirkung mit Wasser

Die untersuchten Disaccharide Saccharose und Trehalose sind beide nicht-reduzierende, thermisch und chemisch stabile Zucker, die eine große Anwendung in der Lebensmittelindustrie finden. Saccharose stellt dabei eins der meist studierten Moleküle der Lebensmittelchemiker dar und spielt eine wichtige Rolle als Zusatz- und Konservierungsstoff in vielen technologischen Prozessen (QUINTAS, BRANDÃO, SILVA, & CUNHA, 2006).

Saccharose ist ein Disaccharid aufgebaut aus den Monosacchariden Glukose und Fruktose, die über eine (1,2)- Verknüpfung glykosidisch miteinander verbunden sind.

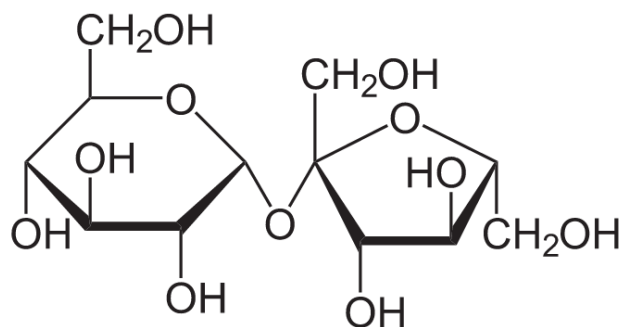


Abbildung 2.23 Chemische Struktur der Saccharose aus α -D-Glcp(1,2)-D-Fru. (Quelle: <http://en.wikipedia.org/wiki/Sucrose>)

Das Molekulargewicht liegt bei 342,30 g/mol und der Schmelzpunkt konnte bei 186 °C gemessen werden (GHARSALLAOUI, ROGÉ, & MATHLOUTHI, 2008).

Trehalose hingegen ist aus zwei Glukosemolekülen aufgebaut, die über eine (1,1)- Bindung miteinander verknüpft sind.

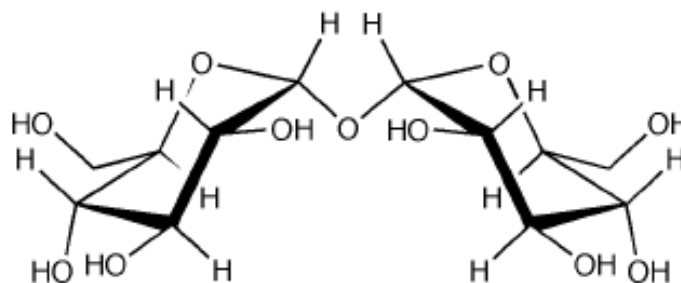


Abbildung 2.24 Chemische Struktur der Trehalose aus α -D-Glcp(1,1)- α -D-Glcp (ELBEIN, PAN, PASTUSZAK, & CARROLL, 2003).

Je nach Hydratisierungsgrad liegt das Molekulargewicht bei 342,30 g/mol für das Anhydrid und bei 378,33 g/mol für das Dihydrat und der Schmelzpunkt bei 100 °C für das Dihydrat und bei 215 °C für das Anhydrid. Saccharose und Trehalose Anhydrid besitzen also dieselbe chemische Formel aber unterschiedliche Strukturen.

Viele funktionelle Eigenschaften der Disaccharide rühren von solchen strukturellen Konformationen, wie der sterischen Umgebung der glykosidischen Bindung oder der lokalen Anordnung der Hydroxylgruppen, her. In verdünnten sowie konzentrierten Lösungen spielt die Faltung um die glykosidische Bindung und die Wasserstoffbrückenbindungen eine wichtige Rolle bei dem Verhalten der Disaccharide beim Lösen und in der Ausbildung von Viskosität. In einer Lösung aus Disacchariden herrschen drei verschiedenen Wechselwirkungen: die Wasser-Wasser-, Wasser-Zucker- und Zucker-Zucker-Wechselwirkung. Aufgrund des dipolaren Charakters des Wassers kann es mit den Hydroxylgruppen der Disaccharide wechselwirken und während des Hydratisierungsprozesses Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden. Die Löslichkeit von Mono- oder Disacchariden hängt unter anderem von der sterischen Anordnung dieser Hydroxylgruppen ab. Äquatorial angeordnete Gruppen werden besser hydratisiert als axiale. Benachbarte Hydroxylgruppen in der äquatorialen Ausrichtung nehmen einen ähnlichen O-O-Abstand wie der von Wassermolekülen ein und können sich so besser in die vorherrschenden Wasserstrukturen eingliedern. (GHARSALLAOUI, ROGÉ, & MATHLOUTHI, 2008). GHARSALLAOUI ET AL. führten Löslichkeitsuntersuchungen unter anderem an Saccharose und Trehalose durch und fanden heraus dass unter 80 °C Saccharose eine bessere Löslichkeit als Trehalose besitzt. Auch BRANCA ET AL. (BRANCA, MAGAZÙ, MAISANO, MIGLIARDO, MIGLIARDO, & ROMEO, 2001) konnten durch Viskositätsmessungen und Simulationen eine größere und stärkere Wechselwirkung zwischen Trehalose und Wasser feststellen. Sie berechneten unter anderem die Hydratisierungszahl n_h^η , also die Stoffmenge an gebundenen Wassermolekülen in der inneren Hydratations-sphäre pro Mol gelösten Stoff und fanden heraus, dass diese mit wachsender Temperatur abnimmt. Zudem konnte für das Trehalose/Wasser-System im Temperaturbereich von 10 bis 60 °C der größte Wert für die Hydratisierungszahl gefunden werden. Trehalose hat also im Vergleich zur Saccharose eine bessere Fähigkeit Wassermoleküle an sich zu binden. Das heißt also, dass in dem Trehalose/Wasser-System die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen viel ausgeprägter als in anderen Disaccharid/Wasser-Systemen ist.

Die Löslichkeit der Disaccharide ist stark temperaturabhängig. Die Arbeiten von LAMMERT ET AL., MILLER ET AL., GALMARINI ET AL. oder MEHL beschäftigen sich alle mit dem unterschiedlichen Lösungsverhalten von Trehalose bei verschiedenen Temperaturen (GALMARINI, BAEZA, SANCHEZ, ZAMORA, & CHIRIFE, 2011; GALMARINI, CHIRIFE, ZAMORA, & PÉREZ, 2008; LAMMERT, SCHMIDT, & DAY, 1998; MEHL, 1997; MILLER, DE PABLO, & CORTI, 1997). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei Raumtemperatur

bereits eine gesättigte Lösung von Trehalose in Wasser bei einem Gewichtsprozent von 46,6% w/w vorliegt. Bei Saccharose wird die Löslichkeitsgrenze vergleichsweise erst bei 67,5% w/w bei 25 °C erreicht (ROSENPLENTER & NÖHLE, 2007).

2.5.2 Einfluss des Zuckers auf die physikalischen Eigenschaften der Hydrokolloide

Aufgrund der starken Wasserbindungsfähigkeit haben mitgelöste Zucker einen sehr großen Einfluss auf das Gelierungs- und Verdickungsverhalten von Hydrokolloiden. Das Beimischen von Zuckern kann zum Beispiel die Gelstärke eines Systems erhöhen. Diese konkurrieren mit den Hydrokolloiden um Wasser und verursachen so eine effektive Erhöhung der Hydrokolloidkonzentration.

Mehrere Studien haben bereits den Einfluss von verschiedenen Zuckern auf die Netzwerkbildung von Agarose und der daraus resultierenden Änderung der mechanischen und thermischen Eigenschaften untersucht. WATASE ET AL. (M. WATASE, KOHYAMA, & NISHINARI, 1992; M. WATASE, NISHINARI, CLARK, & ROSS-MURPHY, 1989; MINEO WATASE, NISHINARI, WILLIAMS, & PHILLIPS, 1990) haben zum Beispiel ausführliche Untersuchungen der thermischen Eigenschaften von Agarosegelen unter dem Einfluss von verschiedenen Co-Soluten durch DSC-Messungen vorgenommen. Sie fanden heraus, dass sich T_m und T_{gel} mit wachsender Zuckerkonzentration zu höheren Werten verschieben und erklärten dies durch eine Zunahme an Verknüpfungsstellen zwischen den Hydroxylgruppen der Zucker und der Agarose durch Wasserstoffbrückenbindungen. DESZCZYNSKI ET AL. oder NORMAND ET AL. (DESZCZYNSKI, KASAPIS, MACNAUGHTON, & MITCHELL, 2003; DESZCZYNSKI, KASAPIS, & MITCHELL, 2003; NORMAND, AYMARD, LOOTENS, AMICI, PLUCKNETT, & FRITH, 2003) beschäftigten sich hauptsächlich mit der Änderung der mechanischen Eigenschaften der Agarosegele unter dem Einfluss von Zucker. Sie beobachteten eine Erhöhung der elastischen und viskosen Moduli mit wachsender Zuckerkonzentration, was durch einen stützenden Effekt durch den Zucker in der Helixbildung und der Bildung von Verknüpfungszonen hergeleitet wird. Der Zucker stabilisiert die intermolekularen Wechselwirkungen und somit die Bildung des Netzwerkes. MAURER ET AL. (MAURER, JUNGHANS, & VILGIS, 2012) konnten durch rheologische Untersuchungen zeigen, dass der elastische Anteil der Agarosegele bei einem Zuckerzusatz von bis zu 40% w/w ansteigt, während es ab 60% w/w zu einem strukturellen Zusammenbruch kommt.

Über den Einfluss von Zucker auf die physikalischen Eigenschaften von Xanthan oder Alginat gibt es vergleichsweise nur wenige Untersuchungen. PONGSAWATMANIT ET AL. (PONGSAWATMANIT, IKEDA, & MIYAWAKI, 1999) studierten die physikalischen Eigenschaften von Alginatdispersionen unter dem Einfluss von Saccharose und beobachteten, dass die Wasseraktivität mit wachsender Zuckerkonzentration abnahm. Die elastische Natur vergrößerte sich aufgrund der Saccharose-Alginat Wechselwirkungen bei hohen

Alginatkonzentrationen, bei Konzentrationen unter 0,5% w/w seien diese vernachlässigbar. Den Anstieg des elastischen Anteils führten sie auf die Vergrößerung der effektiven Konzentration des Alginats durch die Hydratisierung der Saccharose zurück. Dadurch werden die Überlappungen und Verschlaufungen der einzelnen Polymerketten wahrscheinlicher und die Moduli weisen höhere Werte auf. FISZMAN und DURÁN (FISZMAN & DURÁN, 1992) beobachteten eine Zunahme der Gelstärke von Alginat/Zucker-Systemen. In einer vorausgehenden Diplomarbeit wurde von S. MAURER unter anderem der Einfluss von verschiedenen Zuckerarten auf 1%-ige Xanthanlösungen untersucht. Dabei konnte bis zu einem Zuckerzusatz von 40% keine Beeinflussung der mechanischen Eigenschaften festgestellt werden. Erst ab einem Zusatz von über 60% konnte eine Abnahme der Elastizität beobachtet werden.

2.6 Mischungen aus verschiedenen Hydrokolloiden

Oft werden in der Lebensmittelindustrie Mischungen aus verschiedenen Hydrokolloiden eingesetzt um optimale Materialeigenschaften zu erzielen. Dabei kann es zu unterschiedlichen Wechselwirkungen zwischen den Polysacchariden kommen, die im Folgenden etwas genauer betrachtet werden. Werden zwei Polysaccharide miteinander gemischt und schließlich ein Gel daraus gebildet, können vier Arten von Gelstrukturen beschrieben werden (V. J. MORRIS, 2007). Man unterscheidet Netzwerke durch Phasenseparation, gequollene Netzwerke, interpenetrierende Netzwerke und gekoppelte Netzwerke.

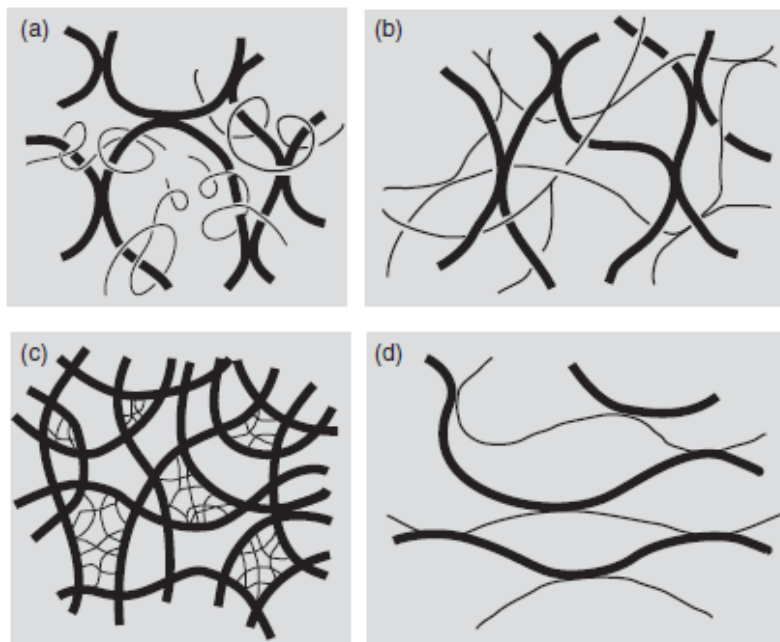


Abbildung 2.25 Polymernetzwerke aus zwei Komponenten. (a) gequollenes Netzwerk, (b) interpenetrierende Netzwerke, (c) phasenseparierte Netzwerke und (d) gekoppelte Netzwerke. (V. J. MORRIS, 2007).

Chemisch ähnliche Polysaccharide durchlaufen in verdünnten Lösungen unter Gleichgewichtsbedingungen eine Phasenseparation (Abb.2.25 c). In konzentrierten Lösungen, in denen Verschlaufungen der Polymerketten vorliegen können, verlangsamt sich die Phasenseparation. Eine schnelle Gelierung der Lösungen verhindert die Separation und führt zur Bildung von relativ homogenen Netzwerken. Kommt es allerdings zur partiellen Phasenseparation erscheint das gemischte Gel inhomogen und ähnelt einer Einschlussverbindung aus Partikeln der einen Phase in einer Matrix aus der zweiten Phase. Die Gelierung der Matrix und/oder der Füllpartikel resultiert in der Bildung eines Kompositgels. (V. J. MORRIS, 2007). Ein gängiges Beispiel eines Netzwerks durch Phasenseparation findet man in der Gelierung von Stärke² wieder. Aufgrund des unterschiedlichen Lösungsverhaltens der beiden Komponenten Amylose und Amylopektin, bildet sich in Wasser ein Stärkegel mit Phasenseparation. (detaillierte Beschreibung in V.J. MORRIS, 2007).

Die gequollenen Netzwerke (Abb.2.25 a) bilden sich bevorzugt aus der Mischung eines gelierenden mit einem nicht-gelierenden Polysaccharid. Bei der Gelbildung befindet sich das nicht-gelierende Hydrokolloid innerhalb des Netzwerkes und lässt dieses dadurch aufquellen. Erfolgt dabei die Gelierung schneller als das Entmischen der beiden Komponenten, verteilt sich das nicht-gelierende Polymer homogen in dem Netzwerk.

Interpenetrierende Netzwerke (Abb.2.25 b) bestehen aus zwei unabhängigen Netzwerken, die sich über das gesamte Probenvolumen erstrecken und gegenseitig ineinander eindringen.

Gekoppelte Netzwerke (Abb.2.25 d) entstehen durch die Mischung von Polysacchariden, die individuell nicht zur Gelbildung fähig sind, aber in der Mischung zusammen gelieren können. Durch intermolekulare Bindungen zwischen den unterschiedlichen Polymerketten kann sich ein permanentes dreidimensionales Netzwerk ausbilden. Solche intermolekularen Wechselwirkungen können sich jedoch nur ausbilden, wenn die Polysaccharide ähnliche stereochemische Strukturen aufweisen. Wichtig zur Netzwerkbildung ist hierbei, dass die Bildung von Verknüpfungszonen zweier unterschiedlicher Polymerketten der zwischen gleichen Ketten vorgezogen wird. Beispiele solcher gekoppelter Netzwerke sind die Systeme Pektin-Alginat oder Xanthan-Glucomannosen.

In dieser Arbeit werden die binären Systeme Agarose-Alginat bzw. Agarose-Xanthan betrachtet und wie sich deren Wechselwirkungen unter Einfluss der Zucker Saccharose und Trehalose verändern. Untersuchungen zu dem System Agarose-Xanthan wurden bereits von NORDQVIST ET AL. und MAURER ET AL. (MAURER, JUNGHANS, & VILGIS, 2012; NORDQVIST & VILGIS, 2011) durchgeführt. In beiden Arbeiten konnte eine Verän-

² Stärke besteht zu 20-30% aus Amylose (lineare Anordnung von Glukosemolekülen) und der Rest aus Amylopektin (verzweigte Glukoseketten) (TIEKE, 2012). Stärke besteht aus wasserunlöslichen Körnern, die je nach Amyloseanteil mehr oder weniger stark kristallin sind.

derung der Gelstruktur beobachtet werden. NORDQVIST ET AL. beobachteten den Sol-Gel Übergang des binären Systems durch temperaturabhängige Oszillationsmessungen, und untersuchten die Gelstruktur durch SEM-Aufnahmen und Messungen des Synäresindex. Die Gelkomposite zeigten eine Veränderung in dem Übergang von Sol zu Gel, eine verbesserte Wasserbindung und weniger elastische und brüchige Eigenschaften. NORDQVIST begründet dies durch eine Behinderung der Aggregatbildung der Agarosehelices durch die starren Xanthanmoleküle, was ein losereres Netzwerk zur Folge hat. MAURER ET AL. führten Deformationsmessungen und Feuchtigkeitsanalysen an ausgeleiteten Agarose-Xanthan-Gelen durch um das viskoelastische Verhalten zu studieren. Auch hier konnte eine Destabilisierung der Gele festgestellt werden. Hier wurde bei der Erklärung besonders Augenmerk auf die Wasserkonkurrenz der einzelnen Komponenten gelegt. Die Wassermoleküle würden mehr von den geladenen Xanthanmolekülen angezogen, was eine lokal höhere Dichte an Wassermolekülen um die Xanthanketten als um die Agarosemoleküle bedeuten würde. Die Netzwerkbildung der Agarose sei weniger ausgeprägt.

MEENA ET AL.(MEENA, CHHATBAR, PRASAD, & SIDDHANTA, 2008) beschäftigten sich unter anderem mit dem binären System Agarose-Alginat. Durch Viskositätsmessungen konnte eine Abnahme des scherverdünnenden Verhaltens des Alginats durch die Mischung mit Agarose beobachtet werden. Temperaturabhängige Oszillationsmessungen zeigten eine leichte Verschiebung des Gelpunktes T_{gel} der reinen Agarose zu kleineren Temperaturen in der Mischung mit Alginat. Eine genaue Erläuterung der Ergebnisse blieb hier jedoch aus.

3 Materialien und Methoden

Das nachfolgende Kapitel beschäftigt sich mit den verwendeten Materialien, deren Probenpräparation und einer kurzen Vorstellung der eingesetzten physikalischen Messmethoden zur Charakterisierung und Untersuchung der Hydrokollidsysteme.

3.1 Verwendete Materialien

Die verwendete Agarose ($C_{12}H_{18}O_9$) mit der CAS-Nr. 9012-36-6 wurde von Fisher Scientific GmbH bezogen. Es ist ein feines weißes Pulver. Laut Hersteller liegt die Gelierungstemperatur T_{gel} bei 34 bis 45 °C und die Gelfestigkeit bei $>1000 \text{ g/cm}^2$. Der Wassergehalt des trockenen Agarosepulvers wurde mit einem Halogentrockner bei 130 °C bestimmt und beträgt $11,4\% \pm 0,03\%$ (Dreifachbestimmung). Zusätzlich wurde in den Analytischen Laboratorien GmbH (Lindlar, Deutschland) eine Elementaranalyse der Agarose durchgeführt. Dabei konnte ein Calciumgehalt von 46 mg/kg (0,0046%) und ein Magnesiumgehalt von 7 mg/kg ($7 \cdot 10^{-4}\%$) gemessen werden. Der Calcium- und Magnesiumgehalt wurde bestimmt, da Alginat besonders empfindlich auf die Anwesenheit von bivalenten Kationen reagiert und so eine Beeinflussung der Viskosität in den Hydrokolloidmischungen ausgeschlossen werden konnte.

Das Na-Alginat mit der CAS-Nr. 9005-38-3 stammte von Sigma-Aldrich®. Es ist mit *medium viscosity* gekennzeichnet, was 3,5 Pas bei 2% w/w (25 °C) entspricht und hat eine bräunliche Farbe. Die Feuchtigkeitsbestimmung ergab einen Wert von $11,7\% \pm 0,03\%$ (Dreifachbestimmung) und durch die Elementaranalyse konnte für den Calciumgehalt 1450 mg/kg (0,145%) und für den Magnesiumgehalt 350 mg/kg (0,035%) bestimmt werden. Im Vergleich bestimmten SIMEONE ET AL. (SIMEONE, ALFANI, & GUIDO, 2004) 0,17% für den Calciumgehalt und 0,04% für den Magnesiumgehalt.

Xanthan (reinst, E-415) mit der CAS-Nr. 11138-66-2 wurde von Carl Roth GmbH & Co. KG erworben und ist ein cremefarbenes kompaktes Pulver. Laut Hersteller hat es eine mittlere Viskosität von 1200 - 1600 mPas in einer 1%-igen KCl-Lösung. Die Feuchtigkeitsbestimmung ergab einen Wassergehalt von $12,5\% \pm 0,15\%$ (laut Hersteller liegt er bei 6 - 14%).

Die verwendeten Disaccharide Trehalose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) und Saccharose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) wurden von Acros Organics (Thermo Fisher Scientific Inc.) bzw. Theka Analytical bezogen. Bei der Trehalose mit der CAS-Nr. 99-20-7 handelt es sich um 99% wasserfreie D-Trehalose, die Saccharose mit der CAS-Nr. 57-50-1 ist zu $\geq 99,0\%$ rein.

3.2 Allgemeine Probenpräparation

Die Dispersionen aus Xanthan bzw. Alginat wurden jeweils aus 1 Gew.-% des trockenen Pulvers und destilliertem Wasser hergestellt. Dazu wurde die entsprechende Menge an Xanthan bzw. Alginat in einem 20 mL Schnappdeckelglas vorgelegt und die entsprechende Menge an destilliertem Wasser dazugegeben. Das Gemisch wurde anschließend für 24 Stunden bei einer konstanten Rührgeschwindigkeit von 200 rpm mit einem Magnetrührstäbchen bei Raumtemperatur gerührt. Durch gelegentliches Schütteln der Gläschen wurde ein homogenes Lösen gesichert. Nach 24 Stunden konnten so beim Xanthan stark trübe und viskose Dispersionen erhalten werden und beim Alginat klare, leicht gelb gefärbte. Die entsprechenden Hydrokolloiddispersionen mit Zuckerzusatz wurden auf die gleiche Weise hergestellt, nur dass das destillierte Wasser hier durch Zuckerlösungen (Saccharose- und Trehaloselösung) mit den Konzentrationen 10, 20, 30, 40 und 50% w/w ersetzt wurde. Bei der 50% w/w Trehaloselösung wurde das maximale Lösungsvermögen der Trehalose bei Raumtemperatur schon überschritten und das Lösen erfolgte bei 60 °C für 15 Minuten auf der Heizplatte. Bei der Präparation der Dispersionen mit den Zuckerlösungen konnte beobachtet werden, dass der Zuckerzusatz das Lösen der Hydrokolloide erheblich verlangsamte.

Zur Herstellung der Agarosegele wurden 1 Gew.-% der trockenen Agarose mit der entsprechenden Menge an destilliertem Wasser in einem 20 mL Schnappdeckelgläschen dispergiert. Die Dispersion wurde schließlich auf einer Heizplatte bei 200 rpm und 200 °C auf 90 °C für 5 Minuten erhitzt. Durch die Verwendung eines Kontaktthermometers, dessen Fühler durch den Plastikdeckel des Gläschens gebohrt wurde, konnte eine konstante Temperatur von 90 °C eingestellt werden und die Wasserverdunstung minimalisiert werden. Nach 5 Minuten wurde die nun klare, heiße Lösung in Förmchen pipettiert. Für die Amplitudenmessungen am Rheometer kamen dabei runde Förmchen mit einem Durchmesser von 25 mm und einer Höhe von 3 mm zum Einsatz und für die Feuchtegehaltbestimmung hatten die Förmchen einen Durchmesser von 50 mm und eine Höhe von 1 mm. Die Förmchen wurden bis zum Überlaufen befüllt und die noch flüssige und überstehende Lösung anschließend mit einem breiten Rasiermesser abgezogen. Um ein Durchlaufen der Lösung zu verhindern wurden die Förmchen auf der Rückseite einer Petrischale mit Tesafilm befestigt. Die Agaroselösung wurde nun für 15 Minuten bei Raumtemperatur in den Förmchen abgekühlt, anschließend vorsichtig herausgelöst und für weitere 24 Stunden bei 4 °C im Kühlschrank ausgehärtet. Es konnten so leicht trübe und transparente Gele mit definierter Geometrie gewonnen werden. Die Herstellung der entsprechenden Agarosegele mit Zuckerzusatz (Saccharose und Trehalose) erfolgte analog, nur dass die trockene Agarose in Zuckerlösungen der Konzentrationen 10, 20, 30 und 40% w/w dispergiert wurde. Bei Gelen mit einem Zuckergehalt größer als 40% w/w konnte ein Auskristallisieren der Zucker festgestellt werden. Hier

war zu beobachten, dass die Trübung der Gele mit wachsender Zuckerkonzentration abnahm.

Die Präparation der Mischungen aus Hydrokolloiden erfolgte aus der Kombination der beiden Vorgehensweisen zur Herstellung der Dispersionen und Gele. Zunächst wurden 1% w/w Dispersionen aus Xanthan bzw. Alginat in destilliertem Wasser bzw. in Zuckerlösungen wie oben beschrieben angesetzt und für 24 Stunden gerührt. Die 1% w/w Agarose wurde in destilliertem Wasser bzw. in den Zuckerlösungen dispergiert und mit den vorher angesetzten Xanthan- bzw. Alginatdispersionen versetzt. Dabei wurden Mischungsverhältnisse von 1-1, 1-3 und 3-1 beachtet. Zur Herstellung einer 1-1 Mischung aus Agarose und Xanthan mit 10%-igem Zuckerzusatz zum Beispiel, wurden also 1% w/w Agarose in einer 10%-igen Zuckerlösung dispergiert und mit der gleichen Menge einer Dispersion aus 1% w/w Xanthan und einer 10%-igen Zuckerlösung versetzt. Das Gemisch wurde dann zunächst gut per Hand geschüttelt und wieder für 5 Minuten bei 90 °C wie oben erhitzt. Das in den Förmchen erkaltete Gel wurde dann anschließend wieder für 24 Stunden im Kühlschrank ausgehärtet. Auf diese Weise konnten homogene Mischungen aus den verschiedenen Komponenten erhalten werden.

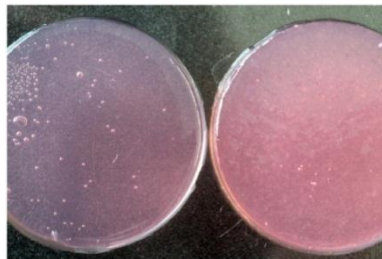


Abbildung 3.1 Vergleich von 1% w/w Agarose-Alginat 1-1 (links) und Agarose-Xanthan 1-1 (rechts), angefärbt mit Hagebuttentee.

3.3 Methoden

In dieser Arbeit wurden die Hydrokolloide Agarose, Na-Alginat und Xanthan, sowie die binären Mischungen aus Agarose-Alginat und Agarose-Xanthan untersucht. Zusätzlich wurde bei diesen Systemen der Einfluss von Saccharose und Trehalose in verschiedenen Konzentrationen studiert. Charakterisiert und erforscht wurden diese Systeme mit unterschiedlichen physikalischen Messmethoden. Hauptaugenmerk lag hierbei auf den rheologischen Messungen, bei denen amplitudenabhängige und temperaturabhängige Oszillationsmessungen, sowie scherratenabhängige Viskositätsmessungen durchgeführt wurden. Dadurch konnten Erkenntnisse über die mechanischen und thermischen Eigenschaften der Hydrokolloide im linear-viskoelastischen Bereich gewonnen werden. Des Weiteren folgte eine Feuchtegehaltanalyse mit einem Halogentrockner um das Wasserbindungsvermögen der Polysaccharide zu studieren. Die Netzwerkbildung in den reinen Komponenten und in den Mischsystemen wurde mit dem CLSM und SEM analysiert.

Darüber hinaus sollten noch die Ergebnisse der thermischen Eigenschaften durch DSC-Messungen erweitert werden.

3.3.1 Rheologische Messungen

Der Grundvorgang jeder rheologischen Messung liegt in der Aufbringung einer definierten Kraft und die Messung der resultierten Deformation der zu untersuchenden Probe oder in der Messung der resultierenden Kraft bei der Anwendung einer vorgegebenen Deformation. Betrachtet man eine Probe zwischen zwei parallelen Platten (siehe Abb. 3.2) bei denen eine stationär bleibt und die andere bewegt wird, kann das Ausmaß der Probendeformation als dimensionsloses Verhältnis aus hinterlegtem Weg d und dem Abstand der beiden Platten x definiert werden. Dieses Verhältnis bezeichnet man im englischen als *strain* γ , die Rate mit der die Deformation stattfindet bezeichnet man entsprechend als *strain rate* $\dot{\gamma}$ und trägt die Einheit s^{-1} :

$$\text{Strain: } \gamma = \frac{d}{x} \quad (3.1)$$

Die dabei auf die Fläche der oberen Platte A angreifende Kraft F bezeichnet man als Schubspannung (engl. stress τ) und trägt die Einheit Pa:

$$\text{Stress: } \tau = \frac{F}{A} \quad (3.2)$$

Findet die Bewegung senkrecht zur oberen Fläche statt, spricht man von Kompression oder Streckung und Spannung, Deformation und Deformationsrate tragen die Abkürzungen σ , ε und $\dot{\varepsilon}$. Findet eine Scherung statt, also eine laterale Bewegung, spricht man von Scherspannung τ , Scherdeformation γ und Scherrate $\dot{\gamma}$.

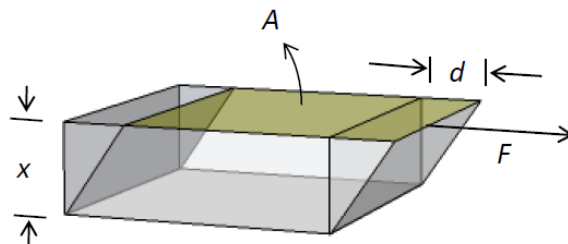


Abbildung 3.2 Parallele Plattenmodell. (Übernommen mit freundlicher Genehmigung von Dr. Birgitta Schiedt, MPI für Polymerforschung, Mainz).

Zum Verständnis des viskoelastischen Verhaltens von Polysacchariden in Lösung und Gelen werden zunächst zwei ideale Extremfälle vorgestellt: der perfekte Festkörper (Hook'sches Modell) und die perfekte Flüssigkeit (Newton'sches Modell). Im Fall des perfekten Festkörpers ist die durch die Widersetzung der Deformation erzeugte Spannung σ bzw. τ (*stress*) direkt proportional zu dem Ausmaß der Deformation ε bzw. γ (*strain*) und unabhängig von der Deformationsrate. Die Proportionalitätskonstante zwi-

schen Spannung und Deformation charakterisiert die Stabilität und Festigkeit der Probe und wird im Fall der Kompression als Young Modul E bzw. für die Scherung als Schermodul G bezeichnet.

$$\text{Kompression: } \sigma = E \cdot \varepsilon \quad (3.3)$$

$$\text{Scherung: } \tau = G \cdot \gamma \quad (3.4)$$

Für Newton'sche Flüssigkeiten ist hingegen die Widerstandsspannung σ bzw. τ (*stress*) direkt proportional zu der Deformationsrate $\dot{\gamma}$ (*strain rate*) und unabhängig von der Größe der Deformation. Das Verhältnis aus Spannung und Deformationsrate charakterisiert den Fließwiderstand einer Flüssigkeit und wird als Viskosität definiert. Für ein longitudinales Fließen wird die Viskosität mit λ bezeichnet und für die Scherung mit η .

$$\text{Kompression: } \sigma = \lambda \cdot \dot{\varepsilon} \quad (3.5)$$

$$\text{Scherung: } \tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (3.6)$$

Systeme aus Polysacchariden zeigen in ihren rheologischen Eigenschaften sowohl Charakteristika eines Festkörpers und einer Flüssigkeit (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006) und zeigen viskoelastisches Verhalten.

In der hier vorliegenden Arbeit wurden neben scherratenabhängigen Viskositätsmessungen dynamische Oszillationsmessungen an den Hydrokolloidsystemen durchgeführt. Dabei wird die Probe, eingespannt zwischen zwei parallelen Platten oder einer Platte und einem konusförmigen Kegel, mit einer sinusförmigen Deformation bzw. Spannung beansprucht:

$$\gamma(t) = \gamma_0 \sin \omega t \quad (3.7)$$

$$\tau(t) = \tau_0 \sin \omega t + \delta \quad (3.8)$$

Für einen idealen Festkörper nach Hook schwingen die oszillierende Deformation und die Scherspannung genau in Phase, für Newton'sche Flüssigkeiten sind Spannung und Deformation hingegen nicht in Phase und es ergibt sich eine Phasenverschiebung von $\delta = 90^\circ$, viskoelastische Materialien zeigen dementsprechend eine Kombination aus beidem und δ kann Werte im Bereich von 0 bis 90° annehmen.

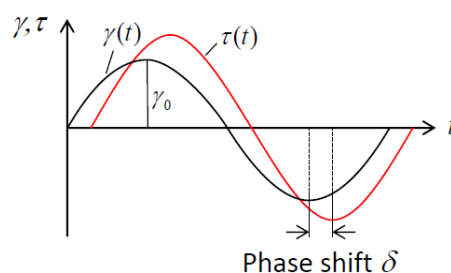


Abbildung 3.3 Darstellung der sinusförmigen Deformation $\gamma(t)$ und deren Phasenverschiebung zur Spannung $\tau(t)$. (Übernommen mit freundlicher Genehmigung von Dr. Birgitta Schiedt, MPI für Polymerforschung, Mainz).

Für Polysaccharidsysteme kann der Anteil an festem und flüssigem Charakter durch die Separation der resultierenden Spannung in ihre Komponenten, die in und aus der Phase schwingen, bestimmt werden. Der Anteil der Spannung, der sich in Phase zur Deformation bewegt, bezeichnet man als elastischen Modul G' und den Teil, der aus der Phase schwingt als viskosen Modul G'' . (MEZGER, 2007)

$$G' = \frac{\tau_0 \cos \delta}{\gamma_0} \quad (3.9)$$

$$G'' = \frac{\tau_0 \sin \delta}{\gamma_0} \quad (3.10)$$

Die Energie, die für die Deformation eines elastischen Festkörpers aufgebracht werden muss, wird während dem Scherprozess in der Probe gespeichert und steht nach Entlastung der Probe wieder vollständig zur Verfügung und gleicht die vorhergehende Deformation wieder aus. Ein Maß für diese gespeicherte Energie stellt der elastische Modul G' dar und wird deshalb auch als Speichermodul bezeichnet. Die für die Deformation einer Flüssigkeit benötigte Energie steht nach der Entlastung nicht mehr zur Verfügung und geht verloren. Sie wird zur Veränderung der Probenstruktur aufgebraucht oder wird in Form von Reibung an die Umgebung abgegeben. Ein Maß für diese verlorenen Energie stellt der viskose Modul G'' dar und heißt auch Verlustmodul. (MEZGER, 2007). Beide Moduli tragen die Einheit Pa. Der Verlustfaktor $\tan \delta$ ist der Quotient aus gespeicherter und verlorener Deformationsenergie und gibt somit das Verhältnis aus elastischem und viskosem Anteil der Probe wieder:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} = \frac{\sin \delta}{\cos \delta} \quad (3.11)$$

Idealelastisches Verhalten liegt also vor, wenn $G' \gg G''$ ist und $\tan \delta \rightarrow 0$ ist, bei idealviskosen Verhalten hingegen ergibt sich, dass $\tan \delta \rightarrow \infty$ und G'' vollständig über G' dominiert. Gilt $\tan \delta = 1$ und $G'' = G'$ hat die Probe einen genauso großen elastischen Charakter wie viskosen. Dieses Verhalten tritt zum Beispiel am Gelpunkt während eines Sol-Gel Übergangs auf (MEZGER, 2007). WINTER ET AL. konnten unter anderem durch die Messung der Viskoelastizität am Gelpunkt von vernetzten PDMS-Polymeren, sowie durch Modellrechnung zeigen, dass dort $G'(\omega) = G''(\omega)$ herrscht (CHAMBON & WINTER, 1985; WINTER, 1987; WINTER & CHAMBON, 1986).

Viskoelastische Eigenschaften von Gelen aus Hydrokolloiden (Agarosegele)

Wird eine Gelprobe für einen längeren Zeitraum mit einer bestimmten Deformation beansprucht nimmt die Spannung, die nötig ist um der Deformation Stand zu halten nach der Zeit immer mehr ab (Spannungsrelaxation) und die Probe nimmt nach der Entlastung wieder nur teilweise die ursprüngliche Geometrie ein. Wird hingegen eine definierte Spannung an der Probe angelegt, nimmt die resultierende Deformation immer mehr zu (Kriechverhalten) und entspannt sich auch nur teilweise nach Spannungswegnahme. Dieses Verhalten lässt sich auf das molekulare Netzwerk in dem Gel zurückfüh-

ren. Die angelegte Deformation wird von dem Netzwerk aufgenommen und vorbestehende Verknüpfungszonen werden dissoziiert und durch neue Wechselwirkungen mit anderen Kettenpartnern ersetzt. In festen Gelen ist der Speichermodul G' stets größer als der Verlustmodul G'' und wie für ein elastisches Netzwerk erwartet, von der Deformationsrate unabhängig. (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

Viskoelastische Eigenschaften von Lösungen aus ungeordneten Hydrokolloiden (Alginatlösungen)

Liegen Polysaccharide in Lösung vor, existieren sie als willkürlich orientierte und ungeordnete Polymerknäuel, deren Form kontinuierlich unter der Brown'schen Molekularbewegung fluktuiert. Bei kleinen Konzentrationen sind die individuellen Knäuel ausreichend voneinander getrennt und können sich unabhängig bewegen. Mit wachsender Konzentration fangen die Knäuel an sich zu berühren, überlappen und interpenetrieren einander. Es entsteht ein Netzwerk aus verhakten Polymerketten. Der Beginn der Knäuelüberlappung hängt von dem Ausschlussvolumen der Polymerknäuel und der Anzahl an Polymerketten (entspricht der kritischen Konzentration c^*) ab. Ein geeigneter Parameter zur Charakterisierung des Knäuelvolumens stellt die intrinsische Viskosität dar (siehe Kapitel 2.3.2). Bildet sich ein Netzwerk aus verhakten Polymerketten aus zeigen solche Lösungen ein scherverdünnendes Verhalten. Sie unterscheiden sich zwar in der Größe der Nullscherviskosität η_0 und dem Beginn der Scherverdünnung aber zeigen immer dieselbe Form des Scherverdünnens (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

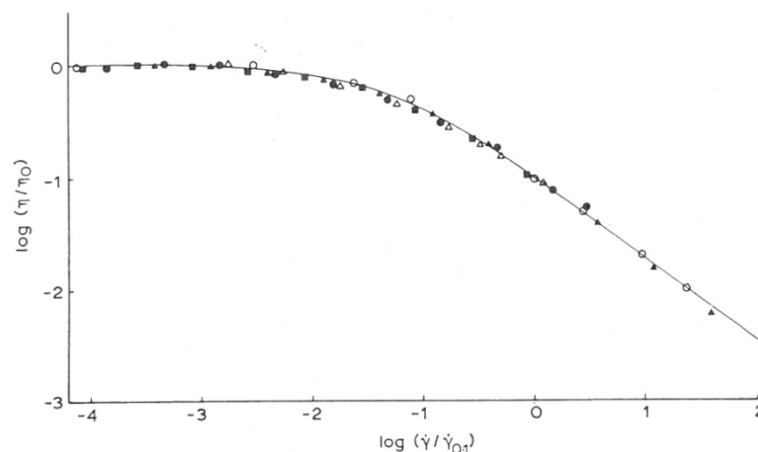


Abbildung 3.4 Logarithmische Auftragung der normierten Viskosität gegen die normierte Scherrate zur Verdeutlichung der Scherverdünnung von Polysaccharidlösungen, (Δ)Guarkernmehl, (▲)Karrageen, (●)Johannisbrotkernmehl, (■)Alginat, (○)Hyaluronat (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

In verdünnten Polysaccharidlösungen nimmt der Verlustmodul G'' immer größere Werte als der Speichermodul G' ein. Deformationsenergie wird in verdünnten Lösungen

durch die Verdrehung von Polymerketten zu gespannten Konformationen gespeichert, während die Energie durch die Bewegung an das Lösungsmittel abgegeben wird. Bei kleinen Frequenzen (Deformationsraten) überwiegt die Bewegung und G'' dominiert über G' . Bei höheren Raten wird die intermolekulare Bewegung immer bedeutender und G' nähert sich an G'' an.

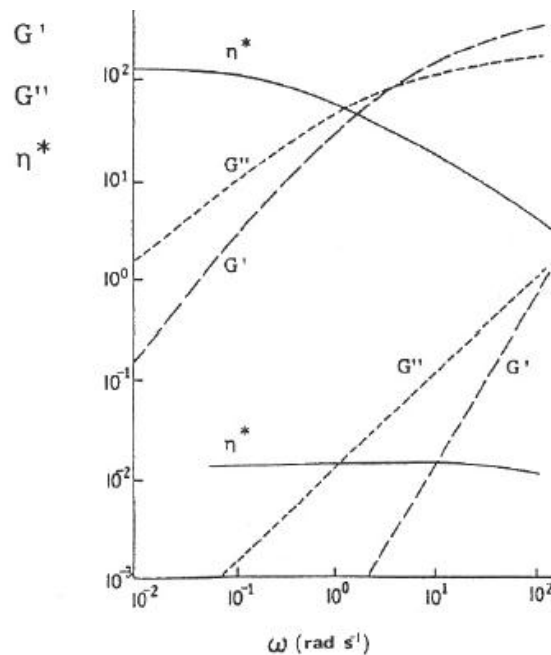


Abbildung 3.5 Abhängigkeit von G' , G'' und der komplexen Viskosität η^{*3} von der Frequenz. Oben: konzentrierte Lösungen, unten: verdünnte Lösungen. (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

Viskoelastische Eigenschaften von schwachen Gelen (Xanthan)

Manche Polysaccharide wie Xanthan besitzen Eigenschaften, die zwischen denen einer Lösung und eines Gels liegen. Xanthan liegt in Lösung nämlich in einer steifen und geordneten Konformation aus Stäbchen vor, die ein dreidimensionales Netzwerk aus schwach gebundenen geordneten Polymerketten ausbilden. Obwohl Lösungen aus Xanthan frei fließen, dominiert der Speichermodul G' der Verlustmodul G'' unabhängig von der Deformationsrate. Auch sie zeigen Scherverdünnung, verhalten sich aber etwas anders als Lösungen aus verknäulten Polymerketten. Mit abnehmender Scherrate kann ein stetiger Anstieg der Viskosität beobachtet werden und keine interpolierte Nullscher-viskosität (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006). Im Vergleich zu richtigen Gelen ist das schwache Netzwerk des Xanthans nicht stark genug sich selbst in Form zu halten. Die Bildung von richtigen Gelen durch den Übergang von ungeordneten Polymerknäu-

³ Die komplexe, dynamische Viskosität ergibt sich aus dem komplexen Modul G^* , der das gesamte Verhalten der Probe wiedergibt, und der Frequenz: $\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \frac{\sqrt{G'^2 + G''^2}}{\omega}$.

eln zu geordneten Verknüpfungszonen zieht zwar einen großen Entropieverlust mit sich, wird aber durch einen großen enthalpischen Vorteil durch die starken und stabilen intermolekularen Wechselwirkungen in den Verknüpfungszonen wieder ausgeglichen. Bei der Bildung der schwachen Gele fordert die Ordnung der Strukturen nur einen geringen Entropieverlust und es wird auch nur ein kleiner Energiegewinn nötig. (STEPHEN, PHILLIPS, & WILLIAMS, 2006).

Durchführung der rheologischen Untersuchungen

Alle hier beschriebenen Analysen der viskoelastischen Eigenschaften der Hydrokolloidsysteme wurden mit dem *Gemini 200 Advanced Rheometer* von *Bohlin Instruments* durchgeführt. Es wurden vier verschiedene Versuche an den Systemen durchgeführt:

- Scherratenabhängige Viskositätsmessungen: Die Viskositätsanalyse der Alginat- bzw. Alginat/Zuckerlösungen, sowie der Xanthan- bzw. Xanthan/Zuckerlösungen erfolgte scherratenabhängig, das heißt die Viskosität η [Pas] wurde hier in Abhängigkeit von der Scherrate $\dot{\gamma}$ [1/s] aufgetragen.
- Zeitabhängige Viskositätsmessungen: Die Viskosität η [mPas] der reinen Zuckerlösungen wurde in Abhängigkeit von der Zeit t [s] bei konstanter Scherrate $\dot{\gamma}$ [1/s] vermessen.
- Amplitudentest (*amplitude sweep*): Bei diesem Versuch wird eine oszillierende Deformation (*strain*) γ an der Probe angelegt und in Abhängigkeit davon der Speicher- und Verlustmodul G' bzw. G'' bei einer konstanten Frequenz gemessen. Dieser Test wurde an den Alginat- bzw. Alginat/Zuckerlösungen, Xanthan- bzw. Xanthan/Zuckerlösungen, den reinen Zuckerlösungen und an den Agarose- bzw. Agarose/Zuckergelen durchgeführt. Ebenfalls erfolgte die Messung an den Mehrkomponentensystemen der Agarose-Alginat- bzw. Agarose-Alginat/Zuckergelen und Agarose-Xanthan- bzw. Agarose-Xanthan/Zuckergelen.

Alle Messungen erfolgten in einer Einfachbestimmung an jeweils fünf verschiedenen Proben pro System bei 25 °C.

- Temperaturabhängige Oszillationsmessungen: Hier wurde der Speicher- und Verlustmodul G' bzw. G'' bei konstanter Frequenz und konstanter Deformation in Abhängigkeit von der Temperatur aufgetragen. Diese Messmethode erfolgte ebenfalls an allen Systemen wie beim Amplitudentest.

Diese Messungen erfolgten nur an jeweils drei verschiedenen Proben pro System.

Abhängig von der Probenbeschaffenheit wurden unterschiedliche Messgeometrien eingesetzt. Die scherratenabhängigen Viskositätsmessungen und die amplitudenabhängigen Oszillationsmessungen der Xanthan- und Alginatlösungen, sowie der Zuckerlösungen erfolgten mit einem koaxialen Zylinder (C25 DIN 53019), die Oszillationsmessungen

der Agarosegele und der binären Mischungen aus Agarose-Xanthan und Agarose-Alginat wurden mit der Platte-Platte Geometrie (PP25) vermessen und die temperaturabhängigen Messungen des Sol-Gel Übergangs erfolgten ebenfalls mit der Platte-Platte Geometrie jedoch mit einem größerem Durchmesser (PP40).

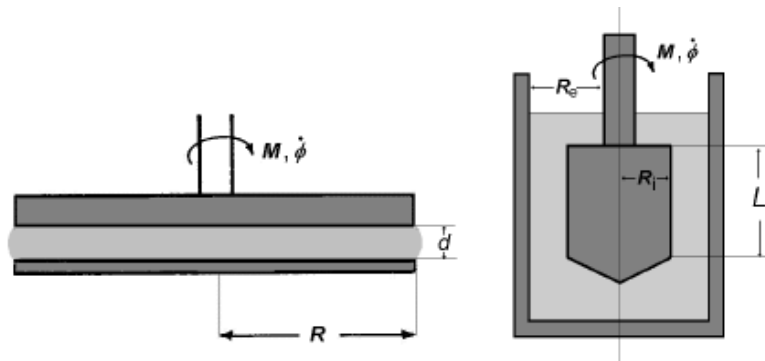


Abbildung 3.6 Unterschiedliche Messgeometrien des Rotationsrheometers, Platte-Platte und koaxialer Zylinder.

Die Verwendung des koaxialen Zylinders erforderte immer eine bestimmte Menge an Probenmaterial, so dass der innere Kolben oben komplett bedeckt war. Bei den Alginat- bzw. Alginat/Zuckerlösungen erfüllten dies $13 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$, bei den Xanthan- bzw. Xanthan/Zuckerlösungen $14 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ und bei den reinen Zuckerlösungen $12 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$. Nach dem Befüllen des äußeren Zylinders wurde der innere Kolben langsam in die Probe gefahren und der voreingestellte Gap (untere Abstand zwischen äußeren Zylinder und Kolben) von $150 \mu\text{m}$ erreicht. Damit eine homogene Verteilung der Probe zwischen innerem und äußerem Zylinder erfolgte, wurde der innere Kolben vor der Messung nochmal per Hand langsam gedreht.

Bei der Verwendung der Platte-Platte Geometrie muss immer ein ausreichender Kontakt zwischen Probe und oberer Platte garantiert sein, aber die Probe darf nicht zu fest zusammen gedrückt werden. Deshalb wurde hier die Gapeinstellung jeder Gelprobe manuell durchgeführt. Dazu wurde die obere Platte nach dem Einlegen der Probe zunächst auf $3000 \mu\text{m}$ Abstand zur unteren Platte eingestellt und in $100 \mu\text{m}$ Schritten soweit nach unten gefahren bis ein deutlicher Kontakt zur Probe sichtbar wurde. Zusätzlich wurde hier, um das Rausrutschen der Probe bei hohen Deformationswerten zu verhindern, Schleifpapier mit der Körnung 80 an der oberen und unteren Platte befestigt.

Tabelle 3.1 Wichtige Messparameter der unterschiedlichen Versuche und Probenmaterialien.

	Alginate	Xanthan	Agarose	Agarose- Alginate	Agarose- Xanthan	Zucker- lösungen
$\dot{\gamma}$-abhängige Viskositätsmessung						
min. Scherrate/(1/s)	0,01	0,0001				
max. Scherrate/(1/s)	1000	1000				
Integration, Delay Time/s	5, 30	5, 30				
Gap/ μm	150	150				
t-abhängige Viskositätsmessung						
max. Zeit/s						212,5
Scherrate/1/s						137
Integration, Delay Time/s						5, 2
Gap/ μm						150
Amplitudentest						
min. Strain	0,01	0,002	0,001	0,0001	0,001	0,01
max. Strain	25	2	1	1	1	25
Frequenz/Hz	1	1	1	1	1	1
Integration, Delay Time/s	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5
Gap/ μm	150	150	Manuell	Manuell	Manuell	150
T-abhängige Oszillationsmessung (5 Perioden)						
Strain	0,01	0,01	0,01 bis 0,001	0,001	0,001	
Frequenz/Hz	1	1	1	1	1	
Integration, Delay Time/s	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5	5, 0,5	
Temp.-Rampe/ $^{\circ}\text{C}$	80-20 20-95	80-20 20-95	80-20 20-95	80-20 20-95	80-20 20-95	
Rate (K/min)	1	1	1	1	1	

Bei der Messung des Sol-Gel Übergangs wurden die Platten zunächst auf 80 °C vorgeheizt, 1350 µL der heißen und flüssigen Probe (Probenpräparation wie zuvor nur dass die Proben nicht abgekühlt wurden und Gele bildeten) aufgegeben und die obere Platte mit kleinster Geschwindigkeit ganz vorsichtig runter gefahren. Der Gap wurde hier auf 1000 µm festgelegt. Um ein Verdampfen des Wassers zu verhindern wurde zusätzlich ein Film aus Paraffinöl ($\eta = 25$ mPas, Merck KGaA) um die Probe aufgebracht. Zusätzlich wurde hier eine automatische Gapkorrektur des Rheometers eingestellt um einen stetigen Kontakt zwischen Platte und Probe während dem Gelieren und Schmelzen zu garantieren. Die flüssige Probe wurde nun zunächst von 80 °C auf 20 °C abgekühlt und anschließend wieder auf 95 °C aufgeheizt.

In der Tabelle 3.1 sind alle wichtigen Parameter für die unterschiedlichen Messmethoden und Probenmaterialien zusammengefasst.

3.3.2 Feuchtegehaltanalyse

Um etwas über das Wasserbindungsvermögen und Synereseverhalten der Hydrokolloide zu lernen wurden diese definiert mit einem Halogenfeuchtebestimmer *HR83* der Firma *Mettler Toledo* getrocknet. Die Fähigkeit Wasser zu binden hängt stark von der molekularen Struktur der Hydrokolloide im wässrigen Medium ab (WAJE, MESHAM, CHAUDHARY, PANDEY, MAHANAWAR, & THORAT, 2005). In Hydrkolloidgelen bestimmen die Maschen des intermolekularen Netzwerkes die Fähigkeit Wasser einzuschließen. Während dem Trocknen schrumpfen die Gele und somit auch die Geldicke durch die das verdampfende Wasser hindurch diffundieren muss. Das Ausmaß dieser Kontraktion hängt von der Trocknungstemperatur, Geldicke zu Beginn der Messung und Verknüpfungsdichte im Netzwerk ab. (WAJE, MESHAM, CHAUDHARY, PANDEY, MAHANAWAR, & THORAT, 2005). Polyelektrolyte wie Alginat und Xanthan haben eine besonders hohe Fähigkeit zur Wasserbindung. Durch den dipolaren Charakter der Wassermoleküle können die Hydrokolloide mit ihrer negativen Ladung eine Hydrathülle um sich herum bilden.

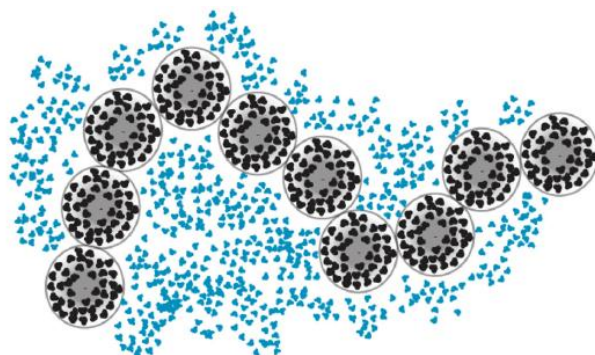


Abbildung 3.7 Durch die Ladung der Polyelektrolyte bildet sich eine Hydrathülle aus, die sich durch den dipolaren Charakter der Wassermoleküle stabilisiert. (VILGIS, 2012)

Um Wasser aus dem System zu verdampfen müssen also zunächst diese elektrostatischen Anziehungen überwunden werden.

Bestimmung des Feuchtegehalts der Hydrokolloide

Zur Bestimmung der Wasserbindungsfähigkeit wurden $2,000\text{g} \pm 0,001\text{g}$ des Probenmaterials auf ein in einer Aluminiumschale liegendes Flies gegeben; bei den vorher ausgehärteten Gelen wurden schon vor dem Abkühlen etwa 2 g der flüssigen Phase in die Förmchen eingewogen und das über 24 Stunden ausgehärtete Gel direkt in die Aluminiumschale gelegt. Die Proben wurden nun jeweils bei zwei verschiedenen Temperaturen, einmal bei $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (weit unter dem Schmelzpunkt der Gele) und bei $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (nahe dem Schmelzpunkt der Gele) getrocknet, der Gewichtsverlust mit der Zeit aufgetragen und direkt der Feuchtegehalt in Prozent von der Gesamtmasse der Probe bestimmt. Die Messung erfolgte solange bis innerhalb von 140 Sekunden nur noch Gewichtsänderungen von kleiner als 1 mg detektiert werden konnten (Abschaltkriterium 5). Für jedes System wurde diese Messung an drei verschiedenen Proben wiederholt.

3.3.3 Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

Um etwas über die Homogenität und Netzwerkstruktur der Hydrogele zu erfahren wurden die Gele auf Agarosebasis mit einem konfokalen Fluoreszenzmikroskop *FV 300* von *Olympus* (manuell umgebaut) untersucht. Der Vorteil der konfokalen Mikroskopie liegt darin, dass im Vergleich zu konventionellen Mikroskopen das Anregungslicht auf einen Punkt in der Probe fokussiert werden kann. Durch den Einsatz eines Lasers als Anregungslicht kann die Probe in der Fokusebene punktförmig beleuchtet werden und in jedem Punkt Moleküle zur Fluoreszenz angeregt werden. Das Fluoreszenzlicht wird dann durch eine Blende in der Bildebene abgebildet und nur das Licht, das aus der Fokusebene kommt kann so detektiert werden. Der Vorteil der Detektion von Fluoreszenzlicht ist, dass dieses durch den Einsatz von farbbelegten Spiegel einfach von dem Anregungslicht getrennt werden kann. Das kurzwellige Anregungslicht wird an dem Spiegel reflektiert, das langwellige Fluoreszenzlicht kann den Spiegel passieren und in der Zwischenbildebene fokussiert werden. Durch die eingebaute Lochblende in der Zwischenbildebene des Detektionsstrahlengangs werden nur bestimmte Objekte in dem Probevolumen detektiert. Die Kombination aus Fluoreszenzlicht und Lochblende steigert das laterale Auflösungsvermögen enorm. (HINZE, 2011). Durch das Rastern mit dem Laser kann so ein zweidimensionales oder sogar dreidimensionales Bild der Probe erhalten werden.

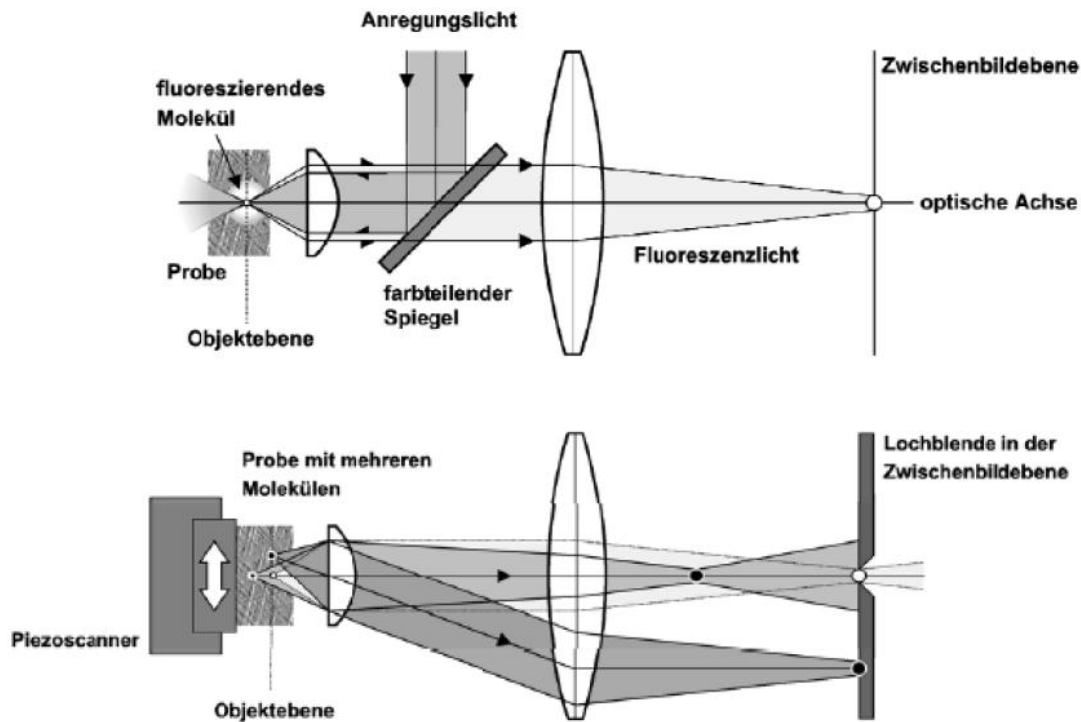


Abbildung 3.8 Schematische Darstellung des Strahlengangs eines Fluoreszenz-CLSM. Oben: Anregung, nur das Fluoreszenzlicht kann den Spiegel passieren; unten: Detektion, durch den Einsatz der Lochblende liegt der Detektionsfokus genau in der Fokalebene des Objektivs. (Quelle: Praktikumsskript PC-Grundmodul, Uni Mainz, 2011, http://www.uni-mainz.de/FB/Chemie/fbhome/phyc/Dateien/Modul_Einzelmolekuelmikroskopie.pdf)

Damit überhaupt ein Bild der Agarosegele mit dem Fluoreszenz-CLSM aufgenommen werden konnte musste diese zunächst mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert werden.

Fluoreszenzmarkierung der Agarose

Als Fluoreszenzfarbstoff wurde 5-DTAF [5-(4,6-Dichlorotriazinyl)aminofluorescein] mit der CAS-Nr. 51306-35-5 von invitrogen[®] verwendet.

5-DTAF wird oft zur Fluoreszenzmarkierung von verschiedenen Carbohydraten und Polysacchariden verwendet, da es die Fähigkeit hat mit Amino-, Thio- und Hydroxylgruppen in wässrigen Lösungen über einem pH-Wert von 9 zu reagieren. Die Molekularmasse beträgt 495,28 g/mol und Absorptions- und Emissionsmaxima liegen bei $\lambda_{abs} = 492$ nm bzw. $\lambda_{em} = 517$ nm.

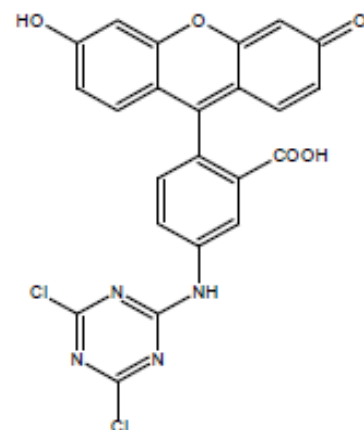


Abbildung 3.9 Chemische Struktur von 5-DTAF als Fluoreszenzmarker von Agarose.

Eine Versuchsbeschreibung zur Markierung von Agarose mit 5-DTAF oder anderen Fluoresceinen konnte in der Literatur nicht gefunden werden, weshalb basierend auf einer Beschreibung der Markierung von Xylan mit 5-DTAF (<http://www.fgsc.net/fgn37/chalmers.html>) eine eigene Durchführung entwickelt wurde.

Die eingesetzten Chemikalien und deren Mengen können der folgenden Tabelle entnommen werden:

Tabelle 3.2 Eingesetzten Chemikalien und Mengen zur Markierung der Agarose.

Substanz	Summenformel	Molare Masse M/gmol ⁻¹	Masse m/g	Stoffmenge n/mmol	Volumen V/mL
Agarose	(C ₁₂ H ₁₈ O ₉) _n	306,46	1,000	3,263	
Natriumsulfat	Na ₂ SO ₄	142,04	0,015	0,107	
Natriumhydroxid	NaOH	40,00	1,000	25	
5-DTAF	C ₂₃ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O ₅	495,28	0,008	0,016	
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	46,07			120

Die Menge an 5-DTAF und Agarose wurde so festgelegt, dass etwa jedes 200-te Monomer mit DTAF substituiert wird. Dazu wurde zunächst die Agarose in 50 mL destilliertem Wasser suspendiert und im Silikonbad bei 95 °C solange gerührt bis eine klare Lösung entstand. Das Natriumsulfat wurde in 15 mL destillierten Wasser gelöst, sodass eine 1% w/v-ige Lösung entstand. Die Agaroselösung wurde dann anschließend auf 50 bis 60 °C abgekühlt, das DTAF dazugegeben und die 15 mL der Natriumsulfatlösung langsam dazu getropft. Es entstand eine trübe und gelbgefärbte Suspension. Nach der Zugabe von 2 bis 3 Tropfen einer 10%-tigen NaOH-Lösung klarte die Suspension auf und eine stark intensiv gelbe Lösung konnte beobachtet werden. Diese Lösung wurde nun für weitere zwei Stunden bei 50 bis 60 °C im Silikonbad weiter gerührt. Schließlich wurden etwa 120 mL absolutiertes Ethanol langsam dazugegeben, nach etwa 70 mL konnte ein Niederschlag beobachtet werden und aus der gelb-orangen Lösung entstand eine stark fluoreszierende gelbe Suspension. Die Suspension wurde für 15 Minuten im Gefrierfach bei -24 °C abgekühlt und nach und nach im Büchnertrichter abgesaugt. Es wurde mehrmals mit kaltem Ethanol gewaschen und ein intensiv gelbes Pulver blieb zurück. Dieses wurde im Trockenschrank unter Vakuum bei etwa 30 °C für 48 Stunden getrocknet und es konnten schließlich 0,558 g der mit 5-DTAF markierten Agarose als gelbes Pulver gewonnen werden.

Aufnahme der CLSM-Bilder

Um die Fluoreszenz der mit 5-DTAF markierten Agarose anzuregen wurde ein Argonlaser mit der Wellenlänge $\lambda = 488 \text{ nm}$ verwendet. Zur Auflösung der Strukturen wurden zwei verschiedene Objektive eingesetzt. Zum einen wurde ein *LMPLFL 20x* Objektiv mit 20-facher Vergrößerung (NA 0.40, WD 12.00 mm, long distance, dry), sowie ein *UPLSAPO 60xW* Wasserimmersionsobjektiv mit 60-facher Vergrößerung (NA 1.20, WD 0.28 mm, water immersion) verwendet. Die Probenvorbereitung erfolgte wie in Kapitel 3.2 beschrieben wurde, nur dass der trockenen Agarosemenge immer zuvor jeweils 20% der mit 5-DTAF angefärbten Agarose zugesetzt wurde. Die beiden trockenen Pulver wurden vor der Wasserzugabe zu einem homogenen Gemenge gemörsert. 500 μL der noch flüssigen und heißen Lösungen wurden dann jeweils in die Messzellen des Mikroskops pipettiert und für 24 Stunden im Kühlschrank ausgehärtet.

3.3.4 Scanning Electron Microscopy (SEM)

Zur Untersuchung der Netzwerkstruktur der Agarosegele und deren Mischung mit Alginate und Xanthan wurde ein Rasterelektronenmikroskop von *Gemini Zeiss 1530* eingesetzt. Der Elektronenstrahl wird hierbei durch Feldemission erzeugt. Als Kathode dienen hier in der Regel einkristalline Wolframnadeln mit einem Radius von wenigen Nanometern. Durch den geringen Radius der Kathodenspitze entsteht ein sehr starkes elektrisches Feld und die Tunnelwahrscheinlichkeit der Elektronen wird soweit erhöht, dass sie ihr bindendes Potential überwinden können. Durch eine gegenüberliegende Anode werden die Elektronen beschleunigt und durch eine Linse gebündelt, so dass ein Elektronenstrahl mit hoher Kohärenz und Intensität entsteht.

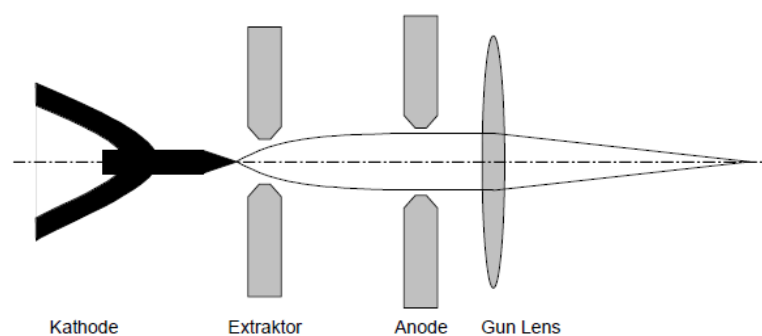


Abbildung 3.10 Schematischer Aufbau einer Feldemissionselektroenquelle. (Quelle: http://tu-dresden.de/die_tu_dresden/fakultaeten/fakultaet_mathematik_und_naturwissenschaften/fachrichtung_physik/isp/tbg/lehre/TEM.pdf)

Der erzeugte Elektronenstrahl wird nun im Hochvakuum ($\sim 10^{-6} \text{ mbar}$) über die Probe gerastert, die von der Oberfläche emittierten Sekundärelektronen detektiert und ein Bild

der Topographie erzeugt. Es können so Strukturen mit einem Auflösungsvermögen von nur wenigen Nanometern gewonnen werden.

Aufnahme der SEM-Bilder

Um Rasterelektronenaufnahmen der verschiedenen Hydrokolloidsysteme darstellen zu können mussten diese zunächst präpariert werden. Dazu wurden zunächst die Gele und Dispersionen wie in Kapitel 3.2 beschrieben hergestellt. Die über 24 Stunden gerührten bzw. ausgehärteten Dispersionen und Gele wurden dann gegebenenfalls in kleine und längliche Stücke geschnitten und in 1,5 mL PP-Mikroreaktionsgefäße überführt. Nachdem die Proben nun für 5 Minuten in flüssigen Stickstoff eingefroren wurden, erfolgte die Trocknung im Gefriertrockner (*Alpha 1-2 LDPlus, Christ*) für 24 Stunden bei -54 °C und 0,048 mbar. Die gefriergetrockneten Proben wurden dann vorsichtig zerbröselnd und auf den Probenhaltern des SEM befestigt.

3.3.5 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Um Erkenntnisse über das Schmelz- und Gelierungsverhalten der Hydrokolloide zu gewinnen wurden Untersuchungen der thermischen Eigenschaften mit einer *DSC 822 von Mettler Toledo* durchgeführt. Probe und Referenz befinden sich dabei in einem Ofen und werden durch Zuführen einer Wärmemenge mit konstanter Geschwindigkeit erhitzt. Kommt es dabei zu einer Temperaturdifferenz zwischen Probe und Referenz wird diese sofort durch weitere Wärmemenge ausgeglichen. Diese zusätzlich zugeführte Wärmemenge ist proportional zur Differenz der spezifischen Wärmekapazitäten von Probe und Referenz. (HÖHNE, HEMMINGER, & FLAMMERSHEIM, 2003). Der Schmelzpunkt der Gele wird in einem endothermen Peak sichtbar, da das Schmelzen und das damit verbundene Lösen der Verknüpfungszonen Energie fordert. Das Bilden von Verknüpfungszonen und dreidimensionalen Netzwerken durch intermolekulare Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen oder elektrostatische Wechselwirkungen hingegen sorgt für eine Energieerniedrigung der Probe. Der Gelierungsprozess wird deshalb in einem exothermen Peak sichtbar. In Abbildung 3.11 ist zum Beispiel eine DSC-Kurve von einem 2%-igem Agarosegel beim Aufheizen und Abkühlen sichtbar. Bei etwa 80 °C wird hier ein endothermer Peak des Schmelzens und bei etwa 35 °C ein exothermer Peak des Gelierens sichtbar.

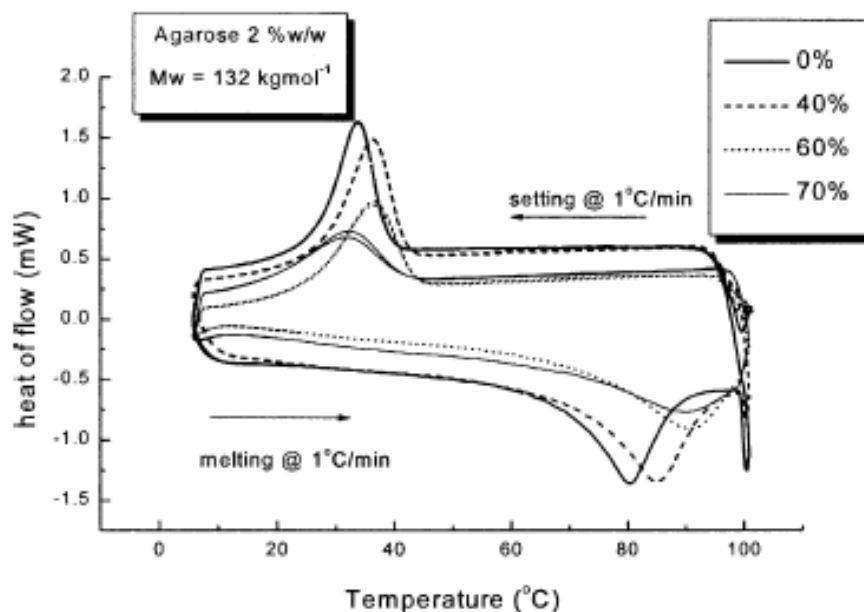


Abbildung 3.11 Thermogram eines Agarosegels mit unterschiedlichem Zuckerzusatz von (NORMAND, AYMARD, LOOTENS, AMICI, PLUCKNETT, & FRITH, 2003).

Durchführung der DSC-Messungen

Die Durchführung der DSC-Messungen erforderte eine langwierige Erprobung der besten Probenvorbereitung und Messmethode. Die Herstellung der Gele erfolgte wie in Kapitel 3.2, nur dass 50 μL der noch heißen und flüssigen Hydrokolloidlösungen direkt in einen 100 μL Aluminiumtiegel gegeben wurde. Der Deckel wurde zunächst nur drauf gelegt und nach 5 minütigen Abkühlen kaltverschweißt. Die direkt in den Messtiegeln abgekühlten Gele wurden dann schließlich für weitere 24 Stunden bei 4 °C im Kühlschrank ausgehärtet. Als Referenz wurde die exakte Menge an Wasser bzw. Zuckerlösung eingewogen, die auch in der Probe abzüglich des Polymermaterials vorlag. Mit 1 K/min wurden dann die Proben von 20 °C auf 95 °C aufgeheizt und schließlich mit 1 K/min wieder auf 20 °C abgekühlt.

4 Ergebnisse und Diskussion

Im folgenden Kapitel werden alle gewonnenen Messergebnisse präsentiert und versucht, diese unter einer physikalischen Betrachtungsweise zu erläutern. Zunächst werden die rheologischen Messungen vorgestellt, gefolgt von den Untersuchungen des Wasserbindungsvermögens und der strukturellen Aufklärung via CLSM und SEM. Zum Schluss werden noch einige Ergebnisse der DSC-Messungen dargelegt.

4.1 Viskositäts- und Oszillationsmessungen

Durch die Mischung von verschiedenen Hydrokolloiden und Polysacchariden können viele funktionelle Eigenschaften im Vergleich zu den Reinsystemen verändert und eventuell verbessert werden. Auch der Einbau von Disacchariden in ein System aus Hydrokolloiden kann eine enorme Beeinflussung der physikalischen Eigenschaften mit sich führen. Dazu wurden zunächst die reinen wässrigen Lösungen der Co-Solute Saccharose und Trehalose bezüglich ihrer viskoelastischen Eigenschaften und Viskosität in verschiedenen Konzentrationen untersucht. Um die Veränderung der viskoelastischen Eigenschaften von Agarosegelen durch den Zusatz von Xanthan bzw. Alginat und den Zuckern Saccharose und Trehalose zu diskutieren, wurden zunächst die binären Hydrokolloid/Zucker-Systeme untersucht.

4.1.1 Untersuchungen der wässrigen Disaccharidlösungen

Saccharose und Trehalose sollten aufgrund ihrer unterschiedlichen chemischen Struktur auch ein unterschiedliches Verhalten in wässrigen Lösungen zeigen. Beide weisen ein anderes Hydratisierungsverhalten auf, wodurch die Viskosität und die viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Konzentration verändert werden. In Abbildung 4.1 ist die Viskosität in Abhängigkeit von der Zeit der wässrigen Lösungen aus Saccharose bzw. Trehalose in unterschiedlichen Konzentrationen aufgezeichnet. Wie zu erwarten hat die Scherdauer bei einer konstanten Scherrate keinen Einfluss auf die Viskosität der Lösungen. Die Scherrate wurde auf 137 s^{-1} festgelegt, da hier für wässrige Systeme optimale Bedingungen für einen laminaren Fluss vorliegen. Bei zu kleinen Scherraten entsteht nicht genug Haftung zwischen Flüssigkeit und Messapparatur und bei zu hohen Scherraten wird der laminare Fluss durch zu starke Turbulenzen gestört. Die Lösungen zeigen unabhängig von Art und Konzentration des Disaccharids newtonsches Verhalten. Des Weiteren ist zu erkennen, dass die Viskosität mit wachsender Zuckerkonzentration bei den Saccharose-, sowie bei den Trehaloselösungen steigt. Ab 30%-igem Disaccharidanteil wird ein immer deutlich werdender Unterschied zwischen Saccharose und Trehalose sichtbar. Die Viskositätserhöhung mit wachsender Zuckerkonzentration lässt sich

dadurch erklären, dass immer mehr hydratisierte Teilchen in der Lösung vorliegen, die freie Bewegung der Teilchen wird aufgrund der wachsenden Zucker-Zucker-Wechselwirkung immer geringer und die innere Reibung der Lösung steigt.

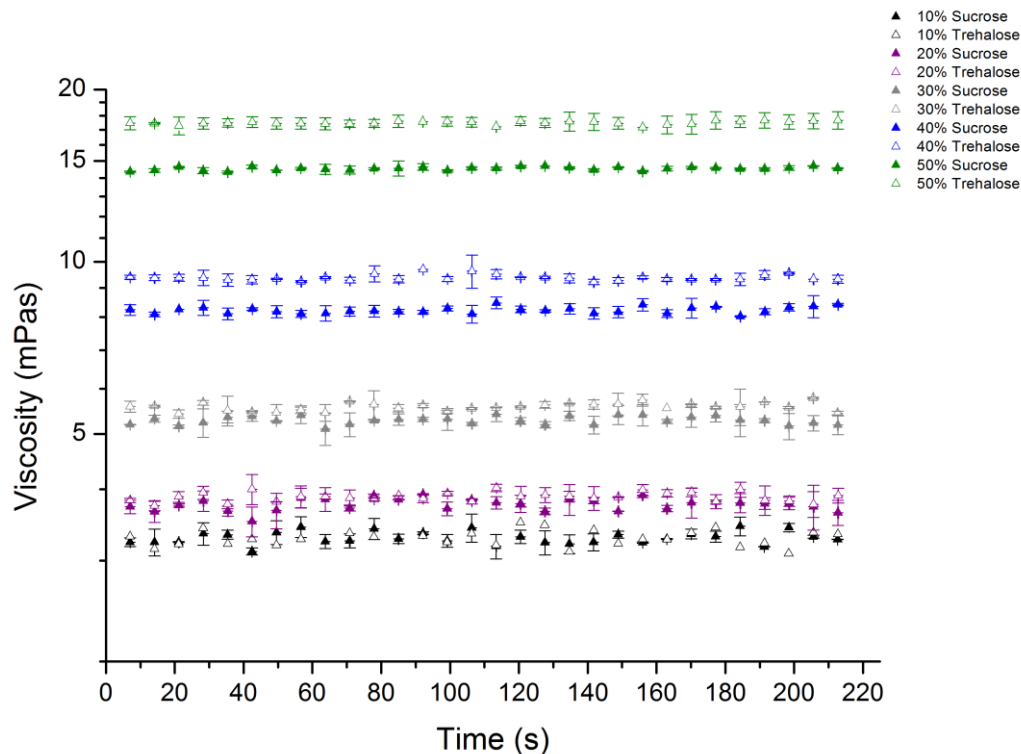


Abbildung 4.1 Viskosität in Abhängigkeit von der Zeit bei einer konstanten Scherrate $\dot{\gamma} = 137 \frac{1}{s}$ und Temperatur $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen die unterschiedlich konzentrierten Saccharoselösungen und die nicht-ausgefüllten die Trehaloselösungen. Mit zunehmender Zuckerkonzentration ist eine Viskositäts-erhöhung erkennbar.

Die stärkere Viskositätszunahme der Trehaloselösungen im Vergleich zu den Saccharoselösungen lässt sich durch die stärkeren Wechselwirkungen zwischen den Trehalosemolekülen und den Wassermolekülen im Vergleich zu den Saccharosemolekülen erklären. Wie in Kapitel 2.5.1 schon diskutiert, haben die Trehalosemoleküle aufgrund konformativer Eigenschaften eine bessere Fähigkeit in Lösung Wassermoleküle zu binden. Durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Hydroxylgruppen des Zuckers und den Wassermolekülen bilden sich um die einzelnen gelösten Moleküle Hydrathüllen, wodurch sich das effektive Volumen der gelösten Teilchen vergrößert. Da die Wasserbindung der Trehalose ausgeprägter als die der Saccharose ist, bilden sich hier stärkere und größere Hydrathüllen um die einzelnen Teilchen. Dementsprechend wird der Platz zwischen den einzelnen Teilchen minimiert, die innere Reibung der Lösung steigt an, und eine Viskositäts-erhöhung im Vergleich zu der entsprechend konzentrierten Saccharoselösung ist zu erkennen.

In der nachfolgenden Abbildung ist der Verlustmodul G'' in Abhängigkeit von der Deformation für die Lösungen von Saccharose und Trehalose in den entsprechenden Gewichtsprozenten von 10% w/w bis 50% w/w gezeigt. Hier entspricht ein *strain*-Wert von 0,01 einer Deformation um 1% und eine Deformation von 100% entsprechend einem Wert von 1.

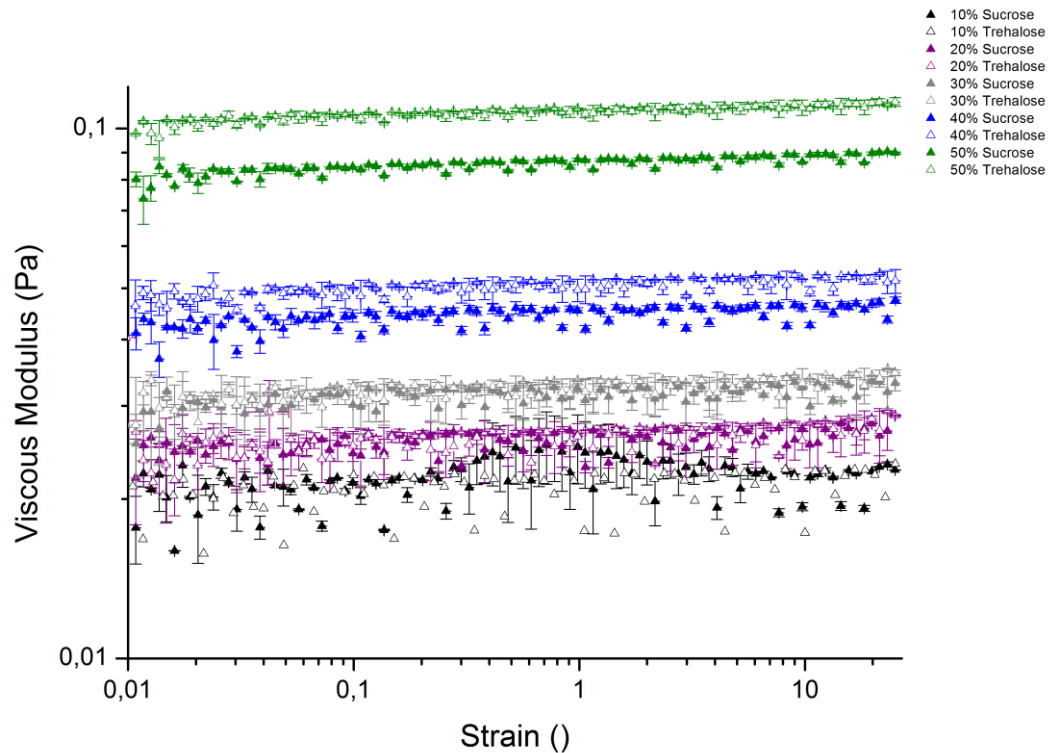


Abbildung 4.2 Logarithmische Darstellung des viskosen Modul G'' (Verlustmodul) in Abhängigkeit von der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und Temperatur $T = 25$ °C für die verschiedenen Zuckerlösungen. Die ausgefüllten Symbole stehen wieder für die Saccharoselösungen und die nicht-gefüllten spiegeln die entsprechenden Trehaloselösungen wider.

Unabhängig von Art und Konzentration des Disaccharids kann hier keine Abhängigkeit des Moduls von der Deformation erkannt werden. Beide Lösungen liegen also immer vollständig in ihrem linearviskosen Bereich, das heißt also die im System entstehende Spannung ist direkt proportional zur Deformationsrate und die Lösung zeigt newtonsches Verhalten (MEZGER, 2007). Auch hier kann eine Erhöhung des Moduls mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden, sowie eine größere Zunahme bei den Trehaloselösungen im Vergleich zu den Saccharoselösungen. Diese Beobachtung spiegelt und bestätigt nur den schon vorher diskutierten Verlauf der Viskosität wieder. Bei einer oszillierenden Messapparatur erhält man über folgende Beziehungen die kom-

plexe Viskosität, die den viskoelastischen Fließwiderstand, also Viskosität, der Messprobe darstellt (MEZGER, 2007):

$$|\eta^*| = \frac{|G^*|}{\omega} = \frac{\sqrt{G'{}^2 + G''{}^2}}{\omega} \quad (4.1)$$

$$\eta^* = \frac{\tau(t)}{\dot{\gamma}(t)} \quad (4.2)$$

4.1.2 Viskoelastische Eigenschaften von Agarosegelen

Um den Einfluss der verschiedenen Disaccharide Saccharose und Trehalose auf die viskoelastischen Eigenschaften der Agarosegele zu studieren, wurden Gele angesetzt bei denen die Agarosekonzentration immer fest 1% w/w betrug und die Co-Solutkonzentration von 10% w/w auf 50% w/w hochgesetzt wurde. Bei den Agarose/Trehalose-Gelen konnte nur ein maximaler Zuckerzusatz von 40 % w/w angesetzt werden, da oberhalb dieses Zusatzes die Trehalose nach dem Aushärten im Kühlschrank wieder auskristallisierte. In Abbildung 4.3 sind die Ergebnisse des Amplitudentests der Agarosegele mit Saccharose- bzw. Trehalosezusatz dargestellt.

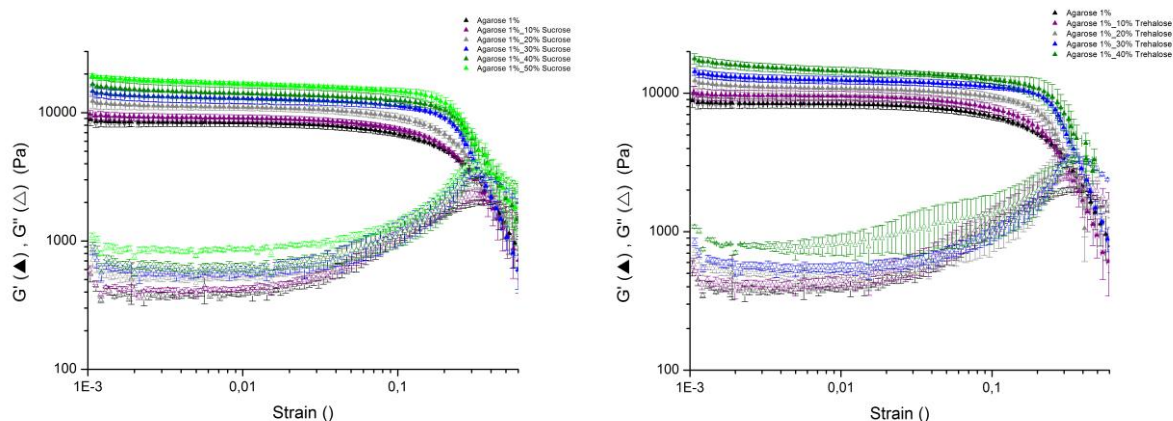


Abbildung 4.3 Logarithmische Darstellung des elastischen G' und viskosen G'' Modul in Abhängigkeit von der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und Temperatur $T = 25$ °C für links: Agarose/Saccharose-Gele und rechts: Agarose/Trehalose-Gele. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils G' und die nicht-gefüllten G'' .

In beiden Abbildungen ist deutlich zu erkennen, dass der linear-elastische Bereich, das heißt also der Bereich in dem die Funktionen von G' jeweils einen konstanten Plateauwert aufweisen und eine Proportionalität zwischen Vorgabe- und Ergebnisparameter vorliegen (MEZGER, 2007), für alle Systeme bis mindestens einer Deformation von 0,06 vorliegt und sich mit wachsender Zuckerkonzentration etwas verlängert. Betrachtet man hingegen den Verlauf von G'' wird ein Maximum sichtbar. So ein Verlauf kann oft bei hochkonzentrierten Dispersionen mit Netzwerken und Gelen beobachtet werden. Diese

zunächst ansteigenden G'' -Werte weisen auf einen zunehmenden Anteil an Deformationsenergie hin, die noch vor dem endgültigen Zusammenbruch der inneren Struktur verbraucht wird, um schon Teilbereiche der Struktur irreversibel zu deformieren. Möglich wird dies zum Beispiel durch Relativbewegungen zwischen im Netzwerk nicht eingebauten Molekülen, freien Kettenenden, flexiblen Seitenketten oder nicht fixierten Überstrukturen. (MEZGER, 2007). Das Verlassen des linear-viskoelastischen Bereichs (LVE-Bereich) wird hier also nicht durch den Abfall der Funktionen von G' und G'' angedeutet, sondern schon durch den Anstieg der G'' -Funktion. Im LVE-Bereich bei kleinen Deformationen existiert das Netzwerk, es bilden sich dann langsam Mikrorisse, die bis zum Überschreiten des G'' -Maximums zu Makrorissen anwachsen, bis schließlich das gesamte Netzwerk zusammenbricht. Dieser Zusammenbruch wird an dem Schnittpunkt $G'=G''$ erreicht. Bei einer genaueren Betrachtung der G'' -Kurve wird unabhängig vom eingebautem Disaccharids das G'' -Maximum mit wachsender Zuckerkonzentration immer steiler und schärfer. Vergleich man die Absolutwerte von G' bei einer bestimmten Deformation im LVE-Bereich für alle Systeme wird ein Anstieg mit wachsender Saccharose- bzw. Trehalosekonzentration sichtbar.

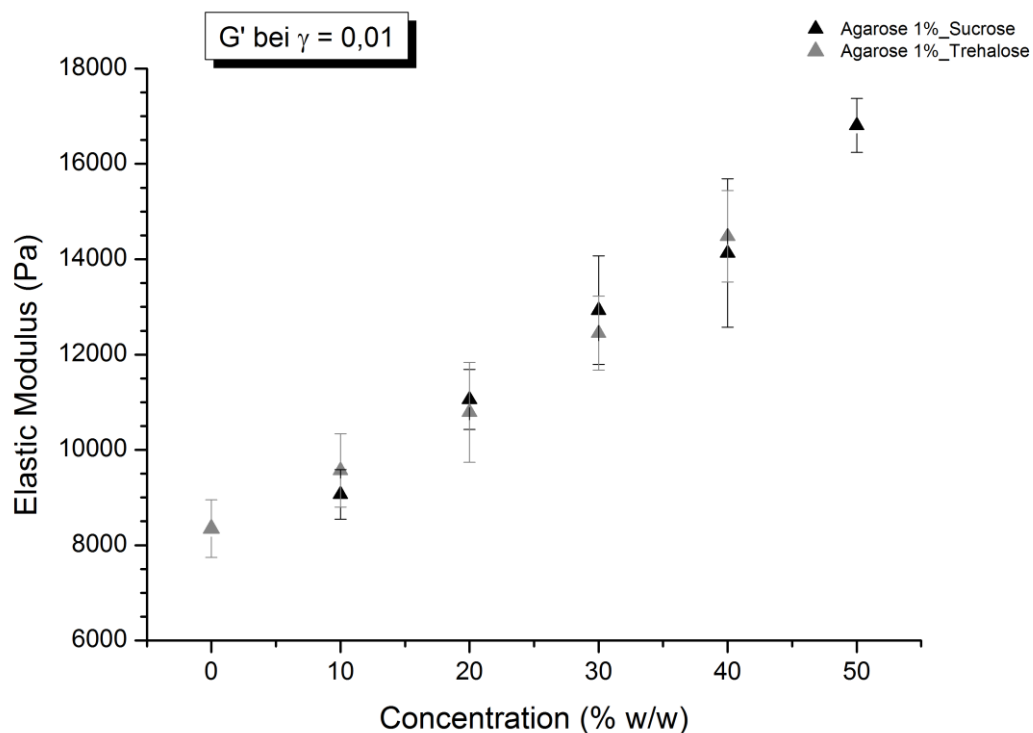


Abbildung 4.4 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen das Wachstum von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole das für den Zusatz von Trehalose.

Für beide Disaccharidzusätze kann eine annähernd lineare Zunahme des elastischen Moduls G' mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden. Mit einem Absolutwert des elastischen Moduls von $G' = (8347,50 \pm 602,61)$ Pa bei $\gamma = 0,01$ kann durch den Zusatz von 50% w/w Saccharose eine Verdopplung des Absolutwerts von G' auf $G' = (16806,80 \pm 565,53)$ Pa bei $\gamma = 0,01$ erreicht werden. Durch den Zusatz von 40% w/w Trehalose kann eine Steigerung auf $G' = (14481,00 \pm 961,67)$ Pa verursacht werden. Der Unterschied der Werte für den Zusatz von Saccharose und Trehalose bei den jeweiligen Konzentrationen ist nur sehr gering und die Messpunkte liegen jeweils im Rahmen der Fehlerbalken. Dieser Anstieg von G' mit wachsender Zuckerkonzentration konnte auch schon von DESZCZYNSKI ET AL. (DESZCZYNSKI, KASAPIS, MACNAUGHTON, & MITCHELL, 2003; DESZCZYNSKI, KASAPIS, & MITCHELL, 2003) gemessen werden. Der Anstieg des elastischen Anteils und der Stabilität mit wachsender Zuckerkonzentration kann durch den Mangel an Wassermolekülen und deren Ersatz durch die wachsende Anzahl an Zuckermolekülen erklärt werden. Durch den Zusatz von immer mehr Zuckermolekülen stehen in dem Gel immer weniger Wassermoleküle zur Verfügung und die effektive Konzentration der Agarose steigt. Durch die erhöhte effektive Konzentration der Agarose wird der Abstand zwischen den Polymerketten geringer und die Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung der Verknüpfungszonen durch die intermolekularen Wechselwirkungen (Polymer-Polymer-Wechselwirkungen) zwischen den Helices größer. KASAPIS ET AL. (KASAPIS, AL-MARHOABI, DESZCZYNSKI, MITCHELL, & ABEYSEKERA, 2003) gehen davon aus, dass die Wasserstoffwechselwirkungen zwischen den einzelnen Polymerketten durch den Zusatz von Zuckermolekülen verstärkt werden und stabilere und festere Verknüpfungspunkte in dem Agarosenetzwerk resultieren. Durch die Hydroxylgruppen sind die Zuckermoleküle wie die Hydrokolloide ebenfalls zu Wasserstoffbrückenbindungen befähigt und könnten so als Vermittler zwischen zwei Polymerketten bzw. -helices, deren Abstand zueinander zu groß ist, wirken und so neue Verknüpfungspunkte schaffen. Aufgrund der stabileren und elastischeren Verknüpfungszonen in dem Netzwerk fordert die Zerstörung der Gele auch mehr Energie, was durch die Verlängerung des LVE-Bereichs mit wachsender Zuckerkonzentration deutlich wird. KASAPIS ET AL. zeigten aber auch, dass es bei einem Zuckerzusatz von über 60% w/w zu einem Zusammenbruch des Agarosenetzwerkes kommt, sichtbar in einem Abfall des elastischen Moduls G' . Hier verändert sich die enthalpisch günstige Aggregation der Polymerhelices zu einem Netzwerk mit nur noch wenigen Verknüpfungspunkten. Der große Anteil an Zuckermolekülen in der Lösung verhindert die Annäherung der Polymerketten und somit die Ausbildung von Verknüpfungszonen, was zu instabilen und wenig elastischen Gelen führt.

4.1.3 Fließ- und viskoelastische Eigenschaften von Alginatlösungen

Na-Alginat wurde in dieser Arbeit als typisches Verdickungsmittel eingesetzt und um den Einfluss von Saccharose und Trehalose auf die verdickende Wirkung zu untersuchen wurden jeweils 1%-ige Alginatlösungen mit wachsender Zuckerkonzentration von 10% w/w bis 50% w/w angesetzt und deren Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate gemessen, sowie Amplitudentests durchgeführt. Abbildung 4.5 zeigt die Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate für die entsprechenden Zuckerkonzentrationen.

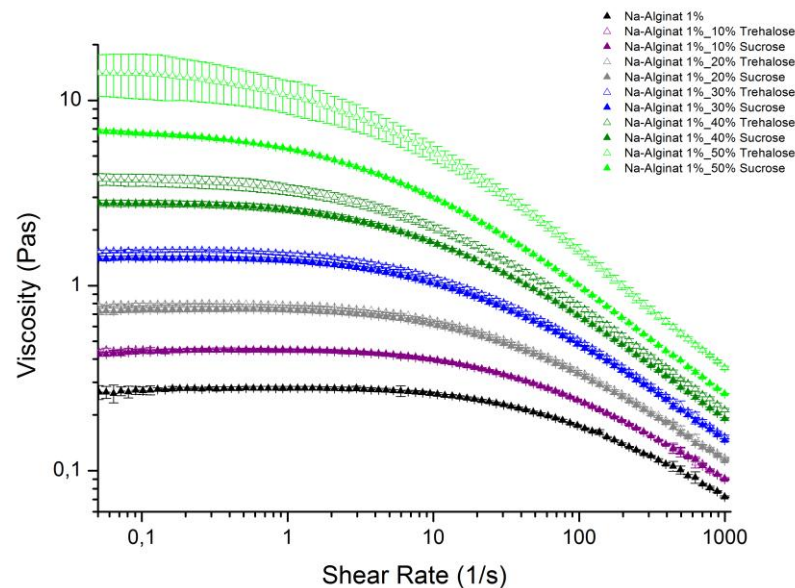


Abbildung 4.5 Logarithmische Darstellung der Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen die Alginatlösungen mit Saccharosezusatz und die nicht-ausgefüllten die mit Trehalosezusatz.

Deutlich ist hier die typische Form der Scherverdünnung mit wachsender Scherrate zu erkennen. Der Effekt der Scherverdünnung rührt vom Lösen der Verschlaufungen der Polymerketten her und wurde bereits unter Kapitel 2.3.2 erläutert. Auffallend ist hier allerdings, dass der Beginn der Scherverdünnung mit wachsender Zuckerkonzentration immer früher einsetzt. Des Weiteren wird eine deutliche Viskositätssteigerung mit wachsender Zuckerkonzentration sichtbar, sowie eine unterschiedlich starke Beeinflussung der Viskosität durch Saccharose und Trehalose. Auch PONGSAWATMANIT ET AL. (PONGSAWATMANIT, IKEDA, & MIYAWAKI, 1999) konnten diesen Effekt schon beobachten. Ab einem Zuckerzusatz von 30% w/w zeigt die Trehalose eine deutlich stärkere Erhöhung der Viskosität als die Saccharose, sowie eine ausgeprägtere Verkleinerung des Plateaus der Nullscherviskosität. Verdeutlicht wird dies in Abbildung 4.6 beim direkten Vergleich der Absolutwerte der Nullscherviskosität, sowie der Scherrate, bei der die Scherverdünnung beginnt. Die Nullscherviskosität wurde hier über die Mittelung

der gemessenen Viskositätswerte in einem Bereich, in dem deutlich das Plateau vorliegt, bestimmt. Der Beginn der Scherverdünnung wurde bei der Scherrate festgelegt, bei der es zu einem Abfall um 10% des vorher bestimmten Mittelwerts kommt.

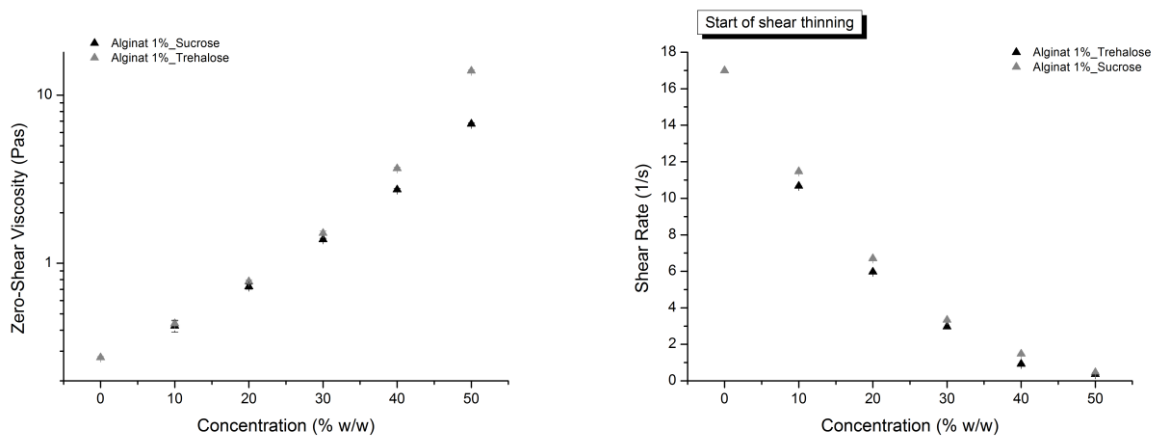


Abbildung 4.6 Links: Nullscherviskosität in Abhängigkeit der Zuckerkonzentration für die zwei unterschiedlichen Alginatssysteme; rechts: Scherrate, ab der die Scherverdünnung einsetzt, als Funktion der Zuckerkonzentration der unterschiedlichen Alginatlösungen. Schwarze Zeichen symbolisieren die Alginatlösungen mit Saccharosezusatz und grau die mit Trehalosezusatz.

Die Nullscherviskosität steigt hier von $\eta_0 = (0,275 \pm 0,004)$ Pas der reinen 1%-igen Alginatlösung auf $\eta_0 = (6,744 \pm 0,122)$ Pas für den Zusatz von 50% w/w Saccharose und auf $\eta_0 = (13,937 \pm 0,184)$ Pas für den Zusatz von 50% w/w Trehalose. Durch den Zusatz an 50% w/w Trehalose kann also mehr als das 60 fache an Viskosität gewonnen werden. Grund für die Viskositätszunahme mit wachsender Zuckerkonzentration liegt auch hier wieder in der effektiv vergrößerten Konzentration des Alginats. Zucker und besonders Trehalose noch stärker als Saccharose, binden die Wassermoleküle stärker als die Alginatmoleküle, was lokal zu einer Konzentrationserhöhung führt. Der Abstand zwischen den einzelnen Polymerketten wird so stark reduziert und die Verschlaufungen erhöht, dass die freie Mobilität der Polymerknäuel immer mehr eingeschränkt wird. Die innere Reibung der Lösung steigt und somit auch die Viskosität. Der Effekt der Scherverdünnung setzt ein, wenn die Scherrate größer ist als die Relaxationszeit, die es benötigt zur Wiederneubildung der Kettenverschlaufungen. Bei den hohen Zuckerzusätzen sind die Mobilität der Polymerketten und die Brown'sche Molekularbewegung so erschwert, dass schon kleine Scherraten ausreichen um die Verschlaufungen zu lösen ohne, dass sie zurück gebildet werden.

Die Ergebnisse der Ampiltudentests für die Alginatlösungen mit Saccharosezusatz (Abbildung 4.7) und Trehalosezusatz (Abbildung 4.8) werden im Folgenden diskutiert. Im Vergleich zu dem System aus Agarose wird hier direkt das Verhalten als Flüssigkeit durch das Dominieren von G'' über G' sichtbar.

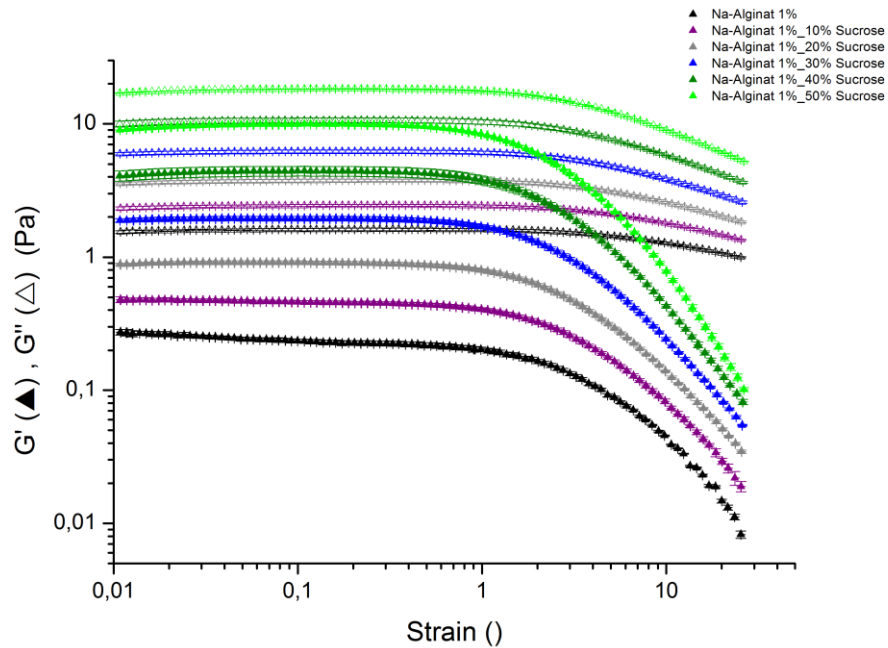


Abbildung 4.7 Logarithmische Darstellung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation ($strain$) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Alginat/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

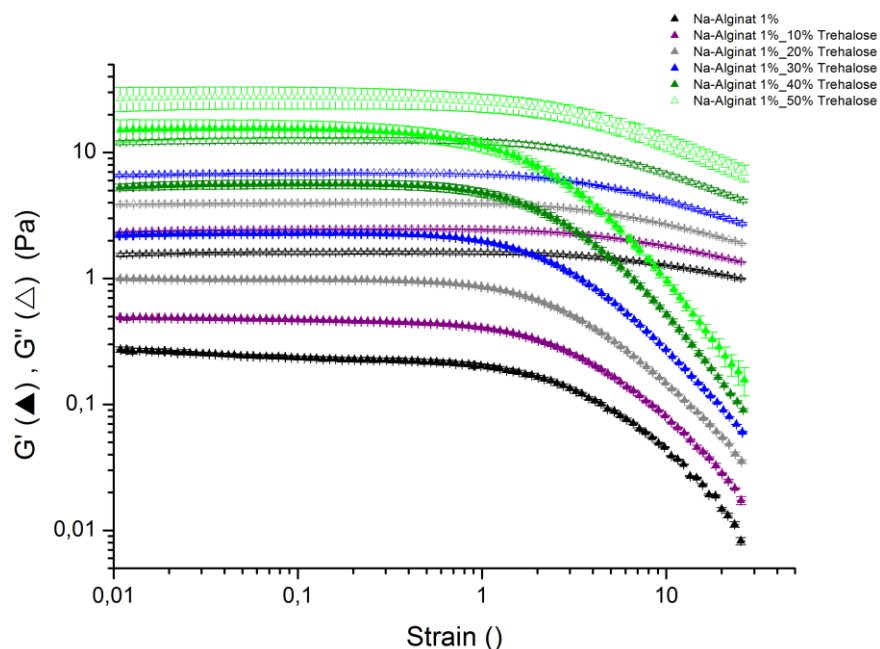


Abbildung 4.8 Logarithmische Darstellung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation ($strain$) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Alginat/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

Wie schon erwähnt handelt es sich bei diesem System um eine Lösung, bei der stets G'' über G' dominiert. Der LVE-Bereich kann bei beiden Alginat/Zuckersystemen durch den Abfall des elastischen Moduls G' bis zu einer Deformation von $\gamma = 1$ bestimmt werden. Mit wachsender Zuckerkonzentration kann hier eine Zunahme der Modulwerte für beide Systeme beobachtet werden. Der direkte Vergleich der Absolutwerte bei einer bestimmten Deformation im LVE-Bereich verdeutlicht diesen Anstieg, sowie den Unterschied der beiden Disaccharide.

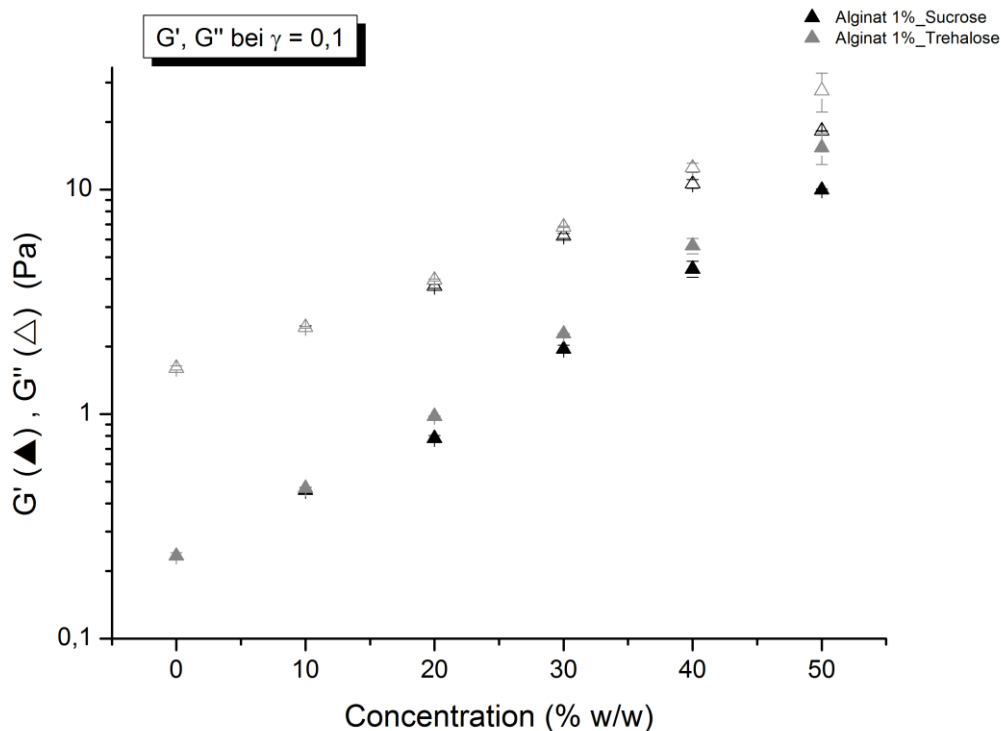


Abbildung 4.9 Elastischer G' und viskoser Modul G'' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation $\gamma = 0,1$ für beide Alginat/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbolen stehen für G' , die nicht-ausgefüllten für G'' , schwarz symbolisiert das Saccharosesystem und grau das Trehalosesystem.

Für beide Moduli ist ein Anstieg mit wachsender Zuckerkonzentration zu erkennen; die Modulwerte der reinen 1%-igen Alginatlösung mit $G' = (0,234 \pm 0,008)$ Pa und $G'' = (1,606 \pm 0,033)$ Pa steigen bei einem Zusatz von 50% w/w Saccharose auf $G' = (9,967 \pm 0,090)$ Pa und $G'' = (18,258 \pm 0,061)$ Pa, sowie für den Zusatz von 50% w/w Trehalose auf $G' = (15,402 \pm 2,462)$ Pa und $G'' = (27,576 \pm 5,405)$ Pa. Das heißt durch den Zusatz von 50% w/w Trehalose kann G'' um das 17-fache und G' sogar um das 66-fache gesteigert werden. Alginatlösungen zeigen also im Vergleich zu den Agarosegelen eine viel stärkere Beeinflussung durch den Zusatz von Disacchariden. Außerdem ist zu erkennen, dass die Differenz zwischen G' und G'' mit wachsender

Zuckerkonzentration abnimmt und der elastische Anteil der Probe sich immer mehr dem viskosen Anteil annähert. G' wächst mit wachsender Zuckerkonzentration schneller als G'' und die Probe nimmt immer mehr einen schwachen gelartigen Charakter ein. Der Zuckerzusatz beeinflusst also den elastischen Anteil der Alginatlösungen stärker als den viskosen Anteil. Durch die Hydratisierung der Zuckermoleküle in Lösung verringert sich die Wasseraktivität mit wachsender Zuckerkonzentration immer mehr und der Anteil an freien Wassermolekülen verringert sich. Folge ist eine lokal erhöhte Alginatkonzentration und eine Steigerung der Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung von Verknäulungen und Überlappungen der Polymerketten, was in einem Anstieg von G' und G'' resultiert. G' wird hierbei stärker beeinflusst, da durch den wachsenden Grad an Verknäulungen immer mehr Energie während der Deformation in dem System gespeichert werden kann.

4.1.4 Fließ- und viskoelastische Eigenschaften von Xanthandispersionen

Xanthan nimmt aufgrund seiner mechanischen Eigenschaften eine besondere Position unter den Nahrungszusatzstoffen ein. Schon bei geringen Xanthankonzentrationen können hochviskose Dispersionen erhalten werden, die ein gelartiges Verhalten bezüglich der viskoelastischen Eigenschaften zeigen. Um deren Veränderung durch den Zusatz von Saccharose und Trehalose zu studieren wurden auch hier 1%-ige Xanthandispersionen angesetzt, mit Zucker versetzt und Viskositäts- und Amplitudentests durchgeführt. In der folgenden Abbildung ist die Viskosität der verschiedenen Xanthansysteme gegen die Scherrate aufgetragen.

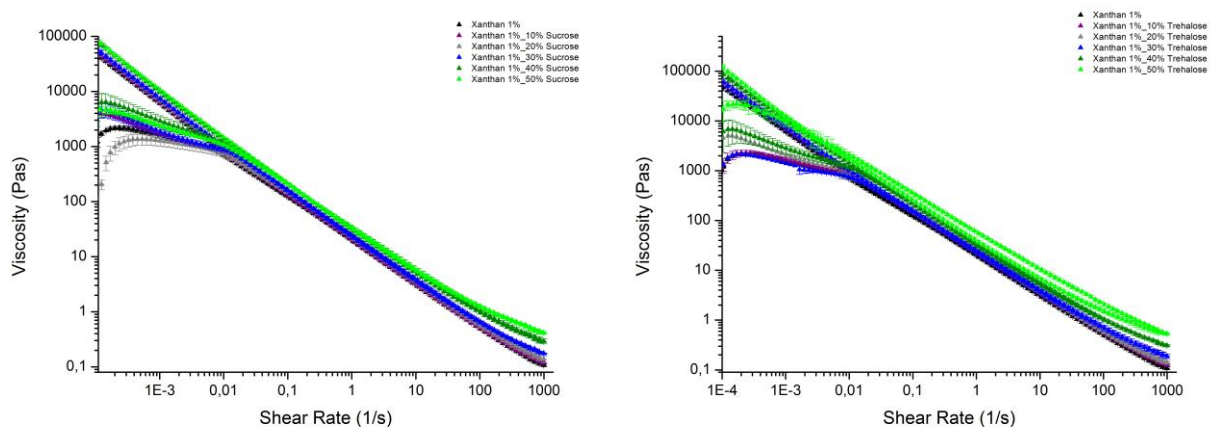


Abbildung 4.10 Logarithmische Auftragung der Viskosität als Funktion der Scherrate für links: das Xanthan/Saccharose-System und rechts: das Xanthan/Trehalose-System bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C.

Im Unterschied zu den Alginatlösungen wurde hier die Viskosität zunächst bei wachsender Scherrate und schließlich bei wieder abfallender Scherrate gemessen. Durch die molekulare Anordnung der Stäbchenmoleküle in der Lösung, brauchen diese nämlich zunächst eine gewisse Zeit zur Orientierung und zur Ausbildung eines laminaren Flusses. Dadurch entsteht der Knick in der Scherverdünnung und der zunächst langsamere Abfall der Viskosität mit wachsender Scherrate. Leider reicht der Scherratenbereich des verwendeten Rheometers nicht aus um das Plateau der Nullscherviskosität bzw. das in Kapitel 2.4.2 diskutierte zweite Plateau bei sehr großen Scherraten darzustellen. WYATT und LIBERATORE (WYATT & LIBERATORE, 2009) zeigten, dass dieser Bereich für 1%-ige Xanthanlösungen bei Scherraten weit unter 10^{-4} 1/s bzw. weit über 1000 1/s auftritt. Es konnte also nur das pseudoplastische Fließen im mittleren Scherratenbereich gemessen werden und die im Folgenden dargestellte Viskosität wurde deshalb als kleinster messbarer Wert bei der Messung mit abfallender Scherrate ausgewertet (WHITCOMB & MACOSKO, 1978).

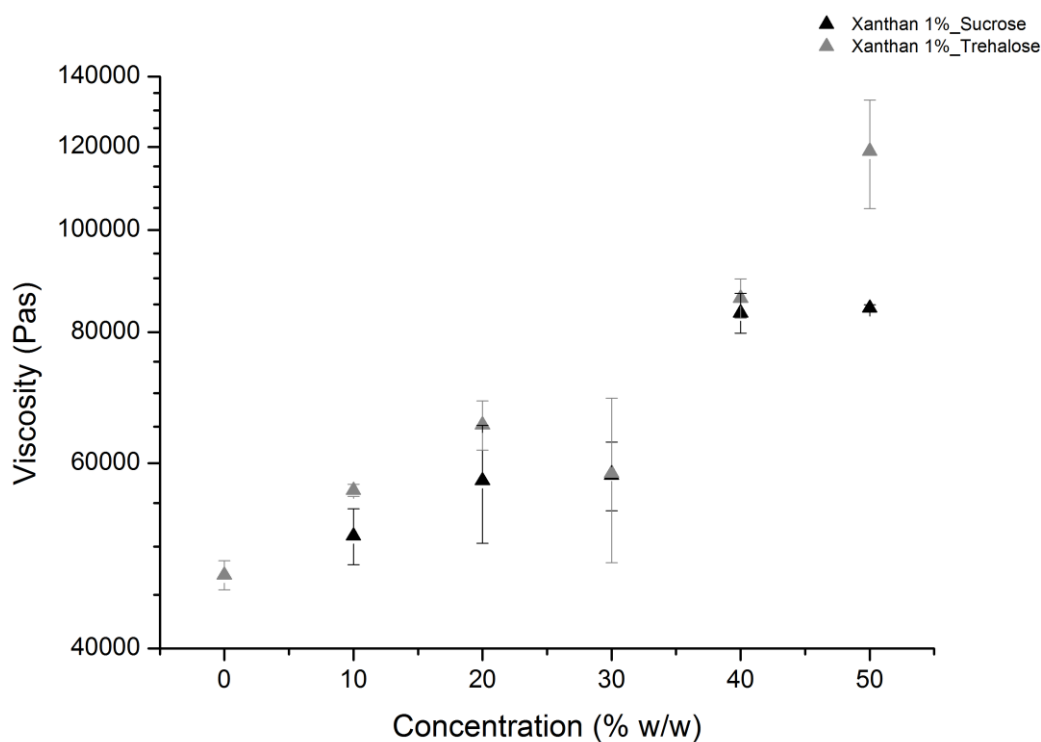


Abbildung 4.11 Viskosität der Xanthandispersionen in Abhängigkeit zur eingesetzten Zuckerkonzentration. Schwarze Zeichen symbolisieren den Zusatz von Saccharose und graue Zeichen den von Trehalose.

Auch hier kann wie bei den Alginatsystemen ein annähernd linearer Anstieg der Viskosität mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden. Jedoch fallen hier die Fehlergrenzen der einzelnen Messwerte viel größer aus, was auf die hohe Viskosität und folgende Inhomogenität zurück zu führen ist. Die Viskosität steigt hier von

$\eta_0 = (46985 \pm 1482)$ Pas ohne Zuckerzusatz auf $\eta_0 = (84328 \pm 610)$ Pas bei 50% w/w Saccharose und auf $\eta_0 = (118920 \pm 14075)$ Pas bei 50% w/w Trehalose. In Xanthandispersionen kann also durch den Zusatz von 50% w/w Disaccharid eine Viskositätssteigerung um fast 80% bei Saccharose und um mehr als 150% bei Trehalose verursacht werden. Die Messung bei abnehmender Scherrate erlaubt an dieser Stelle aber auch die Betrachtung der Relaxation einer Xanthandispersion nach großer Beanspruchung. Bei hoher Scherrate werden die Xanthanstäbchen gezwungen sich anzunähern und eine Vorzugsrichtung einzunehmen. Nimmt die Scherrate nun wieder ab, können sich die Xanthanstäbchen wieder voneinander entfernen und nehmen bei sehr kleinen Scherraten wieder ihre ursprüngliche anisotrope Anordnung ein, die durch die schon in Kapitel 2.4.2 erläuterte *jamming transition* vorgegeben wird. Eine höhere Viskosität wird hier durch stark verkeilte Xanthanstäbchen verursacht, die jeweils einen großen Platz einnehmen und der innere Fließwiderstand und innere Reibung des Systems sehr hoch sind. Sind diese Stäbchen noch parallel angeordnet, können sie einfacher aneinander vorbeigleiten und der Fließwiderstand ist herabgesetzt. Ein größerer Wert der in Abbildung 4.11 gemessenen und ausgewerteten Viskosität bedeutet also, dass die Xanthanstäbchen schneller die parallele Anordnung überwinden können und wieder die bevorzugte *jamming transition* einnehmen können. Mit wachsender Zuckerkonzentration wird die Relaxation aus der erzwungenen parallelen Anordnung zu der anisotropen Verteilung einfacher erreicht. Der stärkere Einfluss der Trehalose kann durch die bessere Fähigkeit Wassermoleküle anzulagern erklärt werden. Dadurch bilden sich um die Trehalosemoleküle größere Hydrathüllen, so dass das effektive Ausschlussvolumen der hydratisierten Trehalosemoleküle größer als das der hydratisierten Saccharosemoleküle ist. Dementsprechend nehmen die hydratisierten Trehalosemoleküle einen größeren Raum in der Dispersion ein und fördern die Behinderung der Xanthanstäbchen und die Relaxation zum *jamming*.

Xanthandispersionen verhalten sich bezüglich der viskoelastischen Eigenschaften wie schwache Gele und besitzen einen größeren elastischen Anteil als viskosen, was auch in den Messergebnissen der Amplitudentests beobachtet werden konnte.

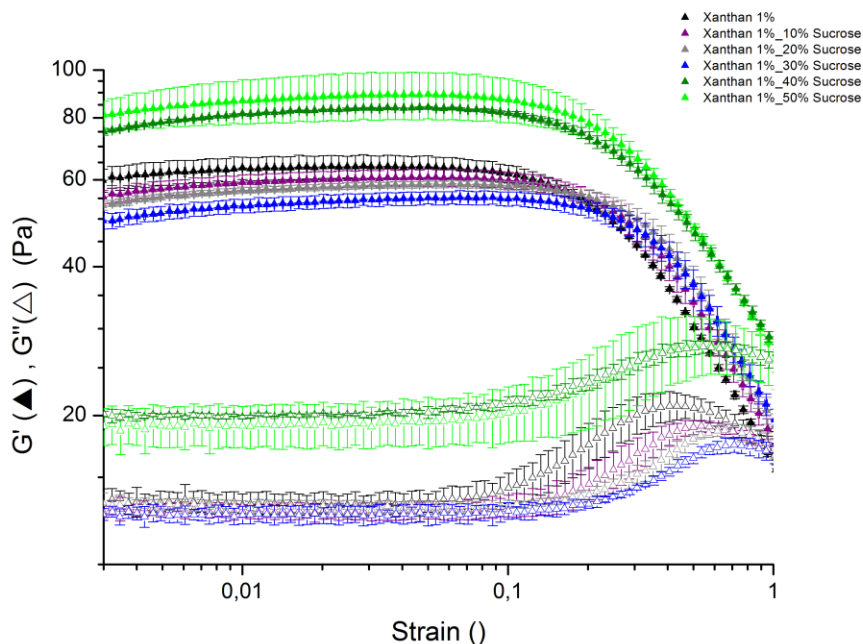


Abbildung 4.12 Logarithmische Auftragung des elastische G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Xanthan/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

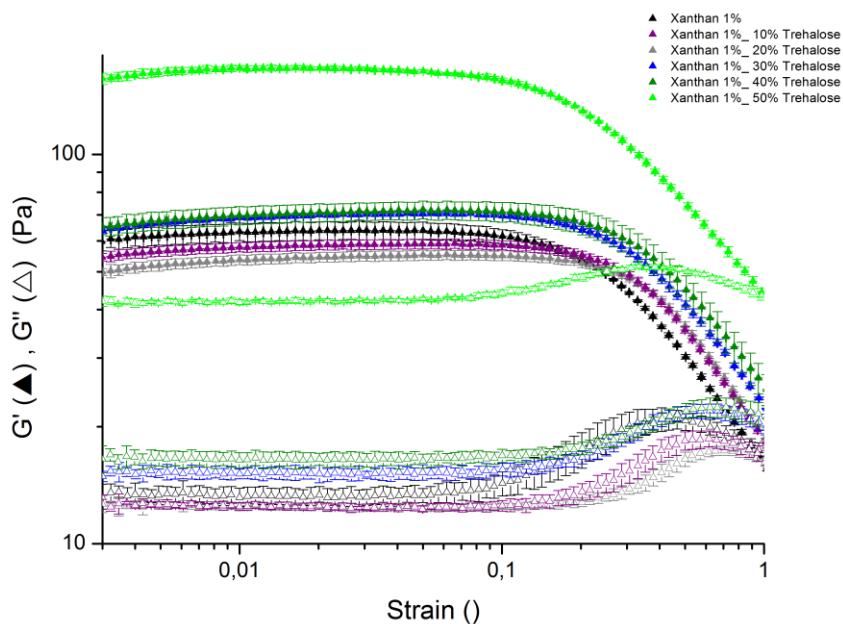


Abbildung 4.13 Logarithmische Auftragung des elastische G' und viskosen G'' Moduls als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Xanthan/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

Aus den obigen beiden Abbildungen kann für alle Systeme ein LVE-Bereich bis mindestens einer Deformation von 0,1 bestimmt werden, in dem G' als auch G'' einen konstanten Wert halten. Auch hier wird wie schon bei den Agarosegelen ein Maximum im Kurvenverlauf von G'' sichtbar. Anders als bei den Agarosegelen tritt hier der Anstieg von G'' jedoch relativ gleich mit dem Abfall von G' ein, sodass der folgende Abfall von G'' erst bei sehr großen Deformationen erfolgt. Dieser Verlauf von G' und G'' in Abhängigkeit von der Deformation konnte für das reine Xanthansystem auch schon von SONG ET AL. (SONG, KIM, & CHANG, 2006; SONG, KUK, & CHANG, 2006) dokumentiert werden. Bei kleinen Deformationsamplituden kann das Gleichgewicht zwischen strukturellen Zusammenbruch und der Neubildung des Systems der geordneten starren Kettenkonformationen noch aufrechterhalten werden. Wird die Deformationsamplitude jedoch weiter erhöht, wird dieses Gleichgewicht gestört, die Ordnung der Polymerketten zerstört und die elastische Antwort auf die Deformation zeigt ein nicht-lineares Verhalten, sichtbar im Abfall der G' -Kurve. Die zunächst ansteigenden G'' -Werte bei hoher Deformation kann durch das schwache gelartige Verhalten der Xanthandispersionen erklärt werden. Aufgrund der intermolekularen Wechselwirkungen bilden die Polymerketten eine geordnete, netzwerkartige Struktur, die eine gewisse Beständigkeit gegenüber der Deformation zeigt und die zur Umordnung Energie fordert. Dementsprechend kommt es zunächst zu einem Anstieg des Verlustmoduls, da Energie verloren geht. Erst ab einer zu hohen Deformation können die Strukturen nicht mehr standhalten, die Moleküle richten sich schon durch geringe Energieaufbringung nach der äußeren Kraft aus, der innere Fließwiderstand sinkt und die Werte von G'' fallen ab.

Vergleicht man die Absolutwerte des elastischen Moduls G' bei einer bestimmten Deformation innerhalb des LVE-Bereichs ergibt sich kein stetiger Anstieg der Modulwerte. Die Absolutwerte von G'' hingegen zeigen erst ab jeweils 30% w/w an Zuckerezusatz eine leichte Erhöhung und werden hier nicht weiter interpretiert; außerdem handelt es sich bei Xanthan um ein gelartiges Material ($G' > G''$) und die Interpretation der G' -Werte ist aussagekräftiger für die Materialeigenschaften.

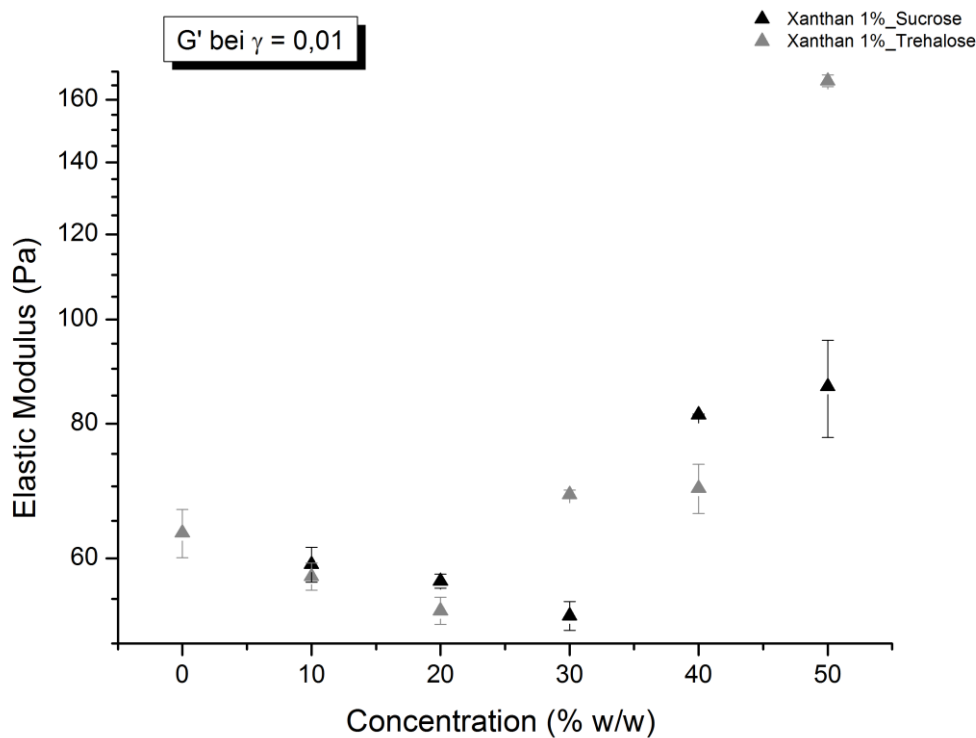


Abbildung 4.14 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen den Verlauf von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole den für den Zusatz von Trehalose.

Es ist deutlich zu erkennen, dass der elastische Anteil der 1%-igen Xanthandispersionen mit dem Zusatz an Disaccharid zunächst abfällt und schließlich wieder ansteigt. Bei der Zugabe von Saccharose befindet sich das G' -Minimum bei 30% w/w, bei dem Zusatz von Trehalose tritt dieses Minimum schon bei 20% w/w auf. Durch die Zugabe von Saccharose verringert sich zunächst der elastische Modul von $G' = (63,35 \pm 3,27)$ Pa auf $G' = (53,06 \pm 1,63)$ Pa bei 30% w/w Saccharose und steigt schließlich auf $G' = (86,68 \pm 8,97)$ Pa bei 50% w/w Saccharose wieder an. Man beobachtet also zunächst einen Abfall um etwa 16%, gefolgt von einem Anstieg um etwa 39 %. Bei dem Zusatz von Trehalose fällt der elastische Modul schon bei 20% w/w auf $G' = (53,64 \pm 1,55)$ Pa und steigt bei 50% w/w wieder auf $G' = (166,65 \pm 2,12)$ Pa an. Das heißt durch die Zugabe von nur 20% w/w Trehalose kann schon der Abfall um etwa 16% erreicht werden und die Zugabe von 50% w/w Trehalose führt schließlich zu einer Erhöhung um circa 68%. Dieser gegenläufige Verlauf von G' mit wachsender Zuckerkonzentration lässt zwei unterschiedliche Effekte in dem Xanthan/Zuckersystem vermuten. Zunächst führt der Zuckerzusatz zu einer Hinderung der sogenannten *jamming transition*, die schon in Kapitel 2.4.2 ausführlich erläutert wurde. Die Zuckermoleküle mit ihren mehr oder wenig stark ausgeprägten Hydrathüllen, lagern sich zwischen den Hydrokolloiden an und vergrößern den Abstand zwischen den stäbchenförmigen und

starren Xanthanmolekülen. Dadurch wird die elektrostatische Repulsion der einzelnen Stäbchen gemindert und die Mobilität der Moleküle weniger eingeschränkt. Das System der geordneten Stäbchen wird also destabilisiert, was in einer Abnahme des Speichermoduls G' sichtbar wird. Ab einer kritischen Zuckerkonzentration überwiegt jedoch ein anderer Effekt, der auch schon bei den Alginat/Zuckersystemen, sowie Agarose/Zuckersystemen beobachtet werden konnte. Der hohe Zusatz an Zuckermolekülen verringert die Menge an verfügbaren Wassermolekülen, was zu einer scheinbar höheren Konzentration an Xanthan in dem System führt. Zucker und besonders die Trehalose stärker als die Saccharose, haben ein ausgeprägteres Wasserbindungsvermögen als die Hydrokolloide, sodass die Hydrathüllen bevorzugter um die Zuckermoleküle gebildet werden. Dadurch werden die Hydrathüllen um die Xanthanmoleküle geringer und die Xanthanstäbchen rücken gegen die elektrostatische Abstoßung wieder weiter zusammen. Die gegenseitige Beeinflussung der Moleküle durch elektrostatische Repulsion nimmt zu, so dass die Stäbchen in ihrer willkürlichen Position eingefroren werden, aber durch die erhöhte Konzentration jetzt noch schwerer gegeneinander verschiebbar sind. Folglich stabilisiert sich das System der geordneten Polymerketten, bei einer Deformation kann mehr Energie gespeichert werden und der elastische Anteil der Struktur nimmt zu. Bei dem Zusatz von Trehalose findet dieser Anstieg von G' schon bei einer geringeren Konzentration statt, da hier die Wasserbindung der Zuckermoleküle stärker ist und die effektive Konzentration an Xanthan entsprechend früher erhöht wird. In den Xanthan/Zuckersystemen konkurriert also je nach Zuckerkonzentration ein sterischer Effekt mit einem Konzentrationseffekt.

4.1.5 Viskoelastische Eigenschaften der Mischsysteme

Im Folgenden sollte nun untersucht werden, wie sich die viskoelastischen Eigenschaften der Agarosegele nicht nur durch den Zusatz der verschiedenen Disaccharide verändern, sondern noch zusätzlich durch die Versetzung mit den entsprechenden Alginat/Zuckersystemen bzw. Xanthan/Zuckersystemen. Es erfolgte also die Mischung des typischen Gelbildners Agarose mit einem Verdickungsmittel, Alginat, sowie einem schwachen Gelbildner, Xanthan. Durch die Mischung der verschiedenen Hydrokolloide sollen beispielsweise die Brüchigkeit, das Mundgefühl, Wasserbindung und andere Materialeigenschaften der Agarosegele verbessert werden. Die ternären Systeme aus Agarose-Alginat/Disaccharid bzw. Agarose-Xanthan/Disaccharid wurden hier zunächst durch Amplitudentests analysiert. Alle Systeme basieren auf einem 1-1-Mischungsverhältnis zwischen den jeweiligen Hydrokolloiden, so dass jede Mischung aus insgesamt 1% w/w Polymer besteht. In der folgenden Abbildung sind die Verläufe des elastischen Moduls in Abhängigkeit von der Deformation für die Gele ohne Zuckerzusatz aus 1% w/w Agarose, 0,5% w/w Agarose, 1% w/w Agarose-Alginat und 1% w/w Agarose-Xanthan gegenüber gestellt.

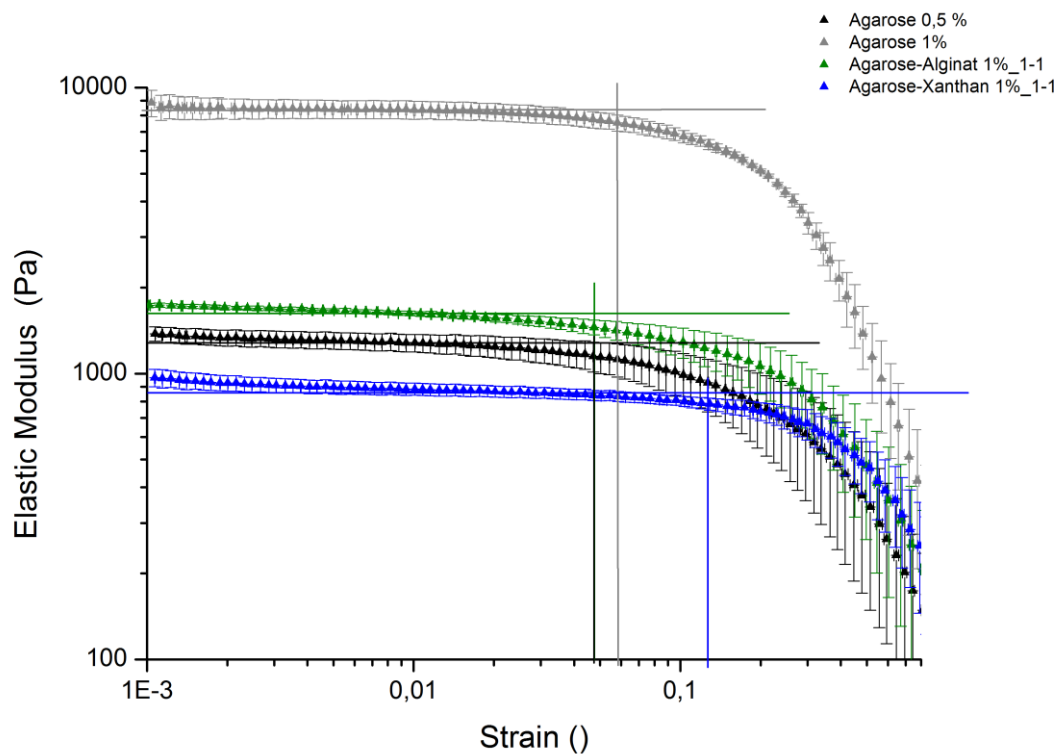


Abbildung 4.15 Logarithmische Auftragung des elastischen Moduls G' als Funktion der Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C der reinen Agarosegele und der Mischsysteme mit Alginat bzw. Xanthan.

Um diese vier Systeme miteinander zu vergleichen wurde zunächst die Größe des LVE-Bereichs der einzelnen Gele bestimmt. Dazu wurde der Mittelwert von G' bei einer festen Deformation von $\gamma = 0,01$ bestimmt und die Grenze des LVE-Bereichs auf den Abfall von 10% dieses Wertes festgelegt. In der obigen Darstellung ist diese Grenze durch die eingezeichneten Linien erkennbar. So konnte die Grenze des LVE-Bereichs für die Mischung Agarose-Xanthan bei einer Deformation von 0,111 gefunden werden, für das 1%-ige Agarosegel bei 0,058 und bei dem 0,5%-igem Agarosegel, sowie bei der Mischung Agarose-Alginat bei 0,047. Des Weiteren werden deutliche Unterschiede in den Absolutwerten von G' bei der Deformation von $\gamma = 0,01$ sichtbar. Für das 1%-ige Agarosegel beträgt der Mittelwert $G' = (8347,50 \pm 602,61)$ Pa, für das 0,5%-ige Agarosegel $G' = (1281,05 \pm 90,61)$ Pa, für die Mischung Agarose-Alginat kann ein Mittelwert von $G' = (1616,43 \pm 29,21)$ Pa bestimmt werden und für die Mischung Agarose-Xanthan $G' = (883,32 \pm 43,24)$ Pa.

Zunächst ist deutlich zu erkennen, dass die Mischungen mit Alginat bzw. Xanthan, trotz 1%-igem Gewichtsanteil an Polymer insgesamt nicht so elastische Gele wie 1% w/w Agarosegele bilden, was aber trivialer Weise auf die fehlende Fähigkeit des Alginats und Xanthans feste Gele auszubilden, zurückzuführen ist. Deshalb wurde hier der Vergleich mit einem 0,5% w/w Agarosegel aufgezeigt. Hier kann beobachtet werden, dass

die Mischung mit Xanthan kleinere Werte des elastischen Moduls im Vergleich zu dem reinen Agarosegel aufweist und die Mischung mit Alginat größere. Die weniger elastischen und instabileren Systeme durch die Mischung mit Xanthan können durch die in der Xanthandispersion auftretende *jamming transition* verursacht werden.

Da die Mischungen aus schon vorher angesetzten Xanthandispersionen hergestellt wurden, ist die Diffusion und Beweglichkeit der Agarosemoleküle in der Mischung stark eingeschränkt. Beim Aufheizen der Mischung wird zwar die Agarose in Lösung gebracht, auf die vorher angesetzten Xanthandispersionen hat die Temperaturerhöhung jedoch keinen Einfluss. In den Xanthandispersionen hat sich ab einer bestimmten Konzentration schon eine geordnete Struktur der starren Xanthanstäbchen ausgebildet, die die Diffusion der Agarosehelices erschwert. Dadurch finden weniger Agarosehelices bei der Gelbildung zusammen und es bilden sich weniger Verknüpfungszonen aus den aggregierten Agarosehelices. Als Folge bilden sich nach dem Aushärten weniger elastische und instabile Agarosenetzwerke. Durch die Mischung mit Alginat können elastischere und stabilere Gele gewonnen werden. Da die Struktur der Alginatlösung nur aus beweglichen ineinander verknäulten Polymerketten besteht, ist hier die Diffusion der Agarosehelices nicht weiter eingeschränkt. Bei der Gelbildung bilden sich wie gewohnt die Aggregate aus mehreren Agarosehelices, die durch die freien Polymerketten das dreidimensionale Netzwerk ausbilden. Zusätzlich können sich in den Maschen des Netzwerkes die verknäulten Polymerketten des Alginats anlagern und quellen diese auf (vergleiche Kapitel 2.6). Durch die eingelagerten Alginatpolymerketten erhält das Agarosenetzwerk mehr Stabilität und kann mehr Energie während einer Deformation speichern.

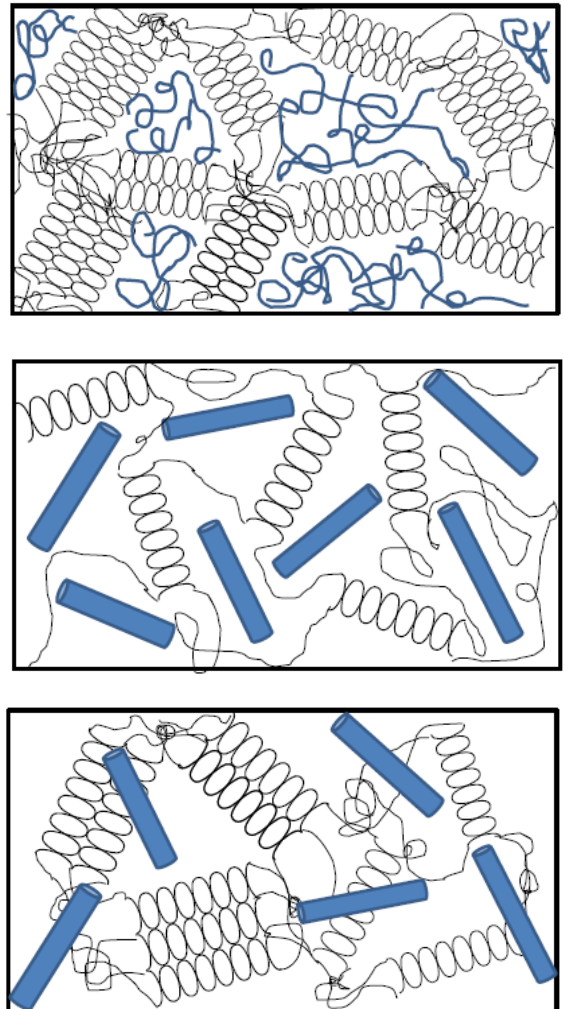


Abbildung 4.16 Oben: Modellvorstellung der Netzwerkbildung in der Agarose-Alginat-Mischung, Mitte: Modellvorstellung der Polymerverteilung vor dem Gellieren in der Mischung Agarose-Xanthan, Unten: Modellvorstellung der Netzwerkbildung in der Agarose-Xanthan-Mischung. Die schwarzen Helices und Linien symbolisieren jeweils die Agarose, die blauen Verschlaufungen Alginat (oben) und die blauen Zylinder die Xanthanstäbchen (mitte, unten).

Die Mischung Agarose-Xanthan kann aber im Vergleich zu der Mischung Agarose-Alginat bzw. dem reinen Agarosenetzwerk höheren Deformationen standhalten (verlängerter LVE-Bereich). Dies lässt sich dadurch erklären, dass sich die starren Xanthanstäbchen um das Agarosenetzwerks anlagern und dort ihre „eingefrorenen Anordnung“ (*jamming transition*) erfahren. Um das Netzwerk der Agarosemoleküle zu zerstören muss also zunächst sehr viel Energie aufgebracht werden, um die verkeilten Xanthanmoleküle zum Fließen zu bringen. In dieser Mischung werden also aufgrund der verringerten Diffusion der Agarosehelices weniger Verknotungspunkte im Netzwerk gebildet und ein weniger stark ausgebildetes Netzwerk entsteht. Die wenigen ausgebildeten Netzwerkmaschen werden aber durch die darum liegenden verkeilten und starren Xanthanstäbchen noch stärker stabilisiert als durch die innen liegenden verknäulten Alginatketten, da diese mehr Energie benötigen um den Fließwiderstand zu überwinden.

Agarose-Alginat/Zuckersystem

Die Agarosegele versetzt mit Alginat und Zucker ergaben homogene und transparente Mischungen. Bei einem Zusatz von 40% w/w Trehalose zeigten die Gele schon die Bildung von Zuckerkristallen, weshalb diese bei den Amplitudentests nur bis zu einer geringen Deformation von $\gamma = 0,0008$ vermessen werden konnten. Im Folgenden sind die Ergebnisse dieses Tests dargestellt.

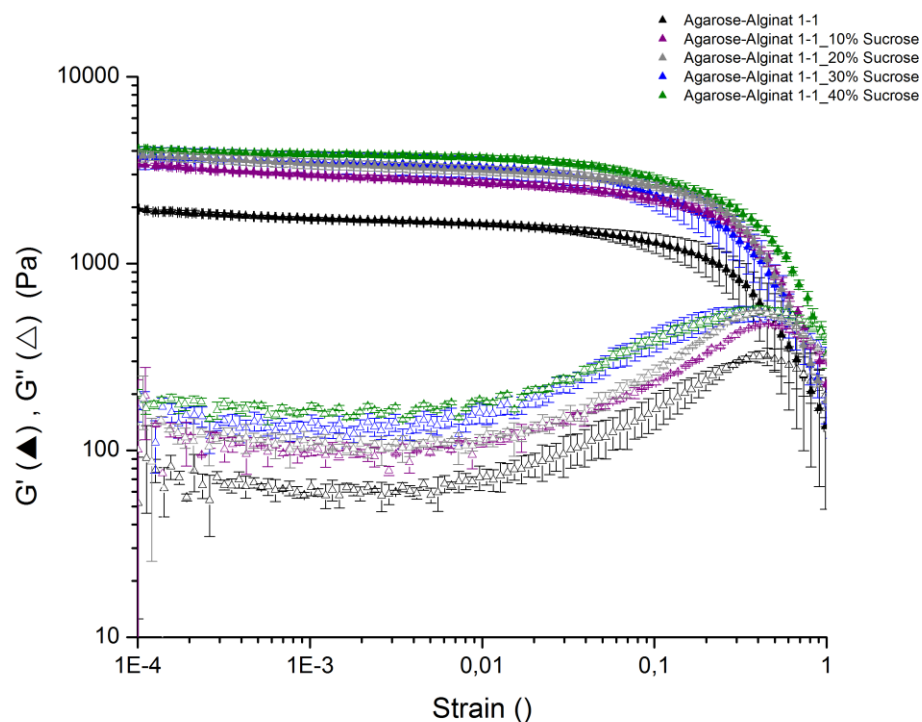


Abbildung 4.17 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Alginat/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

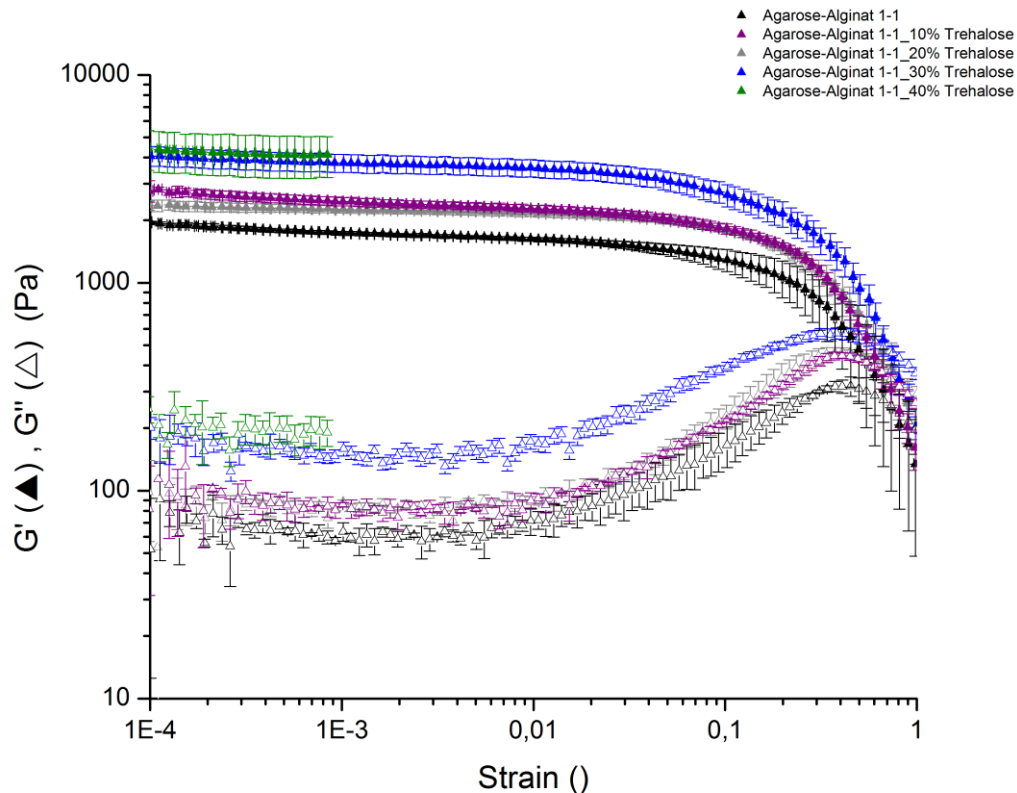


Abbildung 4.18 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Alginat/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

Der LVE-Bereich kann in beiden Systemen bis zu einer Deformation von etwa 0,05 beschrieben werden und wird wie auch schon in dem reinen Agarosesystem durch den Anstieg der G'' -Kurve begrenzt. In Abbildung 4.19 ist die Änderung des elastischen Moduls G' in Abhängigkeit von der jeweiligen Zuckerkonzentration bei einer festen Deformation von $\gamma = 0,01$ verdeutlicht. Im Vergleich zu dem reinen Agarosegel kann hier auch ein annähernd linearer Anstieg des elastischen Moduls mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden. Dieser steigt von $G' = (1616,43 \pm 29,21)$ Pa auf $G' = (3674,13 \pm 127,89)$ Pa bei einem Zusatz von 40% w/w Saccharose und auf $G' = (3547,78 \pm 340,97)$ Pa schon bei einer Zugabe von nur 30% w/w Trehalose. Allerdings fallen hier die Fehlerbalken sehr viel größer aus, was durch den viel weicheren Charakter der Proben und der damit verbundenen Schwierigkeit beim Finden des optimalen Gaps erklärt werden kann. Ein zu starkes oder zu schwaches Zusammendrücken der Probe bei der Einstellung des Gaps können hier schon enorme strukturelle Veränderungen hervorrufen. Es fällt jedoch auf, dass in dem Mischsystem der Zusatz von 40% w/w Saccharose bereits mehr als eine Verdopplung des elastischen Anteils bewirkt, was in dem reinen Agarosegel erst bei 50% w/w Saccharose verursacht wird.

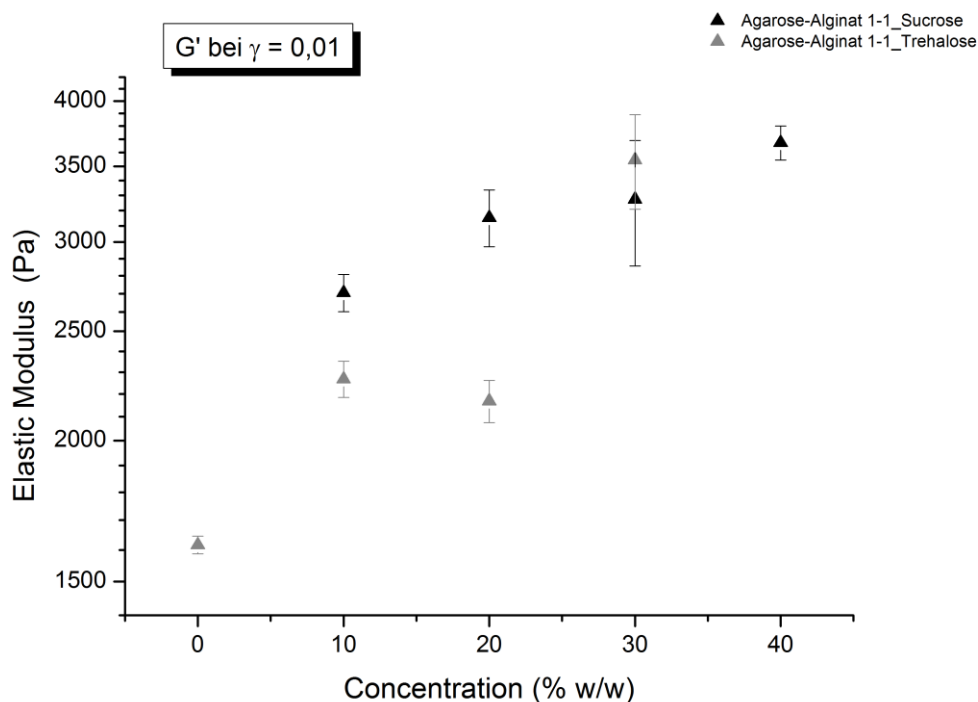


Abbildung 4.19 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen den Verlauf von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole den für den Zusatz von Trehalose.

Der zugesetzte Zucker beeinflusst also die molekulare Struktur der Agarose-Alginat-Gele bedeutend stärker als die der reinen Agarosegele. Wie schon in Kapitel 4.1.3 gezeigt werden konnte hat der Zuckerzusatz in der Alginatlösung einen sehr großen Einfluss. Die Zuckermoleküle stabilisieren die Verknüpfungen der einzelnen Polymerketten untereinander und erhöhen so den elastischen Anteil des Systems. Da sich diese Alginatketten zwischen die Maschen des Agarosenetzwerks legen, sorgt die Zuckerstabilisierung der Alginatketten auch für eine Stabilisierung des Agarosenetzwerks. Je elastischer und fester die Netzwerkmaschen gefüllt sind, desto elastischer lässt sich das gesamte System auch deformieren. Die stärkere Beeinflussung des Agarose-Alginat-Systems durch die Zuckerzugabe im Vergleich zum reinen Agarosesystem lässt sich also primär durch die stabilisierende Beeinträchtigung der Verknüpfungen der Alginatketten erklären.

Agarose-Xanthan/Zuckersystem

Im Vergleich zu den Agarose-Alginat/Zuckergelen zeigten die Agarose-Xanthan/Zuckergele eine sichtbare Inhomogenität. Auch hier konnten die Gele mit dem Zusatz von 40% w/w an Trehalose nicht weiter als bis zu einer Deformation von 0,0015 vermessen werden, da bereits auskristallisierte Zuckerkristalle zu große Störungen verursachten. Die Messergebnisse des Amplitudenteste für die unterschiedlichen Systeme können in den folgenden Abbildungen betrachtet werden.

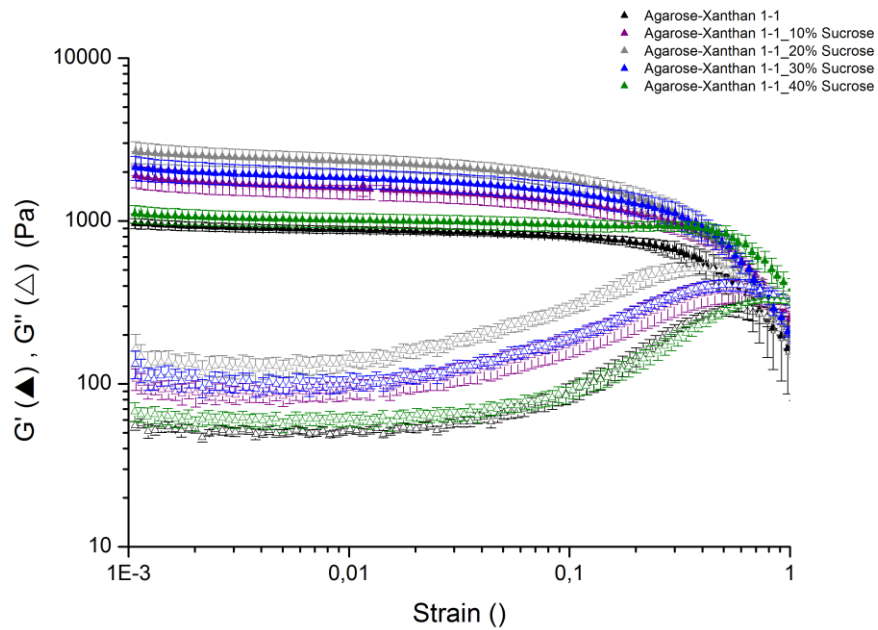


Abbildung 4.20 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation ($strain$) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Xanthan/Saccharose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

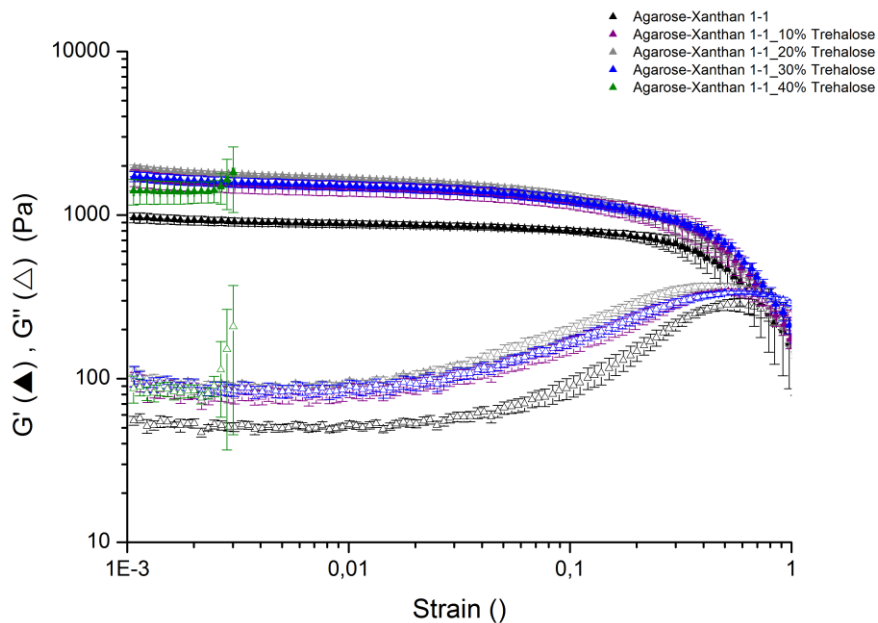


Abbildung 4.21 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation ($strain$) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C für das Agarose-Xanthan/Trehalose-System. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' .

Deutlich ist auch hier wieder die schon zuvor diskutierte Form der G'' -Kurve zu erkennen. Im Vergleich zu den Xanthandispersionen nimmt dieser Verlauf aber eher die Form der Agarosegele an, was darauf schließen lässt, dass Agarose der dominantere Strukturgeber in dem Mischsystem ist. Die Darstellung von G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation verdeutlicht wieder dessen Änderung.

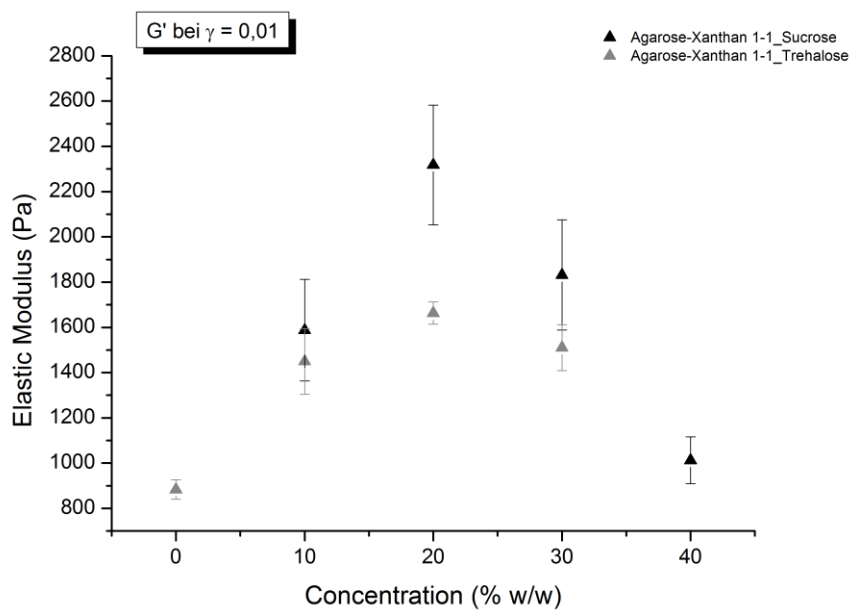


Abbildung 4.22 Elastischer Modul G' in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei einer bestimmten Deformation von $\gamma = 0,01$. Die schwarzen Symbole zeigen den Verlauf von G' für den Zusatz von Saccharose und die grauen Symbole den für den Zusatz von Trehalose.

Auch hier fallen die Fehlerbalken größer aus, aber eine Tendenz der G' -Änderung mit wachsender Zuckerkonzentration kann erkannt werden. Zunächst steigt G' bis zur Zugabe von 20% w/w an Saccharose, sowie an Trehalose von $G' = (883,32 \pm 43,24)$ Pa auf $G' = (2317,86 \pm 264,46)$ Pa bei Saccharose und auf $G' = (1663,28 \pm 49,16)$ Pa bei Trehalose an. Dann fällt G' wieder auf $G' = (1012,50 \pm 103,31)$ Pa bzw. $G' = (1510,12 \pm 101,58)$ Pa ab und erreicht für die Zugabe von 40% w/w Saccharose mit seinen Fehlergrenzen wieder fast den Ausgangswert. Bemerkenswerter Weise kann in diesem System bereits durch die Zugabe von 20% Saccharose eine Vergrößerung von G' um mehr als 160% erreicht werden und zeigt somit eine noch ausgeprägtere Beeinflussung durch die zugesetzten Zuckermengen. Mit zu hohem Zuckerzusatz (40% w/w) kann hingegen kaum noch ein Einfluss auf den elastischen Modul erkannt werden. Der enorme Anstieg von G' bis 20% Zuckerzusatz kann durch den geringeren Anteil an Wasser und der damit verbundenen Erhöhung der effektiven Konzentration an Agarose und Xanthan begründet werden. Außerdem hemmen die Zuckermoleküle die starre Orientierung der Xanthanstäbchen, weshalb durch einen Zuckerzusatz

die Immobilisation der Xanthanmoleküle abnimmt und die gesamte Mischung besser von den Agarosehelices durchwandert werden kann. Bei hohen Temperaturen steigt die Wahrscheinlichkeit, dass Agarosehelices aggregieren können und es bilden sich elastischere und festere Gele aus. Steigt der Zuckergehalt nun noch weiter an ist der Wasseranteil so gering, dass die Durchmischung der Komponenten nicht mehr homogen gewährleistet werden konnte und sehr inhomogene und instabile Gele resultierten. Bei 40% w/w Trehalose kristallisierte diese nur an manchen Stellen aus, was auch ein Indiz für eine unzureichende Homogenität der Mischung darstellte. Beim Zusammendrücken der Gele konnte stellenweise ein Herausfließen von nicht im Netzwerk eingebundenem Xanthan beobachtet werden. Dementsprechend lässt der Abfall von G' bei hohen Zuckerkonzentrationen keinen physikalischen Hintergrund erahnen.

4.1.6 Genauere Betrachtung des Zuckereinflusses

Um nun genau die strukturelle Änderung des Systems durch die Zuckerzugabe zu studieren und den Effekt der effektiven Konzentrationserhöhung an Hydrokolloiden durch den Wassermangel auszuschließen, wurden im Folgenden alle vorher vorgestellten Systeme nochmal mit erhöhter Hydrokolloidkonzentration vermessen. Die Konzentration an Hydrokolloid wurde dabei so angepasst, dass sie vergleichbare Werte mit den hochkonzentrierten Zucker-Wasser-Systemen einnehmen. Wird nämlich 40% w/w an Zucker dem System zugeführt verringert sich der Wasseranteil so stark, dass sich die eigentliche Konzentration an Hydrokolloid auf 1,68% w/w erhöht. Die Messergebnisse der 1,68%-igen Hydrokolloidlösungen und -gele im Vergleich mit den entsprechenden 1%-igen Systemen sind in Abbildung 4.23 dargestellt. Betrachtet man dabei den Mittelwert des elastischen Moduls G' jeweils bei einer bestimmten Deformation kann Folgendes für die unterschiedlichen Systeme zusammengefasst werden:

Agarose, $\gamma = 0,01$:

$$G'_{1,68\%} \gg G'_{40\%Trehalose} \geq G'_{40\%Saccharose} > G'_{1\%}$$

Alginat, $\gamma = 0,1$:

$$G'_{40\%Trehalose} > G'_{40\%Saccharose} > G'_{1,68\%} \gg G'_{1\%}$$

Xanthan, $\gamma = 0,01$:

$$G'_{1,68\%} \gg G'_{40\%Saccharose} \geq G'_{40\%Trehalose} \geq G'_{1\%}$$

Agarose-Alginat, $\gamma = 0,01$:

$$G'_{1,68\%} > G'_{40\%Saccharose} > G'_{1\%}$$

Agarose-Xanthan, $\gamma = 0,01$:

$$G'_{1,68\%} \gg G'_{40\%Saccharose} \approx G'_{1\%}$$

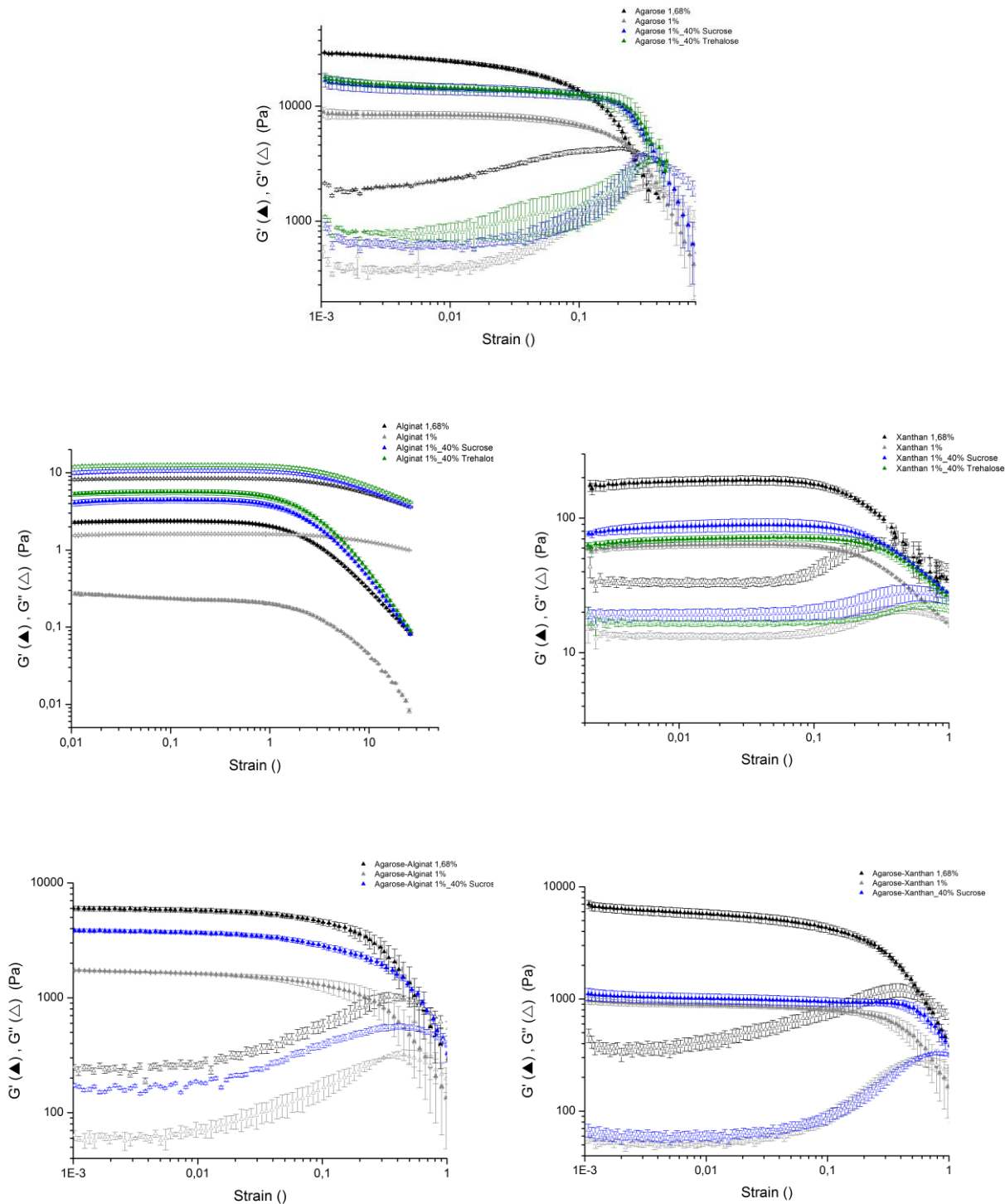


Abbildung 4.23 Logarithmische Auftragung des elastischen G' und viskosen G'' Moduls gegen die Deformation (*strain*) bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Temperatur $T = 25$ °C. Ausgefüllte Symbole bezeichnen G' und nicht-ausgefüllte Symbole G'' . Im Vergleich sind jeweils die wässrigen Systeme mit 1,68% w/w und 1% w/w Hydrokolloidkonzentration gegenüber den 1%-igen Hydrokolloidsysteme mit 40% w/w Zuckeranteil dargestellt.

Durch diesen Vergleich kann eindeutig bestimmt werden durch welche Effekte die vorher beschriebenen Änderungen der viskoelastischen Eigenschaften in den verschiedenen Hydrokolloidsystemen hervorgerufen werden. Durch die Zugabe von hohen Zuckerkonzentrationen konkurrieren in jedem System immer zwei Effekte miteinander, die eine Erhöhung des elastischen Anteils bewirken können. Zum einen kommt es immer aufgrund des verringerten Wasseranteils zu einer effektiv erhöhten Hydrokolloidkonzentration, wodurch die Polymer-Polymer-Wechselwirkungen im System verstärkt werden. Zum anderen können die Zuckermoleküle aber auch tatsächlich in die molekulare Struktur eingreifen und die mehr oder weniger ausgeprägte Netzwerkbildung beeinflussen. Durch den Vergleich mit den höher konzentrierten Hydrokolloidsystemen kann der Effekt des Wassermangels ausgeschlossen werden und der direkte Einfluss des Zuckers auf das System begutachtet werden.

Bei dem Agarosesystem wird ersichtlich, dass der elastische Modul G' des hochkonzentrierten Gels viel höhere Werte liefert als die Gele mit einem 40% w/w-Anteil an Zucker. Daraus lässt sich schließen, dass der zugesetzte Zucker eine destabilisierende Wirkung auf das System hat und die unter Kapitel 4.1.2 beschriebene Erhöhung des Speichermoduls mit wachsender Zuckerkonzentration nur durch den Effekt des Wassermangels hervorgerufen wurde. Eine mögliche Ursache für den destabilisierenden Effekt der Zuckermoleküle könnte sein, dass diese die Mobilität der Polymerketten verringern und so die Aggregation der einzelnen Agarosehelices zu den Verknüpfungszonen des Netzwerks erschweren.

Alginate hingegen zeigt ein gegenläufiges Verhalten. Hier nimmt der elastische Anteil der Systeme mit 40%-igem Zusatz höhere Werte als das hochkonzentrierte wässrige System ein. Die Zuckermoleküle stabilisieren das System aus verknäulten und verhakteten Polymerketten also zusätzlich. Ein möglicher Ansatz zur Erklärung dieses Verhaltens könnte die schon in Kapitel 4.1.2 diskutierte Funktion der Zuckermoleküle als Vermittler sein. Da die Zuckermoleküle durch ihre Hydroxylgruppen zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen befähigt sind, können diese die Annäherung von Polymerketten begünstigen und so die Verknäulungsdichte in der Lösung erhöhen.

Bei Xanthan kann der unter Kapitel 4.1.4 schon beschriebene Effekt des Zuckers bestätigt werden. Da die Fähigkeit Energie bei einer Deformation zu speichern in der hochkonzentrierten Dispersion viel höher ist als in den Dispersionen mit 40% w/w Zuckersatz kann den Zuckermolekülen definitiv eine destabilisierende Wirkung des Systems zugesprochen werden. Dies lässt sich durch die Hinderung der sogenannten *jamming transition* beschreiben. Durch die Zuckermoleküle vergrößert sich der Abstand zwischen den einzelnen Xanthanstäbchen, so dass deren gegenseitige Beeinflussung weniger stark ausfällt.

In dem Mischsystem aus Agarose-Alginat kann ebenfalls eine leicht destabilisierende Wirkung des Zuckers beobachtet werden. Die zugesetzten Zuckermoleküle stabilisieren zwar die Verschlaufungen der Polymerketten des Alginats, die Ausbildung des Agarosenetzwerks wird hingegen gehemmt. Da das Agarosenetzwerk in dieser Mischung der Hauptstrukturgeber ist und die elastischen Eigenschaften vorgibt, ist der Einfluss des Zuckers auf das Gesamtsystem leicht destabilisierend.

Der Zuckereinfluss in dem Mischsystem Agarose-Xanthan ist wie beim reinen Xanthan und reinem Agarosegel sehr stark ausgeprägt und nimmt auch hier eine destabilisierende Position ein. Auf reine Xanthandispersionen haben Zuckermoleküle aufgrund der Hemmung der *jamming transition* einen stark destabilisierenden Einfluss, sowie auf reine Agarosegele, verankert in der Verminderung der Aggregation der Agarosehelices. Dementsprechend konkurrieren hier keine gegenläufigen Auswirkungen des Zuckerzusatzes und die gesamte Auswirkung auf das Agarose-Xanthan-System fällt stark destabilisierend aus.

4.1.7 Temperaturabhängige Messungen

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der temperaturabhängigen Oszillationsmessungen bei einer konstanten Frequenz $\vartheta = 1$ Hz, sowie jeweils einer konstanten Deformation präsentiert. Die flüssige und erhitzte Probe wurde dabei zunächst von 80 °C auf 20 °C mit einer Abkühlrate von 1 K/min abgekühlt und schließlich wieder mit 1 K/min auf 95 °C aufgeheizt und dabei die viskoelastischen Eigenschaften verfolgt. Bei niedrigen Temperaturen zeigen stabile Gele $G' > G''$ bzw. $\tan \delta < 1$, also Gel-Charakter. Bei hohen Temperaturen erweichen die Gele und nehmen einen flüssigen Charakter mit $G'' > G'$ bzw. $\tan \delta > 1$ ein. Bei dem hier zunächst erfolgten Abkühlprozess kann der Gelpunkt T_{gel} , also der Punkt an dem der Sol-Gel-Übergang stattfindet, dort gefunden werden, wo $G' = G''$ bzw. $\tan \delta = 1$ vorliegt und ein plötzlicher Anstieg der Werte von G' und G'' beobachtet werden kann.

Zunächst sind in folgender Abbildung der elastische G' und viskose Modul G'' in Abhängigkeit von der Temperatur bei einer konstanten Deformation und Frequenz für die Lösungen und Dispersionen aus Alginat bzw. Xanthan mit jeweiligem Zusatz von 20% bzw. 40% w/w Saccharose und 20% bzw. 40% w/w Trehalose dargestellt. Die schwarzen Kurven zeigen jeweils das reine 1%-ige Alginat- bzw. Xanthansystem, die unterschiedlich graugefärbten Kurven geben jeweils den Verlauf von 20% w/w Saccharose bzw. Trehalose wieder und die blaugefärbten Kurven den von 40% w/w Saccharose bzw. Trehalose. Auf die Fehlerbalken wurde in allen Darstellungen der Messergebnisse dieses Abschnittes zu Gunsten der Übersichtlichkeit verzichtet und nur der Mittelwert einer Dreifachbestimmung abgebildet.

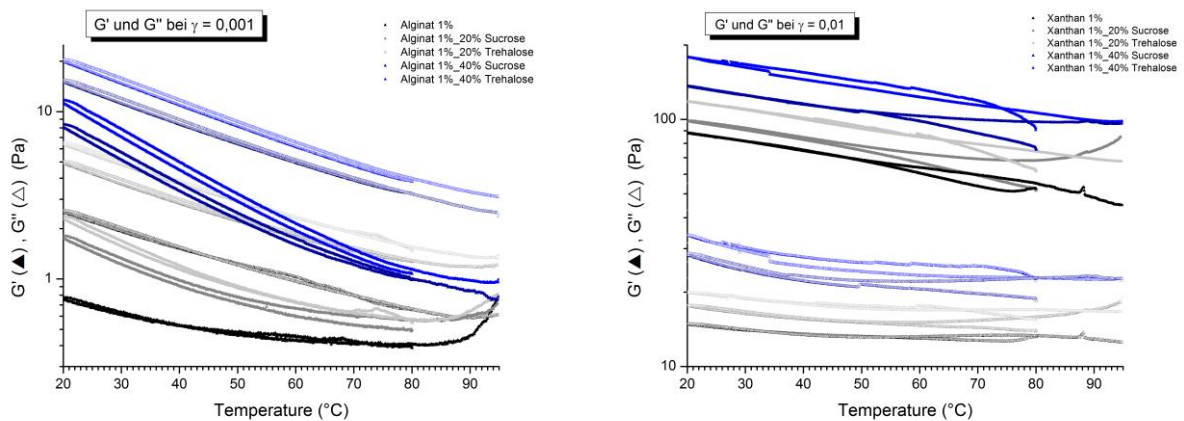


Abbildung 4.24 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation (*strain*). Links: das Alginat/Zuckersystem und rechts: das Xanthan/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht-gefüllten Symbole G'' .

Zunächst ist in beiden Systemen kein Überkreuzungspunkt der G' - und G'' -Kurve zu erkennen, was trivialerweise auf das Fehlen der Gelbildungsfähigkeit zurückzuführen ist. Die 1%-ige Xanthandispersion zeigt unabhängig von Menge und Art des zugesetzten Zuckers keine große Veränderung der Werte von G' und G'' mit der Temperatur. Mit wachsender Temperatur kann eine geringe Abnahme des elastischen Moduls beobachtet werden. Dies basiert auf einem geringen Verlust der geordneten Struktur durch die Energiezufuhr. Genauere Betrachtungen der thermischen Eigenschaften von Xanthandispersionen in salzfreier und salzhaltiger Umgebung wurden von LEE und BRANT durchgeführt (LEE & BRANT, 2002). Eine größere Abhängigkeit der viskoelastischen Eigenschaften mit der Temperatur kann in dem Alginatsystem begutachtet werden. Mit wachsender Zuckerkonzentration nimmt G' mit abnehmender Temperatur immer steiler zu und die schon unter Kapitel 4.1.3 diskutierte Annäherung von G' an G'' wird immer ausgeprägter. Grund für die Abnahme des elastischen Anteils mit wachsender Temperatur kann durch die steigende Brown'sche Molekularbewegung bei hoher Temperatur erklärt werden. Bei hoher Temperatur ist die Bewegung der Polymerketten so hoch, dass sich keine konstante Verknäulungsdichte der Ketten einstellt und der elastische Anteil abnimmt. Dieses Verhalten lässt sich auch einfach über den entropieelastischen Charakter der Alginatlösungen erklären. Mit wachsender Temperatur steigt die Entropie des Systems und die Polymerketten gehen aus der mehr oder weniger stark gestreckten Form in die entropisch-günstige Knäuelkonformation über. Die Verschlaufungen der einzelnen Ketten untereinander nehmen ab und das gesamte System kann bei gegebener Deformation weniger Energie speichern. Der steile Abfall des elastischen Moduls mit zunehmender Temperatur bei hohem Zuckerzusatz weist auf eine Temperaturabhängigkeit der stabilisierenden Wirkung der Verknäulungsdichte durch den Zusatz an Zucker

hin. Über Wasserstoffbrückenbindungen können die Zuckermoleküle den Abstand zwischen den Alginatketten verkleinern und erhöhen somit die Verknäulungsdichte. Gera-ten diese Alginatketten jedoch mit wachsender Temperatur immer mehr in Bewegung, können die Wasserstoffbrückenbindungen zu den Zuckermolekülen nicht mehr aufrecht gehalten werden und der elastische Anteil des Systems nimmt ab.

Zur Bestimmung der Geltemperatur T_{gel} der Agarosegele und der Mischgele wurde stets die Temperatur ausgewertet, bei der $\tan \delta = \frac{G''}{G'} = 1$ wird. Diese Auswertungsmethode wurde auch schon von LABROPOULOS ET AL. vorgeschlagen (LABROPOULOS, NIESZ, DANFORTH, & KEVREKIDIS, 2002). Da die Sensitivität des verwendeten Rheometers jedoch limitiert ist und der elastische Modul erst beim Überschreiten eines gewissen Spannungswiderstandes gemessen werden konnte, traten bei den sehr flüssigen Proben enorme Abweichungen vom theoretischen Verhalten auf. Diese Proben zeigten beim Abkühlen keinen Überkreuzungspunkt der G' - und G'' -Kurve mit abnehmender Temperatur, sondern nur einen parallelen Verlauf und somit keine Temperatur mit $\tan \delta = \frac{G''}{G'} = 1$. Dieses Verhalten wurde am KIT in Karlsruhe mit einem hochsensitiven Rheometer überprüft und kann im Anhang erfolgt werden. Durch diese Vergleichsmessungen konnte gezeigt werden, dass der mit dem *Gemini 200* Rheometer gemessene Kurvenverlauf von G' bei sehr dünnflüssigen Proben nicht real ist. Abbildung A.1 zeigt im oberen Temperaturbereich eine deutliche Differenz der G' -Kurven für die unterschiedlichen Messgeräte. Um trotzdem einen Gelpunkt bei solchen Proben zu bestimmen, wurde eine lineare Regressionsgerade an den plötzlichen Abfall des $\tan \delta$ mit abnehmender Temperatur gelegt, schließlich auf einen Wert von 1 extrapoliert und dort die Temperatur bestimmt. Damit die verschiedenen Systeme und deren Geltemperaturen miteinander vergleichbar sind, wurde die Bestimmung von T_{gel} so bei allen Proben durchgeführt, auch wenn ein Überkreuzungspunkt von G' und G'' zu beobachten war. In der folgenden Abbildung ist diese Bestimmung des Gelpunktes exemplarisch für das reine 1%-ige Agarosesystem vorgeführt und kann für alle anderen Systeme im Anhang studiert werden.

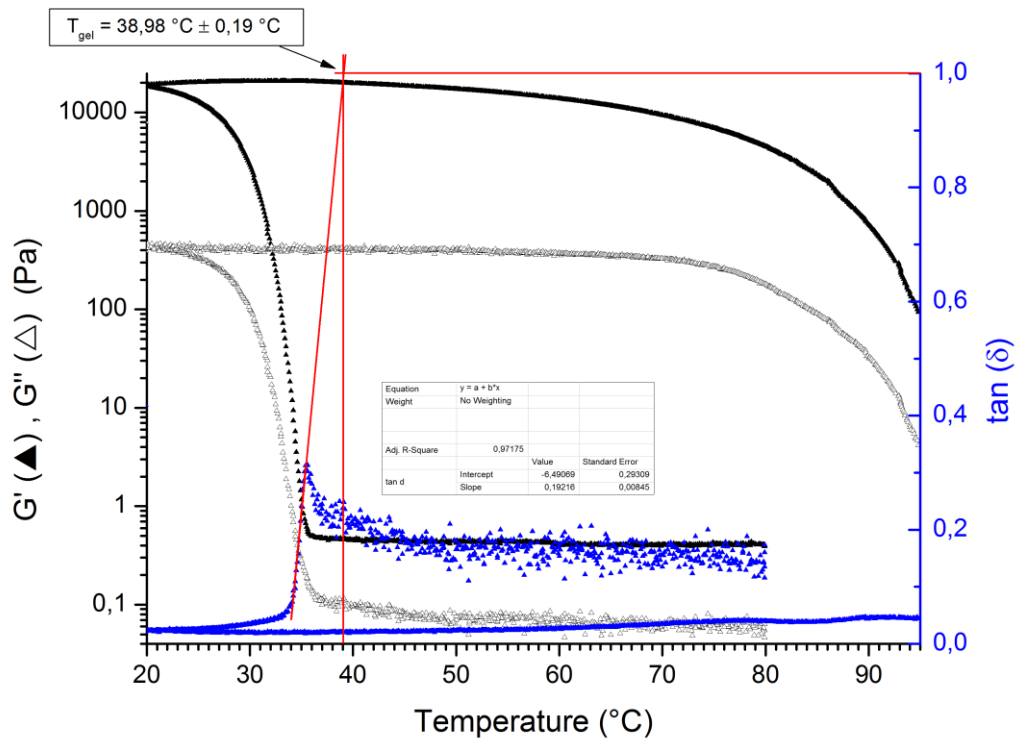


Abbildung 4.25 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan \delta$ als Funktion der Temperatur für 1%-ige Agarose. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgerade und den Schnittpunkt mit der Abszisse bzw. Ordinate.

Für 1%-ige Agarose mit 20% bzw. 40% w/w an Saccharose und Trehalose konnte die in Abbildung 4.26 dargestellte Abhängigkeit der Moduli von der Temperatur mit entsprechenden Geltemperaturen gefunden werden.

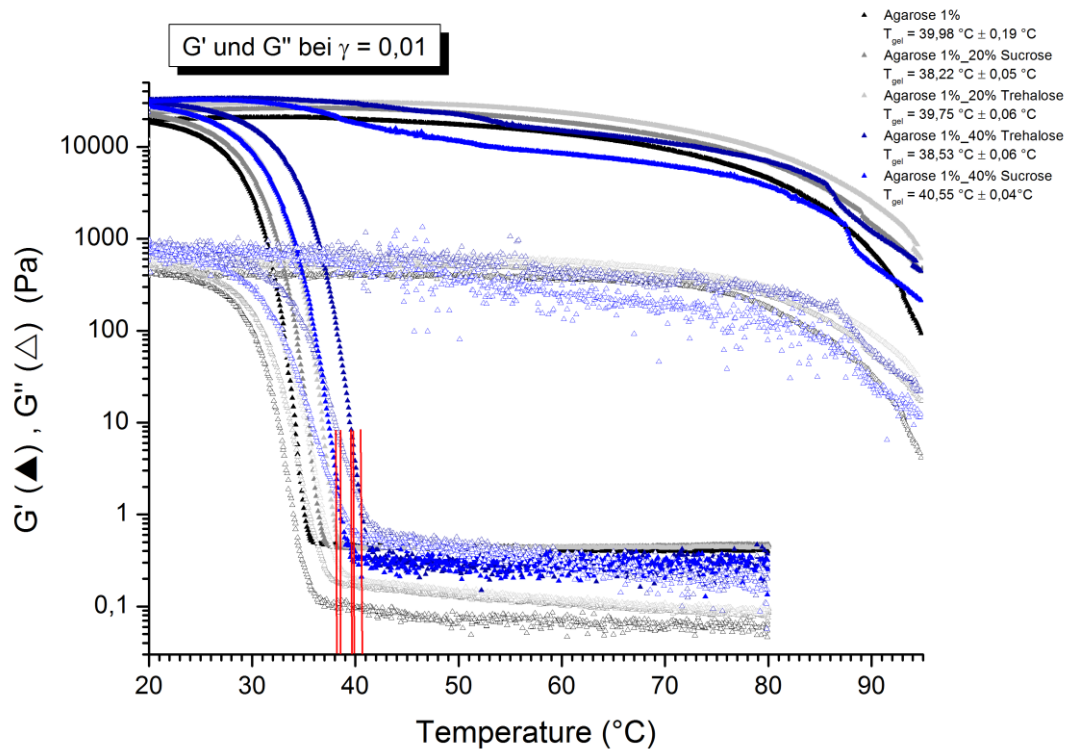


Abbildung 4.26 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und konstanter Deformation $\gamma = 0,01$ (*strain*) für das Agarose/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht ausgefüllten Symbole G'' . Die roten Geraden verdeutlichen den theoretischen Überkreuzungspunkt von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur.

Sehr deutlich wird hier und in allen folgenden Abbildungen das Phänomen der thermischen Hysterese. Beim Abkühlen der Probe kann ein ganz anderer Verlauf von G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur als beim Wiederaufheizen der ausgeleiterten Gele beobachtet werden. Das gebildete dreidimensionale Netzwerk aus aggregierten Agarosehelices erfordert zum Wiederlösen beim Schmelzen der Gele eine viel größere Energie als beim Aushärten der Gele durch die gebildeten Wasserstoffbrückenbindungen frei wurde. Die Temperaturen des Gelpunkts und Schmelzpunkts fallen deshalb nicht zusammen und das Schmelzen der Gele findet erst bei sehr viel höheren Temperaturen statt. In der obigen Abbildung kann dies daran erkannt werden, dass beim Wiederaufheizen die Werte von G' und G'' nur sehr langsam abnehmen und auch kein erneuter Überkreuzungspunkt der beiden Funktion beobachtet werden kann. Der Zusatz von Zucker zeigt hier keinen besonderen Einfluss auf die thermische Stabilität und der qualitative Verlauf der Kurven beim Aufheizen der Gele zeigt ähnliches Verhalten. Man kann jedoch erahnen, dass die Kurven mit hohem Zuckerzusatz geringfügig unter denen ohne bzw. mit geringerem Zuckerzusatz verlaufen, was auf einen abnehmende thermische Stabilität mit wachsender Zuckerkonzentration sprechen würde.

In Abbildung 4.27 kann der entsprechende Verlauf für das Agarose-Alginat-System und die gefundenen Gelierungstemperaturen begutachtet werden.

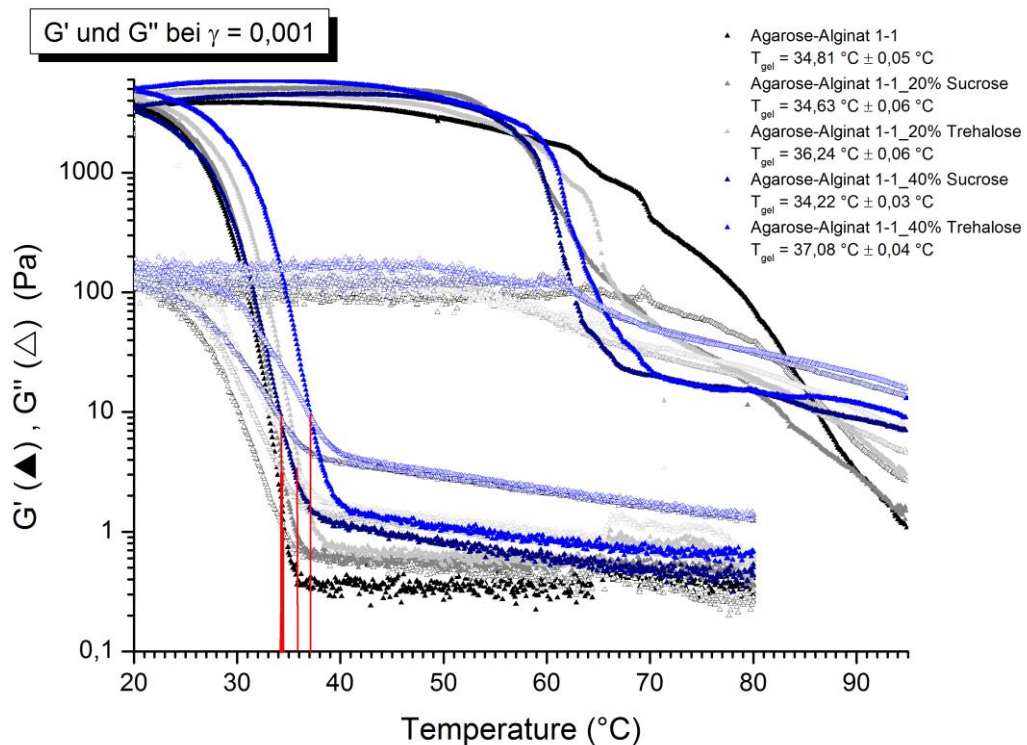


Abbildung 4.27 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für das Agarose-Alginat/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht ausgefüllten Symbole G'' . Die roten Geraden verdeutlichen den theoretischen Überkreuzungspunkt von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur.

Im Vergleich zu dem Agarose/Zuckersystem ergibt sich in der Mischung mit Alginat eine deutliche Veränderung beim Wiederaufheizen der Proben. Schon bereits ohne den Zusatz an Zucker fängt die Funktion $G'(T)$ bei etwa 62 °C an stetig abzufallen und beschleunigt diesen Abfall mit wachsender Zuckerkonzentration enorm. Die thermische Stabilität der Agarose-Alginat/Zuckergele scheint also mit wachsender Zuckerkonzentration abzunehmen. Der Unterschied in der thermischen Stabilität des reinen Agarosegels und der Mischung mit Alginat erklärt sich durch die geringeren Agarosekonzentration und der daraus resultierenden weniger elastischen und stabilen Gele. Wie in Abbildung 4.24 zu erkennen ist, nimmt G' der reinen Alginatlösungen mit wachsender Zuckerkonzentration bei hohen Temperaturen schneller ab als ohne Zuckerzusatz. Nimmt die Temperatur in den Agarose-Alginat-Gelen zu, nimmt der elastische Anteil der in den Agarosenetzwerkmaschen eingeschlossenen Alginatketten mit wachsender Zuckerkonzentration schneller ab und der Widerstand des Netzwerks, sich bei Wärmezufuhr zu lösen, dementsprechend ab.

Die Bestimmung der Geltemperatur in dem Mischsystem aus Agarose-Xanthan konnte aufgrund des schwachen Gelcharakters des Xanthans nicht auf die vorher beschriebene Vorgehensweise bestimmt werden. Da hier schon bei sehr hohen Temperaturen G' stets über G'' dominiert, kann kein Schnittpunkt der Moduli beobachtet werden. Der genaue Gelierungspunkt der Agarose ließ sich deshalb nur schwer ermitteln. Um trotzdem einen Punkt auszuwerten, wurde auch hier der Kurvenverlauf des $\tan \delta$ in Abhängigkeit der Temperatur zur Hilfe genommen. Dieser zeigt beim Abkühlen der Probe eine Abnahme mit näherungsweise zwei unterschiedlichen Steigungen. Der Übergang zwischen beiden Steigungen fällt genau mit dem plötzlichen Anstieg von G' und G'' zusammen und zeigt somit den Beginn der Gelierung der Agarose an. Durch das Anlegen von zwei linearen Regressionsgeraden und der Bestimmung deren Schnittpunktes wurde dieser für das System Agarose-Xanthan als Gelierungstemperatur bestimmt. Die Vorgehensweise ist in Abbildung 4.28 für das reine Agarose-Xanthan-System gezeigt und kann für alle anderen Agarose-Xanthan-Systeme im Anhang weiter verfolgt werden.

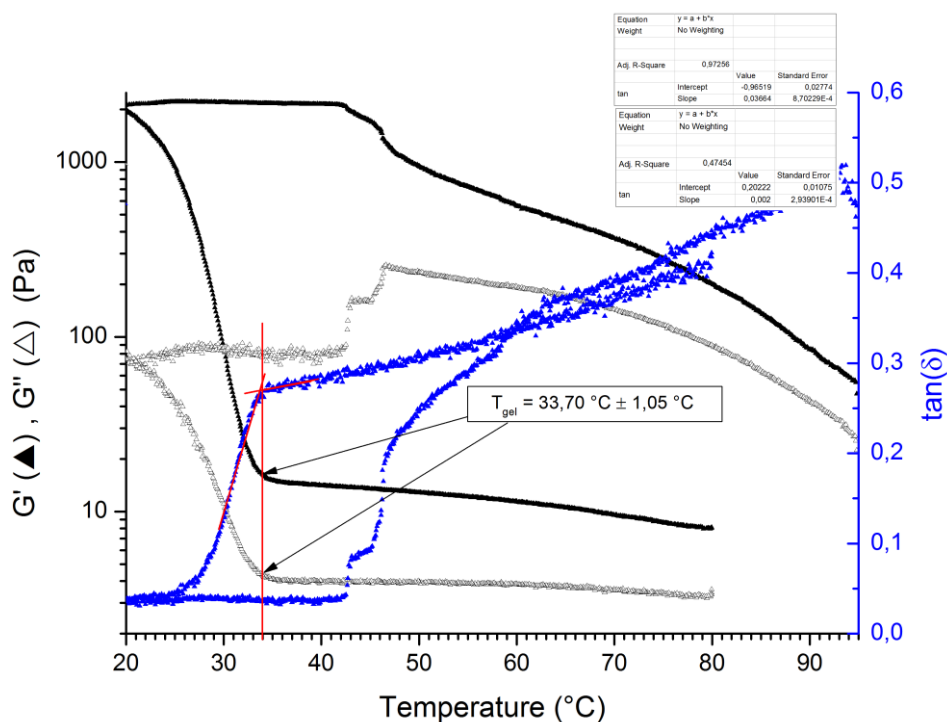


Abbildung 4.28 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan \delta$ als Funktion der Temperatur für das 1%-ige Agarose-Xanthan-System. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgeraden und deren Schnittpunkt.

Die Änderung des Verlaufs der G' - und G'' -Kurven und der Gelierungstemperatur durch den Zusatz von 20% bzw. 40% w/w an Saccharose und Trehalose für das Agarose-

se-Xanthan/Zuckersystem wird in Abbildung 4.29 gezeigt. Auch hier kann beim Wiederaufheizen der gelierten Proben ein Unterschied zu den reinen Agarosegelen, sowie den Mischungen mit Alginat beobachtet werden.

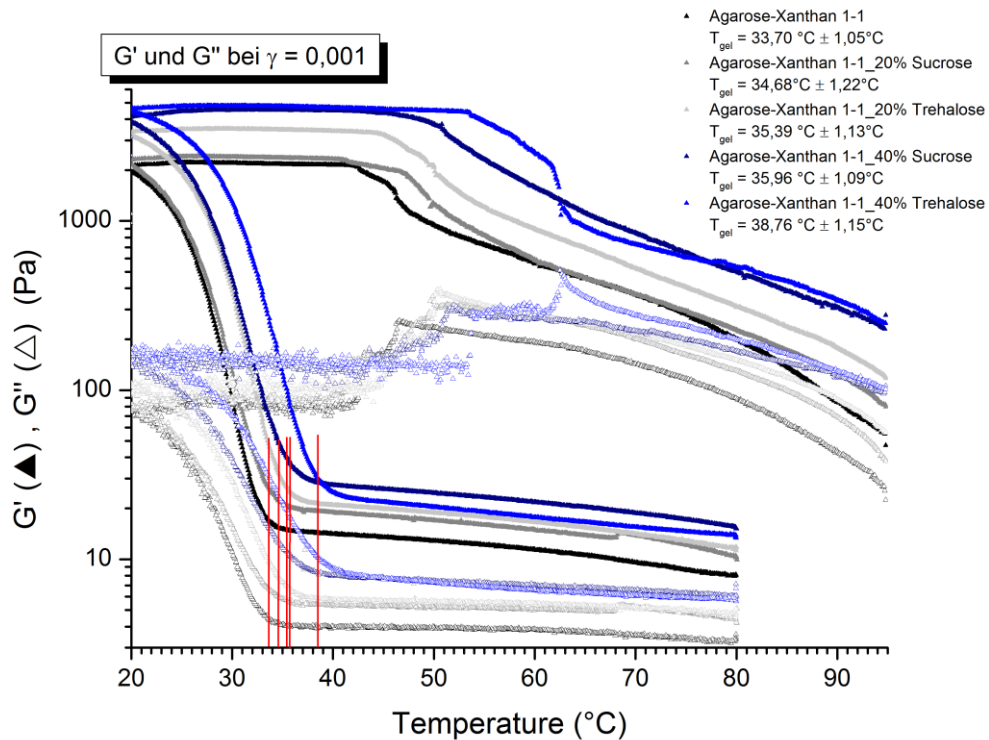


Abbildung 4.29 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für das Agarose-Xanthan/Zuckersystem. Die ausgefüllten Symbole bezeichnen jeweils G' und die nicht-gefüllten Symbole G'' . Die roten Geraden verdeutlichen den Anstieg von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur.

Ohne Zuckerzusatz kann hier schon ein Abfall des elastischen Moduls bei 42 °C vermutet werden. Jedoch scheint hier die thermische Stabilität mit wachsender Zuckerkonzentration zuzunehmen, da sich der Abfall von $G'(T)$ mit wachsender Zuckerkonzentration zu höheren Temperaturen verschiebt. Im Vergleich zu der Mischung mit Alginat bilden sich mit Xanthan weniger elastische und stabile Gele aus, siehe 4.1.5, die entsprechend eine geringere thermische Stabilität aufweisen. Die reine Xanthandispersion zeigt keine Temperaturabhängigkeit, jedoch wird mit wachsender Zuckerkonzentration wie in Kapitel 4.1.4 gezeigt die *jamming transition* verringert. Bei hohen Temperaturen gelingt es den Agarosehelices sich also wesentlich besser in einer weniger gehemmten Dispersion aus Xanthan mit Zuckerzusatz zu bewegen und die Wahrscheinlichkeit der Aggregation der Helices wird erhöht. Es resultieren also elastischere und thermisch stabilere Gele mit wachsender Zuckerkonzentration.

Um die reinen Mischsysteme ohne den Zusatz an Zucker zu studieren wurden diese noch zusätzlich in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen von 1-3 und 3-1 vermessen. Der Vergleich mit dem 1-1 System ist in den folgenden Abbildungen zu sehen. Die Auswertung des Gelpunktes erfolgte hier bei der Mischung mit Alginat wie bei den Agarose-Alginat/Zuckersystemen und bei dem Zusatz von Xanthan wie bei den Agarose-Xanthan/Zuckersystemen und kann im Anhang genauer betrachtet werden.

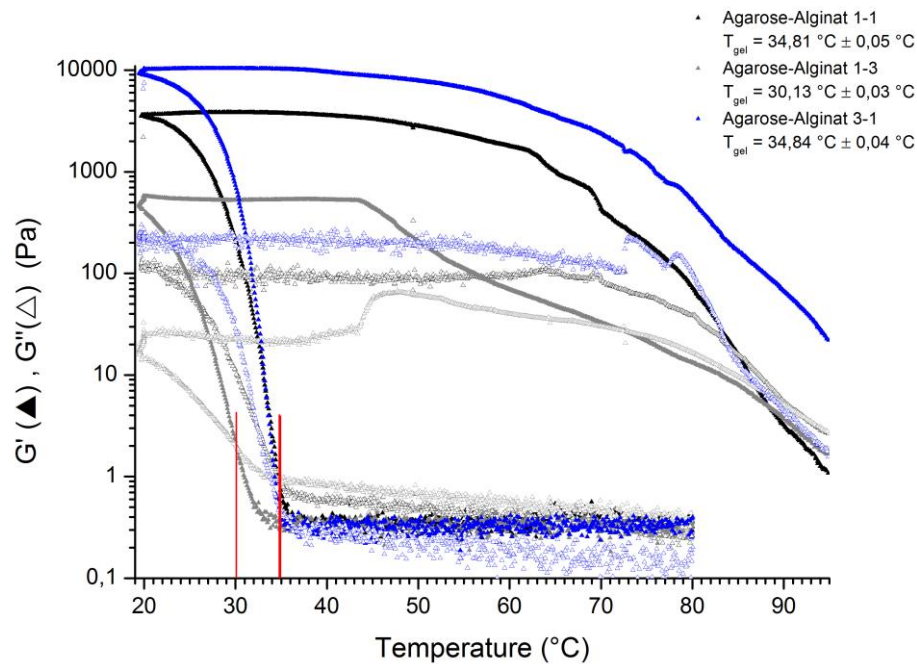


Abbildung 4.30 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1 \text{ Hz}$ und konstanter Deformation $\gamma = 0,001 \text{ (strain)}$ für die Agarose-Alginat-Systeme. Die roten Geraden verdeutlichen den theoretischen Schnittpunkt von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur.

Mit wachsendem Agaroseanteil wird hier in beiden Mischungen eine Zunahme der thermischen Stabilität sichtbar. Dabei wird der Unterschied zwischen den Agarose-Alginat- und Agarose-Xanthan-Mischungen mit wachsendem Verdickungsmittelanteil immer ausgeprägter.

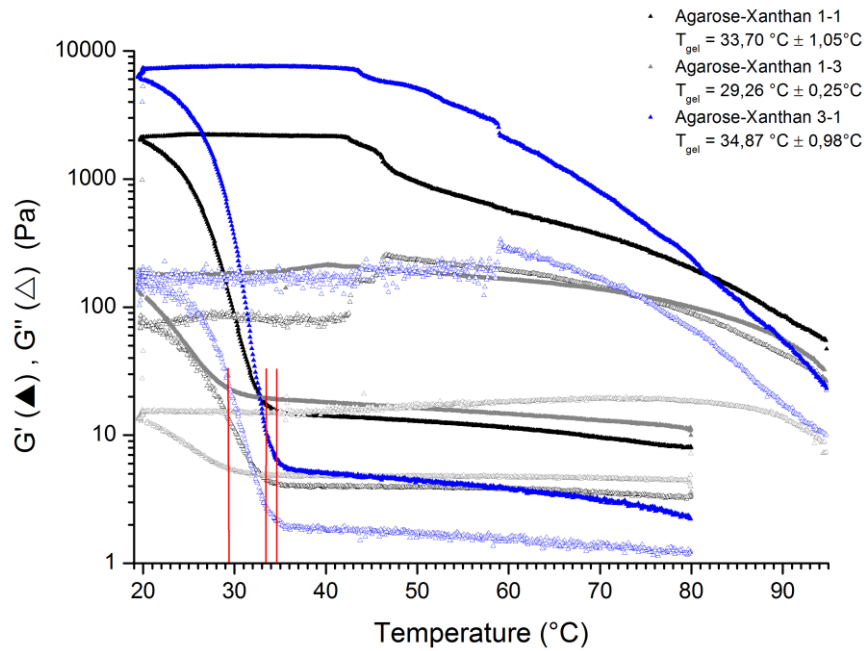


Abbildung 4.31 Logarithmische Darstellung der Moduli als Funktion der Temperatur bei konstanter Frequenz $\vartheta = 1$ Hz und konstanter Deformation $\gamma = 0,001$ (*strain*) für die Agarose-Xanthan-Systeme. Die roten Geraden verdeutlichen den Anstieg von G' und G'' bei der jeweiligen Temperatur.

Die ausgewerteten Gelierungstemperaturen und deren Fehler sind in der folgenden Tabelle für die unterschiedlichen Systeme gegenübergestellt. Der Fehler berechnete sich jeweils über eine Fehlerfortpflanzung, deren Reihentwicklung schon nach dem linearen Glied abgebrochen wurde:

$$\Delta y = \frac{\partial y}{\partial x_1} \Delta x_1 + \frac{\partial y}{\partial x_2} \Delta x_2 + \dots \quad (4.3)$$

Für die Bestimmung der Geltemperatur der Agarose und der Agarose/Alginate-Systeme bei dem Ordinatenabschnitt von 1 ergab sich folgende Gleichung mit entsprechendem Fehler, hier bei steht a für den Ordinatenabschnitt und b für die Steigung der linearen Regressionsgerade und Δa bzw. Δb für die jeweiligen Fehler:

$$T_{gel} = \frac{1-a}{b} \quad (4.4)$$

$$\Delta T_{gel} = -\frac{1}{b} \Delta a + \frac{a-1}{b^2} \Delta b \quad (4.5)$$

Die Bestimmung des Gelpunktes bei den Agarose-Xanthan-Systemen erfolgte über die Bestimmung des Schnittpunktes der beiden linearen Regressionsgeraden und ergab sich somit über folgende Gleichung, sowie dessen Fehler:

$$T_{gel} = \frac{(a_1 - a_2)}{(b_2 - b_1)} \quad (4.6)$$

$$\Delta T_{gel} = \frac{1}{(b_1 - b_2)} \Delta a_1 + \frac{1}{(b_2 - b_1)} \Delta a_2 + \frac{(a_2 - a_1)}{(b_1 - b_2)^2} \Delta b_1 + \frac{(a_1 - a_2)}{(b_1 - b_2)^2} \Delta b_2 \quad (4.7)$$

Tabelle 4.1 Gelierungstemperaturen des reinen Agarosesystems und der Mischsysteme mit Alginat bzw. Xanthan mit dem jeweiligen Zuckerzusatz.

System	Zuckerkonzentration / (% w/w)	$T_{gel} / ^\circ\text{C}$	$\Delta T_{gel} / ^\circ\text{C}$
Agarose	0	38,98	0,19
	20 Saccharose	38,22	0,05
	20 Trehalose	39,75	0,06
	40 Saccharose	38,53	0,06
	40 Trehalose	40,55	0,04
	Agarose-Alginat 1-1	0	34,81
	20 Saccharose	34,63	0,06
	20 Trehalose	36,24	0,06
	40 Saccharose	34,22	0,03
	40 Trehalose	37,08	0,04
Agarose-Alginat 1-3	0	30,13	0,03
Agarose-Alginat 3-1	0	34,84	0,04
Agarose-Xanthan 1-1	0	33,70	1,05
	20 Saccharose	34,68	1,22
	20 Trehalose	35,39	1,13
	40 Saccharose	35,96	1,09
	40 Trehalose	38,76	1,15
Agarose-Xanthan 1-3	0	29,26	0,25
Agarose-Xanthan 3-1	0	34,87	0,98

Vergleicht man die Werte aus Tabelle 4.1 miteinander wird deutlich sichtbar, dass der Zusatz von Saccharose bei den reinen Agarosegelen, sowie bei den Mischsystemen keinen deutlichen Einfluss auf die Gelierungstemperatur hat. Der Zusatz von 40% w/w an Trehalose hingegen verschiebt T_{gel} bei dem reinen Agarosegel um 4%, bei dem Agarose-Alginat-Gel um 6,5% und bei dem Agarose-Xanthan-Gel sogar um 15% zu höheren Temperaturen. Ein möglicher Grund für die Erhöhung des Gelpunktes mit hohem Trehalosezusatz liegt in der Präferenz der Wassermoleküle an Zucker-, besonders an Trehalose-

losemoleküle, zu binden. Durch die Bindung des Wassers an den Trehalosemolekülen verkleinert sich das effektive Volumen, in dem sich die bei hoher Temperatur noch frei beweglichen Agarosehelices befinden. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei oder mehrere Helices treffen und durch intermolekulare Wechselwirkungen zusammenlagern können, wird also erhöht und die Ausbildung des dreidimensionalen Netzwerks wird beschleunigt. Durch den Zusatz der anderen Hydrokolloide, Alginat bzw. Xanthan, wird das frei verfügbare Wasser noch weiter verringert und die Aggregation der Agarosehelices kann schon bei noch höheren Temperaturen stattfinden und der prozentuellen Anstieg der Geltemperatur in den Mischsystemen fällt größer aus als in dem reinen Agarosesystem.

Vergleicht man nur die Hydrokolloidmischungen ohne Zuckerzusatz, verschiebt sich T_{gel} mit abnehmendem Agaroseanteil zu immer kleineren Temperaturen. Für Xanthan und Alginat ergibt sich hierbei kein bedeutender Unterschied, was aber auch durch die andere Auswertungsmethode bei den Agarose-Xanthan-Systemen schwierig zu vergleichen ist. Grund für die Abnahme der Gelierungstemperatur ist die immer weiter abnehmende Agarosekonzentration und der damit verbundenen sinkenden Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung der Aggregate aus Agarosehelices.

Eine genauere Betrachtung der thermischen Eigenschaften der untersuchten Hydrokolloidsysteme erfolgt in Kapitel 4.4.

4.2 Wasserbindungsvermögen der Hydrokolloidsystem

Hydrogele neigen sehr schnell zur spontanen oder durch Energiezufuhr erzwungen Abgabe von Wasser. Bei dieser Trennung von Wasser und einer anderen Phase spricht man, wie schon unter Kapitel 2.1.2 angedeutet, von Synärese. Durch zum Beispiel Wärmezufuhr werden die in dem Hydrokolloid gebundenen Wassermoleküle gezwungen in den gasförmigen Zustand überzugehen, diffundieren zu der Oberfläche, verlassen diese und die Gele oder Dispersionen trocknen aus. Die Fähigkeit diesen Effekt der Synärese weitgehend hinauszuzögern, hängt von der Stärke der Wasserbindung der jeweiligen Hydrokolloide ab. Um diese Wasserbindung der unterschiedlichen Systeme zu studieren, wurde ihr Feuchtigkeitsgehalt (Wassergehalt) in Abhängigkeit von der Zeit bei zwei unterschiedlichen Temperaturen bestimmt. Da der Schmelzpunkt der Agarosegele zwischen 75 und 95 °C liegen kann, wurden zum einem 50 °C, als eine Temperatur weit unter dem Schmelzpunkt, und zum anderen 80 °C als Temperatur nahe dem Schmelzpunkt gewählt. Werden die Systeme eine gewisse Zeit den Temperaturen ausgesetzt, entweicht das Wasser je nach Wasserbindung der Hydrokolloide mehr oder weniger schnell. Da die gewählte Messmethode sehr zeitintensiv ist, wurden die Messergebnisse auf zwei unterschiedliche Methoden ausgewertet. Um mögliche Veränderungen während der Messung und unterschiedlich wirkende Effekte zu studieren, wur-

den die erhaltenen Messkurven zunächst im hinteren Teil, also bei langen Zeiten, und anschließend nur im vorderen Bereich, also bei kurzen Zeiten, analysiert.

4.2.1 Untersuchung der Wasserbindung auf langer Zeitskala

Zunächst wurde die Wasserbindung der reinen Lösungen aus den Disacchariden studiert, um die Unterschiede zwischen Trehalose und Saccharose aufzuzeigen. In der folgenden Abbildung ist deshalb der Wasserverlust der unterschiedlich konzentrierten Lösungen für 50 °C dargestellt. Auch hier, sowie in allen folgenden Ergebnisdarstellungen, wurde zu Gunsten der Übersichtlichkeit auf die Fehlerbalken verzichtet und nur der Mittelwert einer Dreifachbestimmung dargestellt. Bei der Betrachtung der einzelnen Konzentrationen kann zwischen Trehalose und Saccharose kein Unterschied beobachtet werden. Grundsätzlich kann mit voranschreitender Zeit eine stetige Abnahme des Wassergehaltes erkannt werden und erreicht nach dem Überschreiten eines bestimmten Zeitpunktes einen Maximalwert, der anschließend konstant gehalten wird. Dieser Maximalwert gibt den Restfeuchtegehalt wieder und ist in Tabelle 4.2 zusammengefasst. Dabei ist deutlich zu sehen, dass die Differenz zwischen dem gemessenen Wassergehalt und dem theoretisch enthaltenem Wassergehalt mit wachsender Zuckerkonzentration zunimmt. Die Größe des Restfeuchtegehalts kann als Maß für die Wasserbindung der in dem System enthaltenen Substanzen angesehen werden. Umso größer der prozentuelle Anteil des Restfeuchtegehalts ausfällt, desto stärker ist die Bindung zwischen Wassermolekülen und Disaccharid bzw. Hydrokolloid und das Wasser kann nicht vollständig aus dem System entfernt werden. Für alle folgenden Systeme wurde deshalb der Restfeuchtegehalt bestimmt, um das Wasserbindungsvermögen des gesamten Systems auf langer Zeitskala zu studieren.

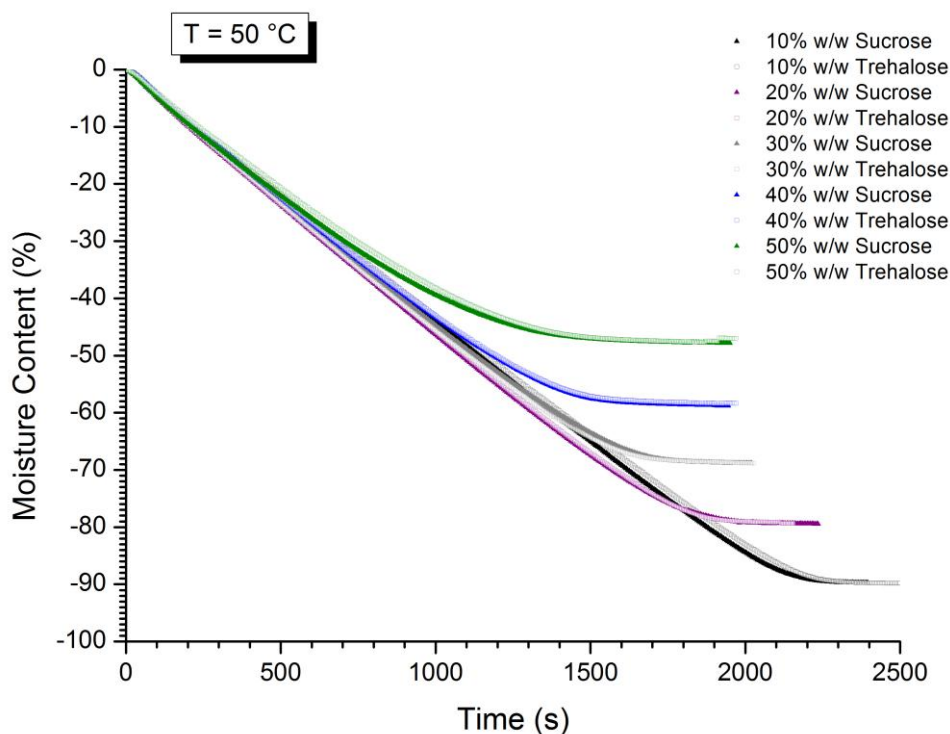


Abbildung 4.32 Verlust des Feuchtigkeitsgehalts als Funktion der Zeit bei einer konstanten Temperatur $T = 50\text{ °C}$ für die unterschiedlich konzentrierten Lösungen von Saccharose und Trehalose. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf der Saccharoselösungen und die nicht-ausgefüllten Vierecke den der Trehaloselösungen.

Tabelle 4.2 Gemessener Wassergehalt der verschiedenen konzentrierten Zuckerlösungen für Saccharose und Trehalose.

Saccharose			Trehalose	
c(Zucker)	Wassergehalt	Standard-abweichung	Wassergehalt	Standard-abweichung
10 % w/w	89,7135%	0,08839%	89,78%	0,04808%
20 % w/w	79,356%	0,07354%	79,1235%	0,26517%
30 % w/w	68,833%	0,04667%	68,781%	0,01414%
40 % w/w	58,7405%	0,02051%	58,326%	0,0693%
50 % w/w	47,832%	0,33658%	47,499%	0,78913%

Die Auftragung des Restfeuchtegehalts gegen die Konzentration verdeutlicht die Veränderung der Fähigkeit die Wassermoleküle bei einer langen Wärmeexposition zu binden. Für die reinen Zuckerlösungen kann hier eine Zunahme des Restfeuchtegehalts mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden.

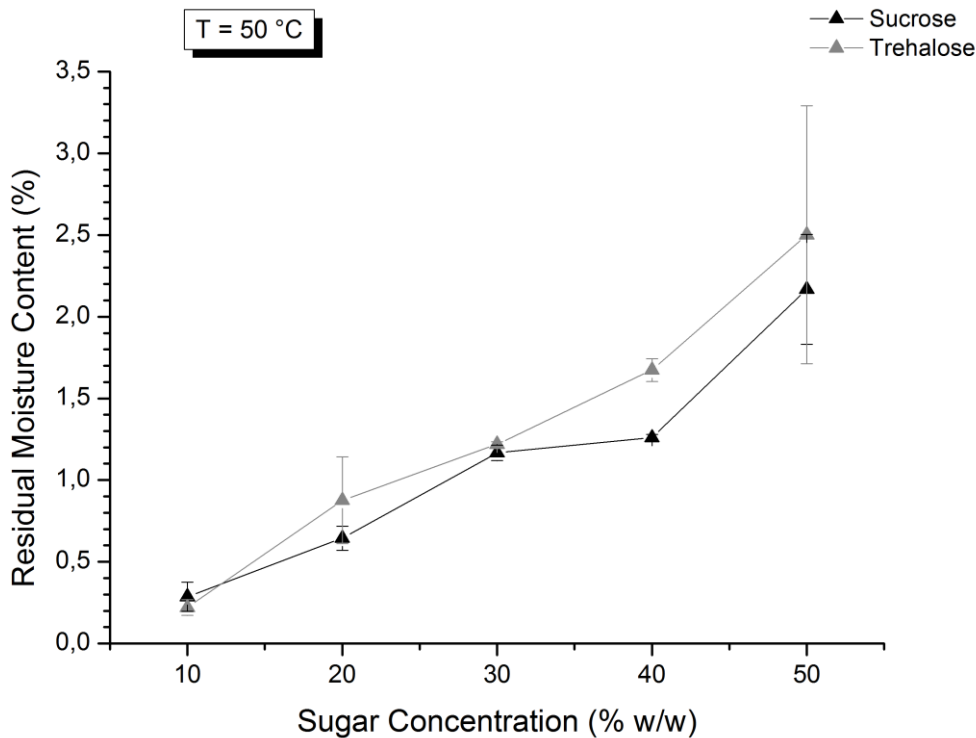


Abbildung 4.33 Restfeuchtegehalt der Zuckerlösungen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von $T = 50\text{ °C}$. Der schwarze Verlauf symbolisiert die Änderung der Saccharoselösungen und der graue Verlauf den der Trehaloselösungen.

Beide Disaccharide zeigen mit wachsender Zuckerkonzentration einen annähernd linearen Anstieg des Restfeuchtegehalts nach der Trocknung bei $T = 50\text{ °C}$. Das heißt also mit wachsender Zuckerkonzentration wird das Wasserbindungsvermögen der Lösungen immer besser. Da mit wachsender Zuckerkonzentration immer mehr Zuckermoleküle in der Lösung vorliegen können natürlich auch immer mehr Wasserstoffbrückenbindungen zu den Wassermolekülen ausgebildet werden und diese stärker an den Zuckermolekülen gebunden werden. Dadurch wird bei der Zuführung von Wärmeenergie der Übergang des Wassers vom flüssigen in den gasförmigen Zustand verlangsamt und eine Zunahme der Wasserbindungsfähigkeit mit wachsender Zuckerkonzentration kann beobachtet werden. Leider kann hier kein aussagekräftiger Unterschied zwischen den Disacchariden beobachtet werden, was eventuell auf die geringe Sensitivität der Messmethode bzw. Auswertungsmethode zurück zu führen ist.

Für die 1%-igen Agarosegele mit dem entsprechenden Zusatz an Disaccharid sind die Restfeuchtegehaltbestimmungen in Abbildung 4.34 für 50 °C und 80 °C dargestellt. Die Messkurven der Feuchtebestimmung für die 1%-igen Alginat/Zucker-, Xanthan/Zucker-Agarose-Alginat/Zucker- und Agarose-Xanthan/Zuckersysteme können an dieser Stelle im Anhang dazu gezogen werden und werden hier nicht explizit aufgezeigt, sondern nur die Ergebnisse der Restfeuchtegehaltbestimmung gezeigt.

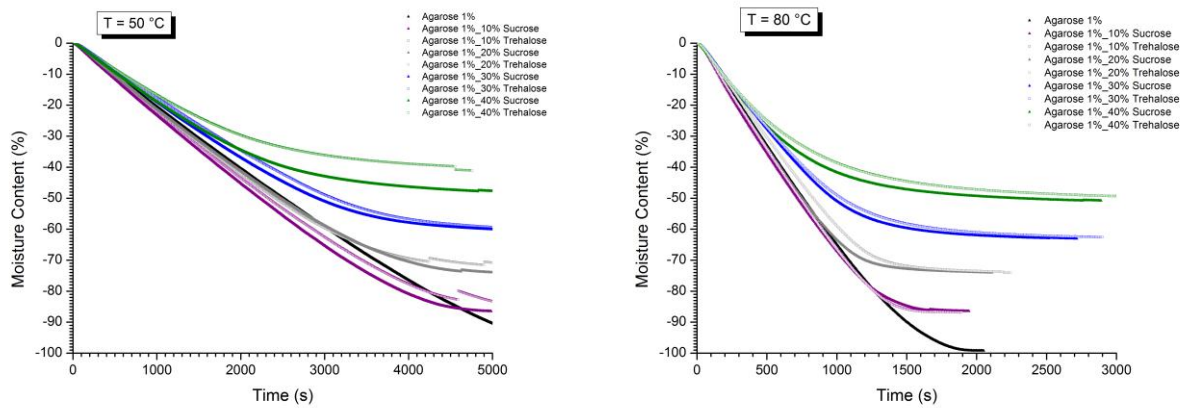


Abbildung 4.34 Verlust des Feuchtigkeitsgehalts als Funktion der Zeit bei einer konstanten Temperatur $T = 50\text{ °C}$ (links) und $T = 80\text{ °C}$ (rechts) für die 1%-igen Agarosegele. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf des Saccharosezusatzes und die nichtausgefüllten Vierecke den des Trehalosezusatzes.

Beim Vergleich der Temperaturen kann eine deutliche Verkürzung der Messzeiten für die jeweiligen Systeme beobachtet werden. Diese Beobachtung kann einfach nachvollzogen werden, indem der Prozess der Wasserabgabe während dem Trocknen als Diffusion der Wassermoleküle aus dem Inneren der Gele zu deren Oberfläche, an der sie als gasförmige Teilchen das Gel verlassen können, angenommen wird. Diese Diffusion ist eine Transporteigenschaft und hängt von der Mobilität und Geschwindigkeit der Teilchen ab (ATKINS, 2001). Für hochverdünnte Dispersionen und Lösungen kann hier das Stokes-Einstein-Gesetz hinzugezogen werden. Dabei hängt der Diffusionskoeffizient D_s eines sich bewegenden Teilchens proportional von der Temperatur und reziprok von der Viskosität des umgebenden Mediums ab.

$$D_s = \frac{kT}{6\pi\eta R_h} \quad (4.8)$$

Hierbei steht der Zähler kT für die thermische Energie, η für die Viskosität und R_h für den hydrodynamischen Radius des Teilchens (ATKINS, 2001). Für hochviskose Dispersionen oder Gele kann eine Beziehung zwischen effektiver Diffusion und Trocknungstemperatur durch eine Gleichung nach Arrhenius gefunden werden (WAJE, MESHAM, CHAUDHARY, PANDEY, MAHANAWAR, & THORAT, 2005).

$$D_s(x, T) = D_0(x) \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) \quad (4.9)$$

$D_0(x)$ steht hier für den Diffusionskoeffizienten bei einer konstanten Trocknungsperiode und E_A beschreibt die Aktivierungsenergie der Diffusion; die Gaskonstante $R = kN_A$ ergibt sich aus der Betrachtung molarer Energien. Mit wachsender Temperatur steigt also die Diffusion der Wassermoleküle und ein Austrocknen der Gele wird schon nach

einer kürzeren Zeitperiode erreicht. Die bestimmte Restfeuchte der Agarose/-Zuckergele bei 50 °C und 80 °C sind in folgender Abbildung dargestellt.

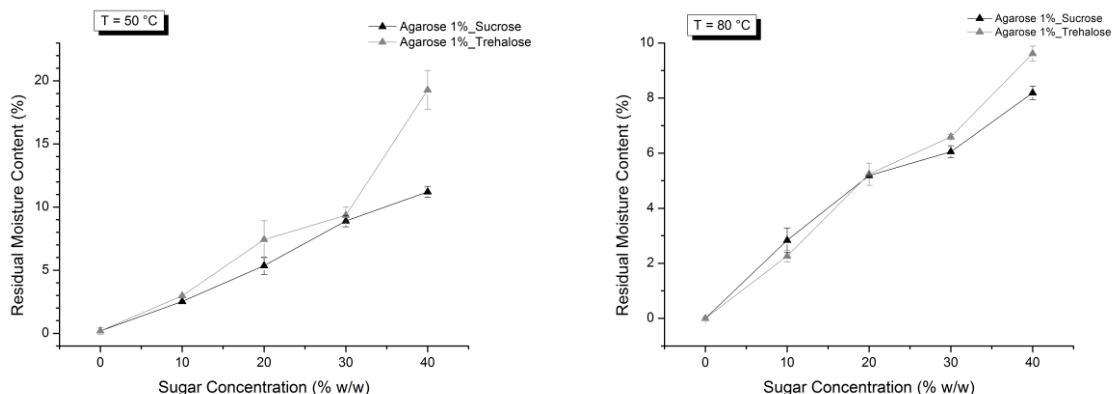


Abbildung 4.35 Restfeuchtegehalt der 1%-igen Agarose/Zucker-Gele als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von links: $T = 50$ °C und rechts: $T = 80$ °C. Der schwarze Verlauf symbolisiert die Änderung durch Saccharosezusatz und der graue Verlauf den durch Trehalose.

Bei 50 °C, sowie bei 80 °C kann jeweils ein stetiger Anstieg des Restfeuchtegehalts mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden. Zudem wird deutlich, dass bei der Trocknung mit $T = 80$ °C mehr Wasser aus dem System entfernt werden kann als mit 50 °C. Die erhöhte zugeführte Wärmeenergie sorgt auch hier für eine Beschleunigung der Diffusion der Wassermoleküle und die Wahrscheinlichkeit, dass die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Wassermolekülen und Hydrokolloid bzw. Disaccharid gebrochen werden, wird erhöht. Zusätzlich beginnt das Gel bei $T = 80$ °C langsam an zu schmelzen; dabei wird das Agarosenetzwerk abgebaut, die Netzwerkmaschen nach und nach zerstört und das darin eingeschlossenen Wasser wird freigesetzt und kann einfacher entfernt werden. Der stetige Anstieg mit wachsender Zuckerkonzentration ergibt sich aus der wachsenden Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Wassermolekülen und Disaccharid, wodurch die Wasserbindung erhöht wird und die Entfernung des Wassers aus dem System zunehmend erschwert wird. Bei einem Zuckergehalt von 40% w/w kann besonders bei einer Trocknungstemperatur von $T = 50$ °C ein deutlicher Unterschied zwischen Saccharose und Trehalose beobachtet werden. Trehalose hat, aufgrund der sterischen Anordnung der Hydroxylgruppen, eine ausgeprägtere Fähigkeit Wassermoleküle zu binden. Dementsprechend ist die Hydrathülle der Trehalosemoleküle größer, die Wechselwirkungen weitreichender und das Lösen der Wassermoleküle benötigt mehr Energie.

Der Restfeuchtegehalt der 1%-igen Alginat/Zucker- und Xanthan/Zucker-Systeme in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration bei den zwei verschiedenen Trocknungstemperaturen sind in folgenden Abbildung zusammengefasst.

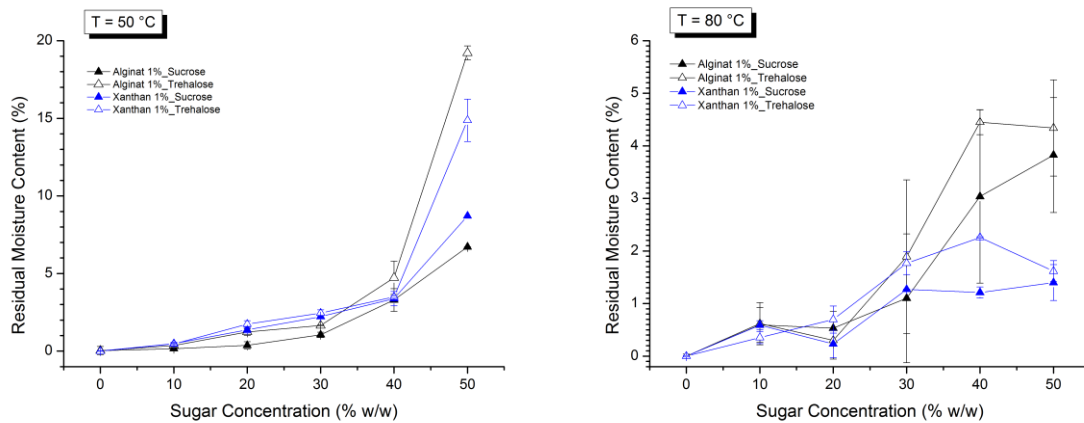


Abbildung 4.36 Restfeuchtegehalt der 1%-igen Alginat/Zucker- und Xanthan/Zucker-Dispersionen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von links: $T = 50\text{ °C}$ und rechts: $T = 80\text{ °C}$. Der schwarze Verlauf symbolisiert das Alginat/Zucker-System und der blaue Verlauf das Xanthan/Zucker-System. Dabei stellen die ausgefüllten Symbole jeweils die Änderung durch Saccharose und die nicht-ausgefüllten Symbole die durch Trehalose dar.

Bei einer Temperatur von $T = 50\text{ °C}$ kann für beide Verdickungsmittel ein sehr ähnlicher und annähernd exponentieller Verlauf für den Restfeuchtegehalt als Funktion der Zuckerkonzentration beobachtet werden. Bis zu 30% w/w an Zuckerzusatz steigt der Restfeuchtegehalt zunächst nur geringfügig an und nimmt dann für 40% und 50% Werte von bis zu 20% an Restfeuchte an. Um die Wasserbindung des Systems weitgehend zu verbessern benötigt es bei den Verdickungsmitteln mindestens einen Zuckerzusatz von 40% w/w. Agarose im Vergleich zeigt schon bei kleineren Zuckerkonzentrationen eine Verbesserung. Alginat und Xanthan zeigen also bezüglich ihrer Wasserbindung auf langer Zeitskala keine großen Unterschiede. Die hier gewählte Auswertungsmethode ist nicht genau genug um das unterschiedliche Wasserbindungsverhalten aufzuzeigen. In Kapitel 4.2.2 kann dieser Unterscheid jedoch verdeutlicht werden. Auch hier wird bei sehr hohem Zuckerzusatz der unterschiedliche Einfluss von Trehalose und Saccharose aufgezeigt. Bei einer Trocknungstemperatur von $T = 80\text{ °C}$ kann ebenfalls ein Anstieg des Restfeuchtegehalts mit wachsender Zuckerkonzentration beobachtet werden. Die Fehlerbalken fallen hier jedoch so groß aus, dass eine genaue Analyse des Verlaufs schwer fällt.

Die 1-1 Mischungen aus Agarose-Alginat und Agarose-Xanthan zeigen einen ähnlichen Verlauf wie die reinen Agarosegele bezüglich des Restfeuchtegehalts in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration.

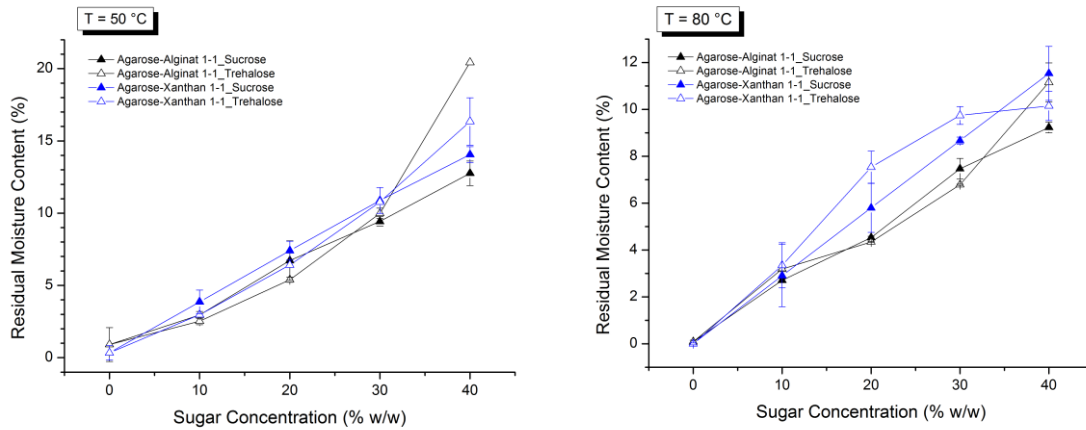


Abbildung 4.37 Restfeuchtegehalt der 1%-igen Agarose-Alginat/Zucker- und Agarose-Xanthan/Zucker-Gele als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Wärmeexposition von links: $T = 50\text{ °C}$ und rechts: $T = 80\text{ °C}$. Der schwarze Verlauf symbolisiert das Agarose-Alginat/Zucker-System und der blaue Verlauf das Agarose-Xanthan/Zucker-System. Dabei stellen die ausgefüllten Symbole jeweils die Änderung durch Saccharose und die nicht-ausgefüllten Symbole die durch Trehalose dar.

Auch hier wird zwischen den Mischungen mit Alginat und Xanthan keine deutliche Abweichung erkennbar. Für beide Systeme nimmt der Restfeuchtegehalt mit wachsender Zuckerkonzentration annähernd linear zu und ab 40% w/w Zuckerezusatz zeigt Trehalose eine größere Beeinflussung der Wasserbindung als Saccharose.

4.2.2 Untersuchung der Wasserbindung auf kurzer Zeitskala

Um zusätzlich eine Aussage über das Wasserbindungsvermögen der unterschiedlichen Hydrokolloidsysteme und Zuckerlösungen treffen zu können wurde die Geschwindigkeit der Wasserabgabe bei beginnender Wärmeexposition genauer analysiert. Dazu wurde der gemessene Wasserverlust gegen die Zeit aufgetragen und eine exponentielle Funktion an den Beginn der Kurve angelegt. Dabei wurden die Grenzen des exponentiellen Fits so gewählt, dass immer die bestmögliche Übereinstimmung zwischen Fit und ursprünglicher Funktion vorlag (bestimmt durch den höchsten Wert des Bestimmtheitsmaßes, engl. adjusted R-Square). Als exponentieller Fit wurde folgende Funktion gewählt:

$$y = A_1 \exp\left(\frac{t}{t_1}\right) + y_0 \quad (4.10)$$

Hierbei geben A_1 den Ordinatenabschnitt der Kurve, y_0 den Grenzwert für große x-Werte und t_1 die Krümmung an. Diese Krümmung t_1 der Funktion, sowie der Ordinatenabschnitt beschreiben die Form der Funktion. Durch die erste Ableitung von Gleichung (4.10) erhält man die Steigung einer Kurve an einem bestimmten Punkt. Zum

Vergleich der angefitteten Exponentialfunktionen wurde also die erste Ableitung gebildet und die Steigung am Punkt $t = 0$ berechnet:

$$\frac{\partial y}{\partial x} = \frac{A_1}{t_1} \exp\left(\frac{t}{t_1}\right) \quad (4.11)$$

$$y'(t = 0) = \frac{A_1}{t_1} \quad (4.12)$$

Das heißt der Quotient aus Ordinatenabschnitt A_1 und Krümmungsparameter t_1 gibt die Steigung der angefitteten Exponentialfunktion zu Beginn des Wachstums an. Diese Steigung beschreibt bei der Abhängigkeit des Wasserverlustes von der Zeit die Geschwindigkeit der Wasserabgabe zu Beginn der Wärmeexposition, also auf einer kurzen Zeitskala, und wird proportional zu dem Verlust des über Wasserstoffbrückenbindungen gebundenem und nicht gebundenen, noch freien Wassers, in dem System angesehen. Umso größere Werte die Steigung einnimmt, desto größer ist der Anstieg der Exponentialfunktion. Ein schnelleres Wachstum der Funktion bedeutet eine schnellere Abgabe an Feuchtigkeit und somit eine schlechtere Fähigkeit zur Wasserbindung des Systems. Die unterschiedlichen Steigungen können miteinander verglichen werden und erlauben somit Rückschlüsse auf das Wasserbindungsvermögen der Substanzen auf kleiner Zeitskala. In folgender Abbildung ist die Bestimmung der Steigung exemplarisch für die 10%-ige Saccharoselösung vorgeführt und wurde auf gleiche Weise an allen anderen Lösungen, Dispersionen, Gelen und Mischungen durchgeführt, aber aus Platzmangel hier nicht aufgezeigt und nur direkt die bestimmten Steigungen dargestellt.

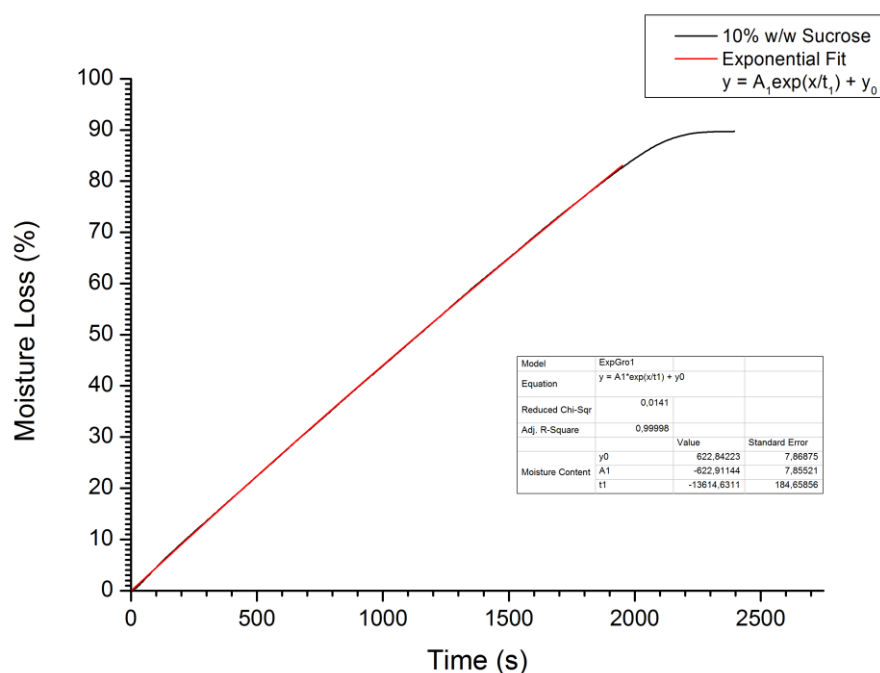


Abbildung 4.38 Gemessener Feuchteverlust in Abhängigkeit zur Zeit der 10% w/w Saccharoselösung und die Auswertung zur Bestimmung der Anfangssteigung mit Hilfe einer exponentiellen Funktion.

Die durch diese Auswertungsmethode bestimmten Anfangssteigungen der angelegten Exponentialfunktionen sind für die Trocknungstemperatur von $T = 50\text{ °C}$ in folgender Abbildung zusammengefasst.

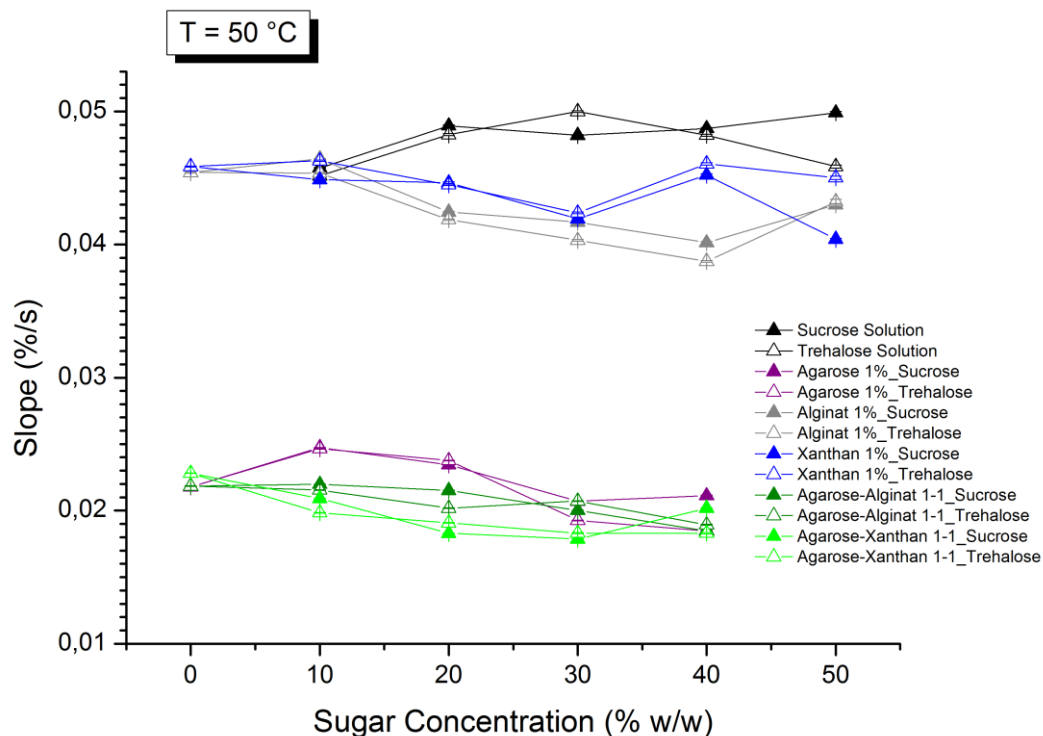


Abbildung 4.39 Steigungen der angelegten Exponentialfunktionen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Funktion $T = 50\text{ °C}$. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf durch den Zusatz von Saccharose und die nicht-gefüllten den durch Trehalosezusatz.

Zunächst können hier enorme Differenzen zwischen den ermittelten Steigungen der Hydrogele und der Hydrokolloiddispersionen bzw. Disaccharidlösungen beobachtet werden. Da die Agarosegele ein dreidimensionales Netzwerk ausbilden, in dessen Netzwerkmaschen unter anderem die Wassermoleküle eingeschlossen werden, liegt hier eine zusätzliche Wechselwirkung bezüglich der Wasserbindung vor. Durch die Einlagerung der Wassermoleküle in den Netzwerkmaschen wird die Bewegung der Wassermoleküle zusätzlich behindert und das Diffundieren der Moleküle zu der Geloberfläche wird stark zurückgehalten. Die Wasserbindungsfähigkeit der Agarosegele wird also neben den Wasserstoffbrückenbindungen durch die Einlagerung der Wassermoleküle verstärkt. In den Alginate- und Xanthandispersionen basiert die Wechselwirkung der Wassermoleküle und Hydrokolloiden hauptsächlich auf Wasserstoffbrückenbindungen. Die Wasserbindung ist also im Vergleich zu den Agarosegelen viel geringer, was hier in der deutlich höheren Steigung belegt wird. Die größere Steigung weist auf einen schnelleren Anstieg der Wasserverlustkurven hin. Zusätzlich liegt die Kurve der reinen Disac-

charidlösungen (schwarz) auch nur geringfügig über denen der Hydrokolloide, was für einen geringen Einfluss der Wasserbindung durch den Zusatz von Alginat bzw. Xanthan spricht. Trotzdem kann aber ein Unterschied zwischen Alginat und Xanthan erkannt werden, der in Abbildung 4.40 bei der Trocknungstemperatur $T = 80\text{ °C}$ noch deutlicher herauskommt. Die Alginat/Zucker-Dispersionen weisen eine geringere Steigung als die Xanthan/Zucker-Dispersionen auf. Alginat scheint also eine bessere Fähigkeit zur Wasserbindung als Xanthan zu besitzen. Diese Beobachtung kann durch die Betrachtung des Entropieverlustes während der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen erklärt werden. Die Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen Wassermolekülen und Hydrokolloiden ist stets mit einem Entropieverlust des Systems begleitet. Für die Wassermoleküle ist es jedoch entropisch günstiger sich an eine flexible Alginatkette anzulagern, da hier die Hydroxylgruppen willkürlich auf der gesamten Kette verteilt sind. Bei den starren Xanthanstäbchen ist die Position der Hydroxylgruppen jedoch durch die geordnete Struktur der Polymere untereinander stark vorgegeben. Die Ausbildung der Wasserstoffbrücken ist hier also positionsgebunden und fordert einen größeren Entropieverlust für die Wassermoleküle. Die Wasserbindung an den Alginatketten wird also der an den Xanthanstäbchen entropisch bevorzugt. Alginatdispersionen haben also ein geringfügig besseres Wasserbindungsvermögen als Xanthandispersionen.

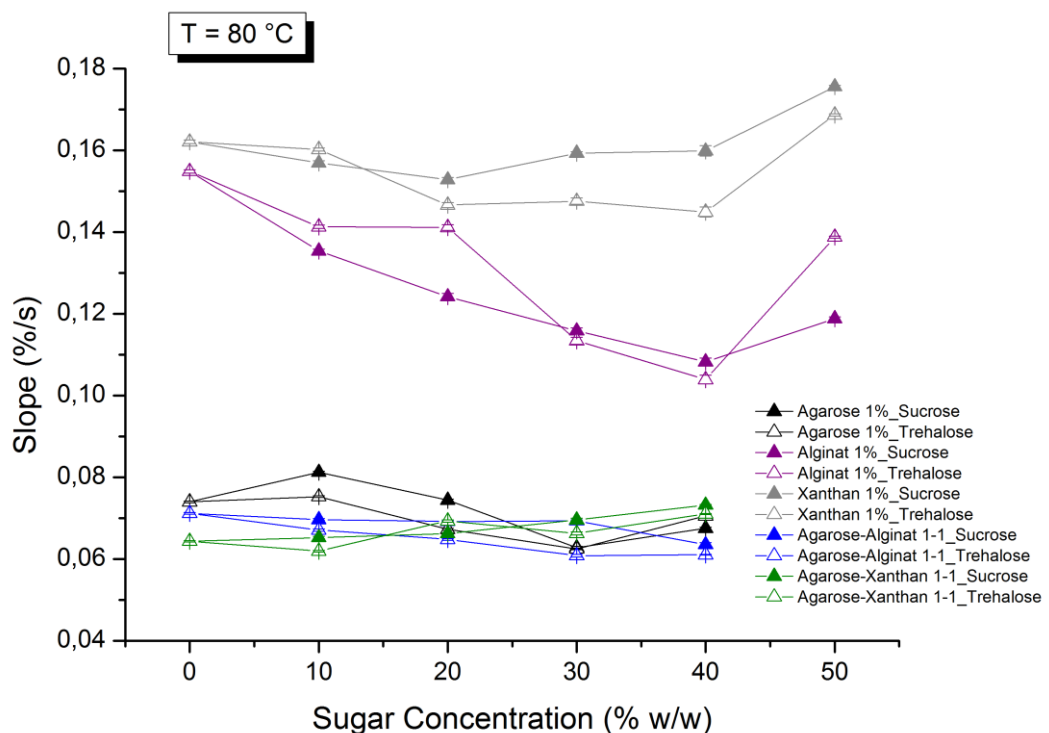


Abbildung 4.40 Steigungen der angelegten Exponentialfunktionen als Funktion der Zuckerkonzentration bei einer konstanten Funktion $T = 80\text{ °C}$. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf durch den Zusatz von Saccharose und die nicht-ausgefüllten den durch Trehalosezusatz.

Auffällig in Abbildung 4.39 und 4.40 wird jedoch dass die Zuckerkonzentration keinen großen Einfluss auf die berechnete Steigung zeigt. Alle Hydrokolloidsysteme, sowie die reinen Zuckerlösungen zeigen eine annähernd konstante Steigung. Die hier angelegten Exponentialfunktionen konnte nur an den Anfangsbereich der ursprünglichen Messkurven angepasst werden. Dabei verkürzte sich der Bereich, in dem Fit und Ursprungsfunktion übereinstimmen, mit wachsender Zuckerkonzentration immer mehr. Die hier berechnete Steigung beschreibt primär den Verlust des noch freien Wassers in dem System, welches nicht direkt an den Zucker- oder Hydrokolloidmolekülen gebunden ist. Mit wachsender Zuckerkonzentration ist der gesamte Wasseranteil in dem System geringer und somit auch der Anteil an freien Wasser. Dieses freie Wasser ist dementsprechend auch schon nach einer kürzeren Zeitperiode vollständig aus dem System entfernt und die Messkurve weicht schon nach einem kleineren Bereich von dem Idealverlauf ab. Die Geschwindigkeit des Wasserverlusts ist also innerhalb eines Hydrokolloidsystems bei kurzen Beobachtungszeiten unabhängig von der Zuckerkonzentration, der Endwert der Restfeuchtebestimmung variiert jedoch nach langer Messdauer mit wachsender Zuckerkonzentration.

Zusammenfassend konnte also durch die Betrachtung der Restfeuchte eine Aussage über die Beeinflussung der Wasserbindung durch die unterschiedlichen Disaccharide und deren Konzentration getroffen werden. Eine kinetische Auswertung ermöglichte die Analyse der unterschiedlichen Hydrokolloide auf das Wasserbindungsvermögen.

4.3 Mikroskopische Untersuchung der Hydrokolloidsysteme durch CLSM und REM

Um etwas über die Netzwerkstrukturen der Agarose- und Mischgele mit Alginat bzw. Xanthan zu lernen, sowie über die Verteilung der Verdickungsmittel Alginat und Xanthan in dem Agarosenetzwerk wurden Mikroskopiebilder mit einem konfokalen Mikroskop und einem Rasterelektronenmikroskop aufgenommen.

4.3.1 Untersuchung der Netzwerkstruktur durch CLSM

Um ein Signal mit dem Fluoreszenz-CLSM detektieren zu können, muss die Probe auch Licht im Wellenlängenbereich des Fluoreszenzlichts emittieren können. Dazu wurde die Agarose mit einem Farbstoff markiert, der ein Emissionsmaximum von $\lambda_{em} = 517 \text{ nm}$ besitzt. Die in den aufgenommenen CLSM-Bildern farbigen Bereiche (hier: grün) rühren also ausschließlich von Agarosestrukturen her, da Alginat, Xanthan oder Wasser keine Emissionslinien in dem detektierbaren Wellenlängenbereich besitzen. Durch einen passenden Filter (Emissionsfilter LP505 longpass) werden nur Wellenlängen größer als 505 nm in den Detektionsstrahl durchgelassen und das anregende Laserlicht herausgefiltert. Alle folgenden Aufnahmen wurden in 30 μm Tiefe der Probe festgehalten.

Die folgende Aufnahme zeigt ein 1%-iges Agarosegel, vergrößert durch das *UPLSAPO 60xW* Wasserimmersionsobjektiv mit 60-facher Vergrößerung.

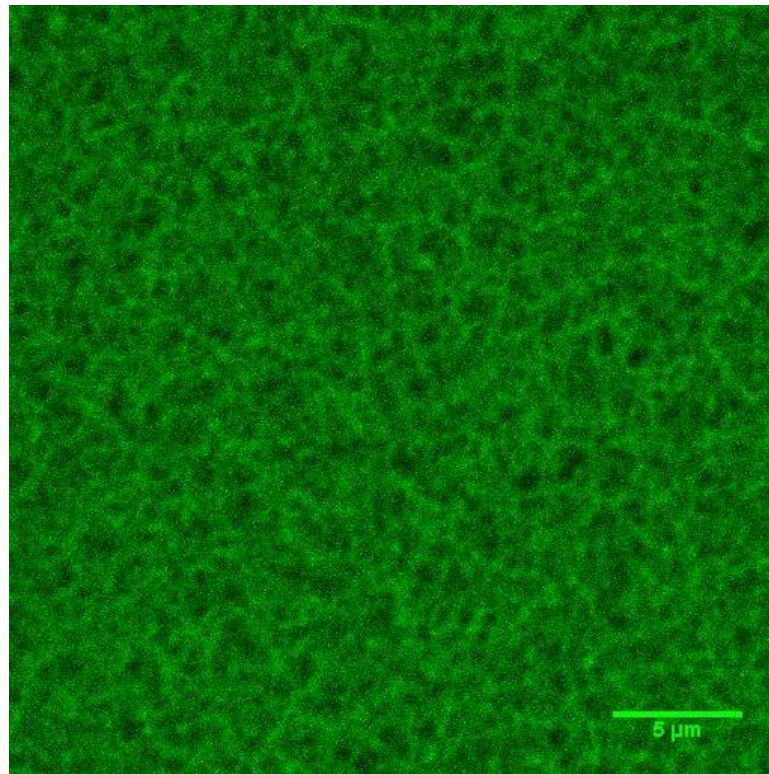


Abbildung 4.41 CLSM-Aufnahme eines 1%-igen fluoreszierenden Agarosegels durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

In Abbildung 4.41 kann deutlich der Aufbau des Agarosegels durch ein Netzwerk erkannt werden. Die Netzwerkmaschen werden durch die dunklen Flecken, umgeben von grünen Strukturen sichtbar. Die schwarzen Flecken entstehen durch das in den Netzwerkmaschen eingeschlossene Wasser. Auch eine gute Homogenität des beleuchteten Probenbereichs kann beobachtet werden und stellt somit einen repräsentativen Ausschnitt für das gesamte Bild dar, was aber auch durch die Aufnahme an verschiedenen Positionen der Probe bestätigt wurde.

Im Folgenden wird nun der Einfluss durch den Zusatz der anderen Hydrokolloide Alginate bzw. Xanthan auf diese Netzwerkbildung und die Veränderung der Netzwerkmaschen ausgewertet. Dazu wurden Mischungen in drei verschiedenen Verhältnissen von Agarose-Verdickungsmittel in 1-3, 1-1 und 3-1 angesetzt und miteinander verglichen. In Abbildung 4.42 kann ein 0,25%-iges Agarosegel betrachtet werden. Dieses soll als Vergleichssystem für die Mischsysteme mit einem Mischungsverhältnis von Agarose-Verdickungsmittel 1-3 dienen. Insgesamt ist in der 1-3 Mischung 1% w/w Polysaccharid enthalten, aber nur 0,25% w/w Agarose und 0,75% w/w Alginate bzw. Xanthan.

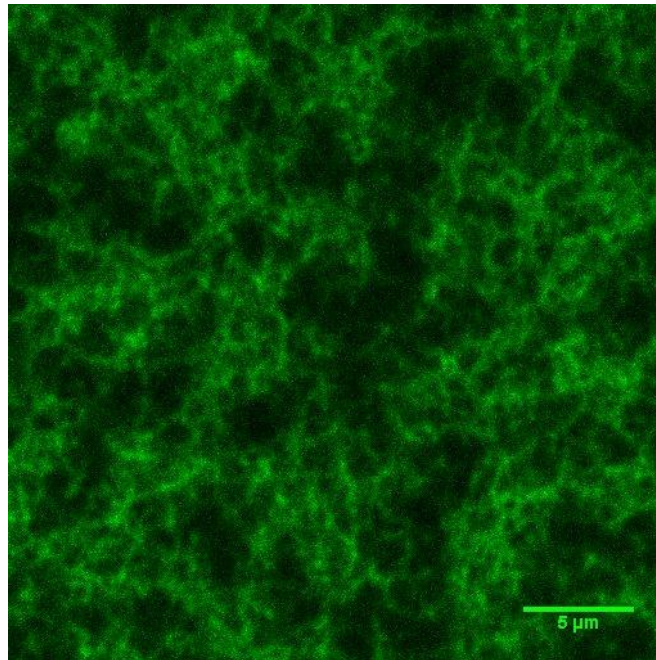


Abbildung 4.42 CLSM-Aufnahme eines 0,25%-igen fluoreszierenden Agarosegels durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

Hier wird deutlich eine Vergrößerung der schwarzen Flecken sichtbar, was für den höheren Wasseranteil der Probe spricht. Das ausgebildete Netzwerk erscheint inhomogener und die Netzwerkmaschen aufgeweiteter. Durch die Zugabe von 0,75% w/w Alginat bzw. Xanthan kann nun folgende Beobachtung gemacht werden.

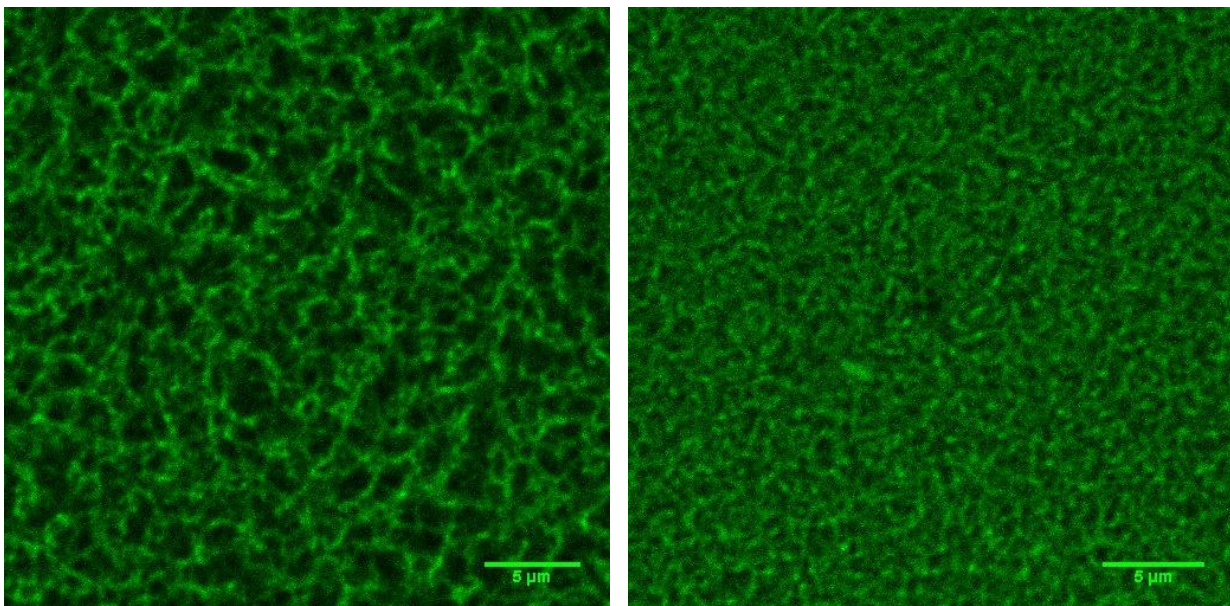


Abbildung 4.43 CLSM-Aufnahme der fluoreszierenden links: Agarose-Alginat-Gele und rechts: Agarose-Xanthan-Gele im Mischungsverhältnis 1-3 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

Im Vergleich zu dem reinen 0,25%-igen Agarosegel wird die Homogenität durch die Zugabe der Verdickungsmittel deutlich gesteigert. Auch ein ausgeprägter Unterschied zwischen der Mischung mit Alginat und der mit Xanthan kann erkannt werden. In dem Bild der Mischung aus Agarose und Alginat werden gleichmäßig verteilte und relativ gleichgroße dunkle Flecken sichtbar. Durch die Mischung mit Xanthan hingegen werden diese dunklen Flecken noch kleiner. Die vorher in Abbildung 4.42 beobachtete schwache Ausbildung eines Netzwerkes scheint hier durch den Zusatz der Verdickungsmittel stabilisiert zu werden. Vergleicht man nun die beiden Mischungen miteinander scheinen die Maschen des Agarosenetzwerkes durch die Zugabe von Alginat viel aufgeweiteter als durch die von Xanthan. Diese Beobachtung stimmt sehr gut mit der schon in Kapitel 4.1.5 aufgeführten Modellvorstellung der Mischungen überein. Die verhakten und ineinander verknäulten Alginatketten lagern sich in die Netzwerkmaschen des Agarosenetzwerkes an und lassen so die Maschen aufquellen. Xanthan hingegen ist ein großes, starres und stäbchenförmiges Polymer und behindert durch seine geordnete Struktur die Bildung und Aggregation der Agarosehelices. Durch die starre Anordnung der Xanthanstäbchen wird die freie Beweglichkeit der Agarosehelices stark eingeschränkt und das Netzwerk muss sich zwischen den starr angeordneten Xanthanmolekülen ausbilden. Lokal gesehen werden die Helices dadurch zusammen gedrängt und die ausgebildeten Netzwerkmaschen verkleinert, was deutlich in Abbildung 4.43 rechts beobachtet werden kann.

Abbildung 4.44 zeigt nun die CLSM-Aufnahmen der 1-1 Mischungen und zum Vergleich die Aufnahme eines 0,5%-igen Agarosegels.

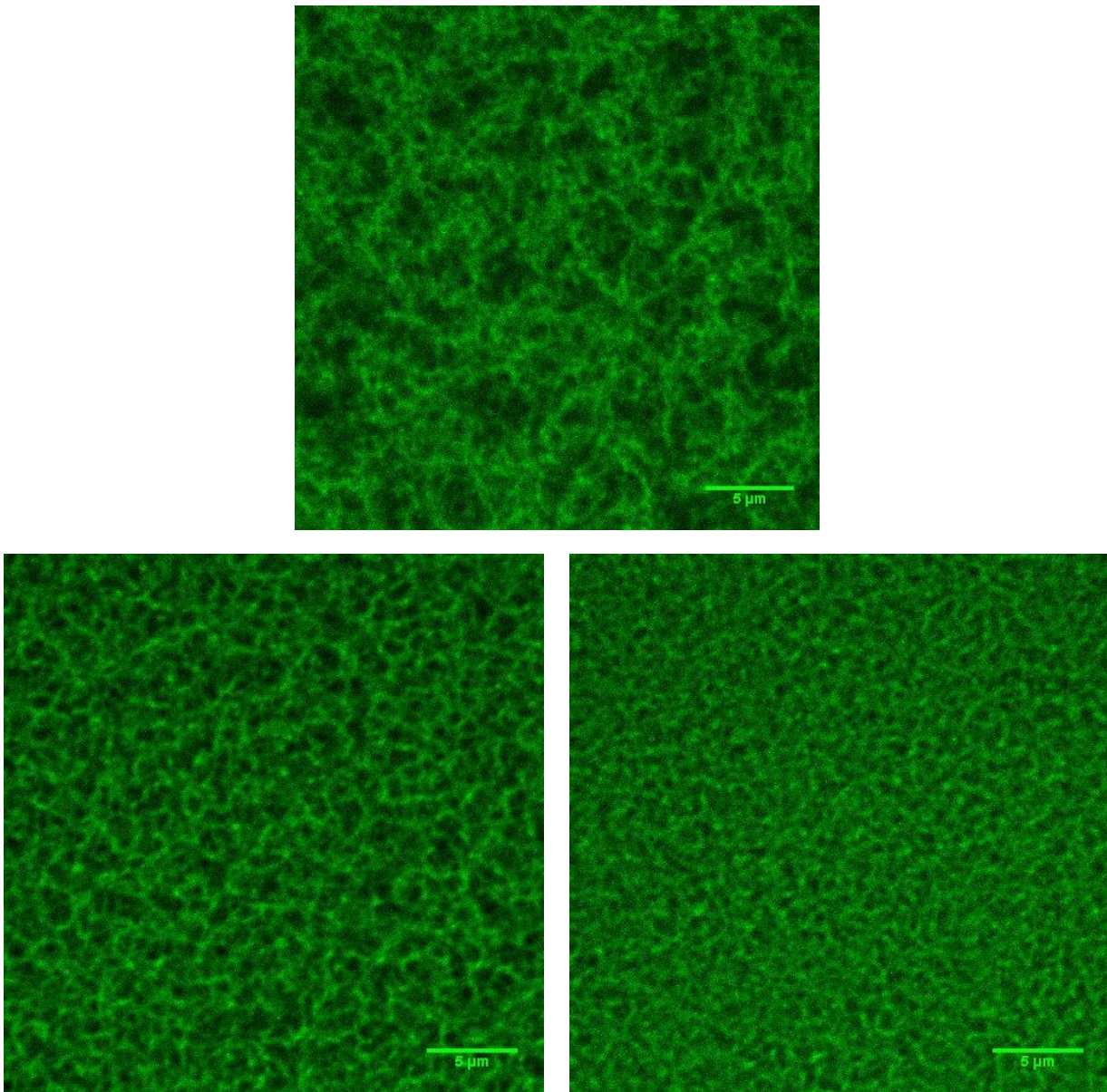


Abbildung 4.44 CLSM-Aufnahme des fluoreszierenden 0,5%-igen Agarosegels und unten links: der fluoreszierenden Agarose-Alginat-Gele, sowie unten rechts: Agarose-Xanthan-Gele im Mischungsverhältnis 1-1 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

Im Vergleich zu dem 0,25%-igen Agarosegel zeigt die Aufnahme des 0,5%-igem Gels eine wesentlich höhere Homogenität des Probenausschnitts. Die Netzwerkbildung scheint hier ausgeprägter und der Einschluss von Wasser ist gleichmäßiger verteilt. Auch zwischen den Mischungen mit Alginat und mit Xanthan kann wieder ein deutlicher Unterschied erkannt werden. Durch den größeren Anteil an Agarose wird auf den Bildern der Mischungen von Abbildung 4.44 ein dichteres und kompakteres Netzwerk erkannt. Trotzdem wirken die Netzwerkmaschen in der Mischung mit Alginat im Vergleich zu der Mischung mit Xanthan deutlich vergrößert.

Durch die Untersuchung der Mischungen im Verhältnis Agarose-Verdickungsmittel 3-1 kann noch deutlicher der Konzentrationseinfluss der Agarose auf die Netzwerkbildung beobachtet werden.

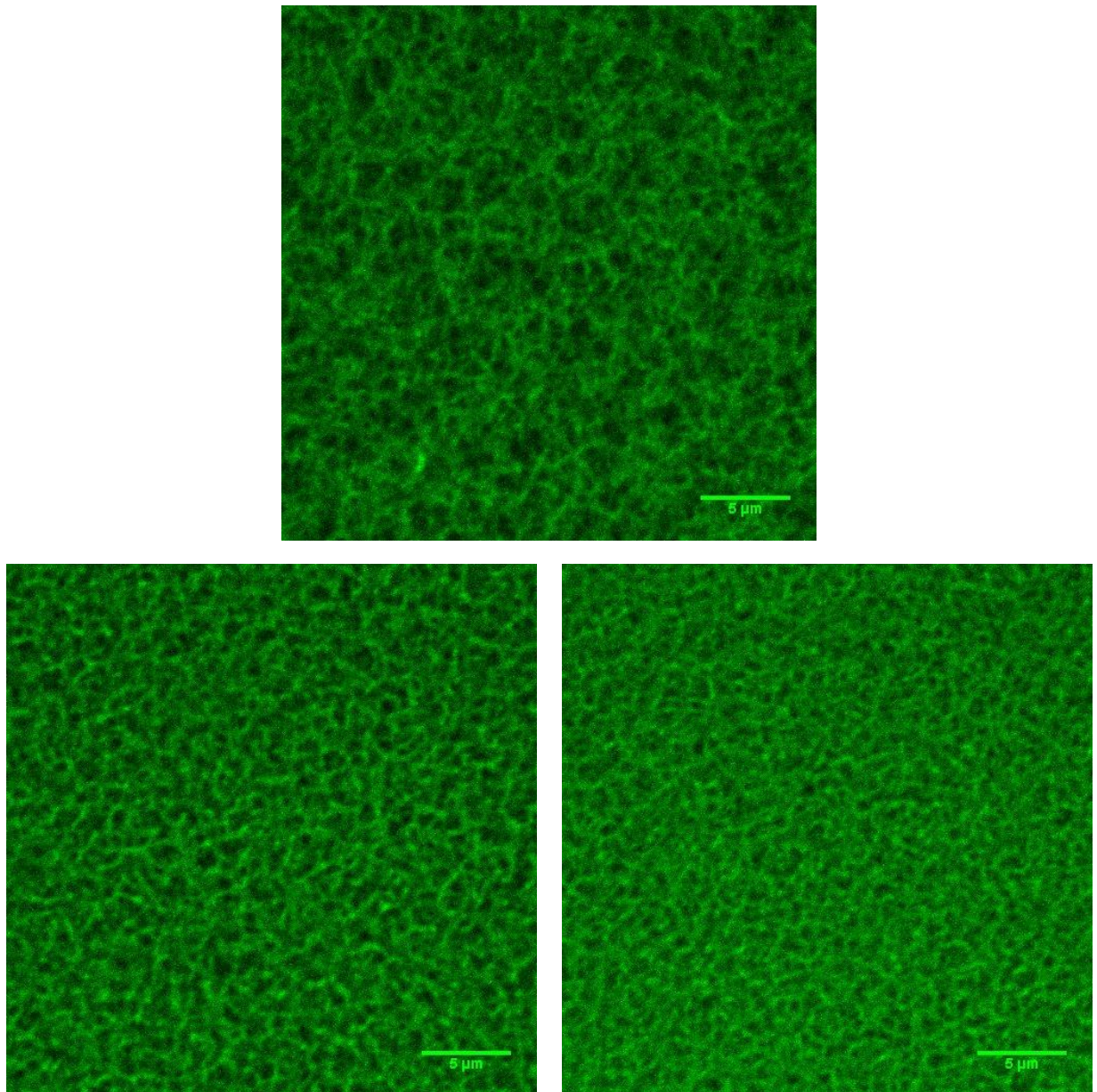


Abbildung 4.45 CLSM-Aufnahme des fluoreszierenden 0,75%-igen Agarosegels und unten links: der fluoreszierenden Agarose-Alginat-Gele, sowie unten rechts: Agarose-Xanthan-Gele im Mischungsverhältnis 3-1 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

Das Agarosegel mit 0,75% w/w zeigt ein noch kompakteres Netzwerk als das 0,5% konzentrierte Gel und eine gleichmäßig zusammenhängende Struktur kann beobachtet werden. Durch den Zusatz von Alginat bzw. Xanthan ergibt sich ein noch homogeneres Bild und die Kontur des Netzwerks wird gesteigert. Auch hier kann wieder die Vergrö-

berung der Netzwerkmaschen beim Alginat im Vergleich zum Xanthan beobachtet werden.

Zusammengefasst konnten also sehr schön durch die Aufnahmen der fluoreszierenden Agarosegele mit einem konfokalen Mikroskop die Modellvorstellungen der Netzwerkstrukturen in den verschiedenen Hydrokolloidmischungen bestätigt werden.

Zudem wurde zusätzlich noch der Einfluss der verschiedenen Disaccharide auf die Netzwerkbildung der reinen Agarosesysteme und der Mischsysteme durch die konfokale Mikroskopie untersucht. Leider konnten hier keine großen Unterschiede erkannt werden. Zusammengefasst lässt sich an dieser Stelle resümieren, dass durch den Zusatz von hohen Zuckerkonzentrationen (40% w/w) die Aufnahmen der reinen Agarosegele, sowie der unterschiedlich zusammengesetzten Mischungen weniger Konturen zeigten und die Analyse des Netzwerks erschwert wurde. Dies soll am Beispiel der Mischung Agarose-Alginat 1-3 mit 40% w/w Saccharose und Agarose-Xanthan 1-3 mit 40% w/w Saccharose in Abbildung 4.46 gezeigt werden. Die CLSM-Aufnahmen der anderen Hydrokolloidsysteme werden hier nicht aufgeführt und können bei Bedarf im Anhang dazu gezogen werden.

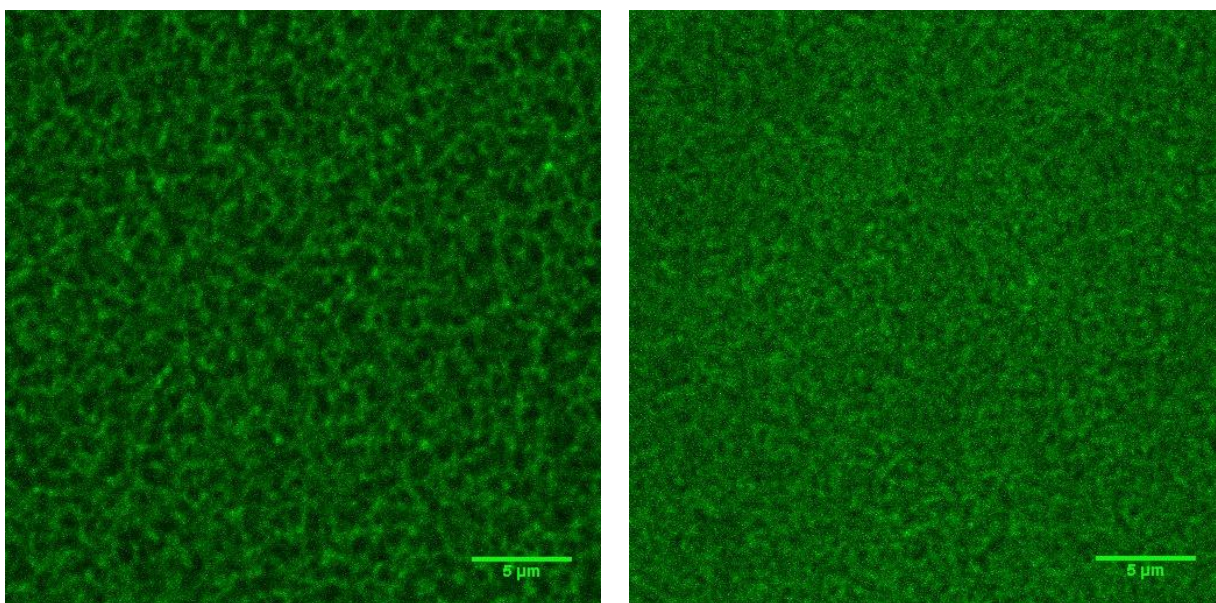


Abbildung 4.46 CLSM-Aufnahme der fluoreszierenden links: Agarose-Alginat-Gele mit 40% w/w Saccharose und rechts: Agarose-Xanthan-Gele 40% w/w Saccharose im Mischungsverhältnis 1-3 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

Vergleicht man diese Aufnahmen mit denen in Abbildung 4.43 kann eine deutliche Veränderung der Netzwerkstrukturen beobachtet werden. Das Bild der Agarose-Alginat-Mischung lässt eine Verkleinerung der dunklen Flecken und somit der Netzwerkmaschen vermuten. Diese Beobachtung würde mit der Theorie zusammen passen, dass durch den Zuckerzusatz die Verknäulungsdichte der Alginatketten in den Maschen

des Agarosenetzwerks vergrößert wird und somit das Aufquellen der Maschen minimiert wird. In der Agarose-Xanthan-Zuckermischung erscheinen die Netzwerkmaschen noch kleiner als in der Mischung ohne Zuckerzusatz. Bei zu hoher Zuckerkonzentration wird die Durchmischung des Systems aufgrund der hohen Viskosität des Xanthans stark erschwert und die Diffusion der Agarosehelices und deren Aggregation behindert. Die Netzwerkbildung wird räumlich noch weiter eingeschränkt und engere Maschen resultieren. Die anderen Hydrokolloidsysteme zeigten leider nicht so ausgeprägte Unterschiede durch den Zuckerzusatz und sind deshalb nur zur Vollständigkeit im Anhang dokumentiert.

4.3.2 Strukturaufklärung durch Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Durch das Rasterelektronenmikroskop können noch detailliertere Aufnahmen der Strukturen in den unterschiedlichen Hydrokolloidsystemen gewonnen werden. Allerdings ist die Interpretation der Bilder sehr schwierig, da die Probenpräparation große strukturelle Veränderungen hervorrufen kann und in den Hydrokolloidmischungen nicht definiert geklärt werden kann welche Struktur von welchem Hydrokolloid verursacht wird. Außerdem handelt es sich bei den gezeigten Bildern um Aufnahmen eines sehr kleinen Teils der Probe und die Repräsentation der gesamten Probe ist stets abzuwiegen. Um mögliche Struktureigenschaften der verschiedenen Hydrokolloide zu untersuchen wurden Aufnahmen der reinen Hydrokolloidsysteme, sowie der Mischungen in den Verhältnissen 1-3, 1-1 und 3-1 gemacht. Bei allen folgenden Bildern ist stets auf den rotumrandeten Größenmaßstab zu achten. Die Abbildung der Systeme mit Zuckerzusatz wurde versucht, aber nicht weiter verfolgt, da bei dem Trocknungsprozess Zuckerkristallbildung beobachtet wurde und die REM-Aufnahmen keine strukturellen Erscheinungen der Hydrokolloide zuließen. Am Beispiel eines 1%-igen Agarosegels mit 40% w/w Trehalosezusatz soll dies verdeutlicht werden.

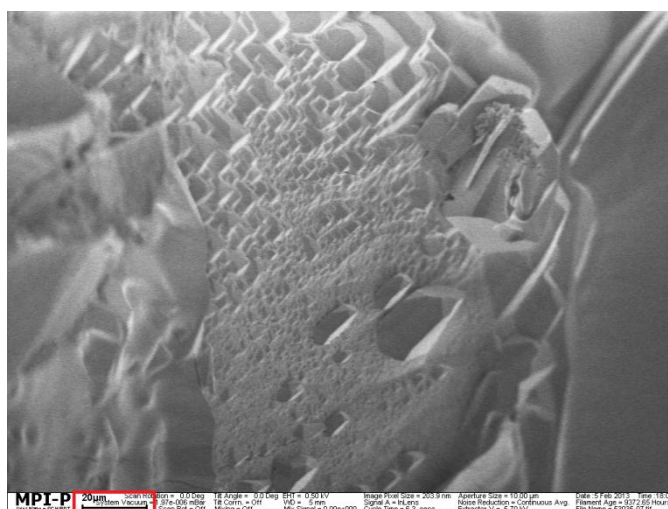


Abbildung 4.47 REM-Aufnahmen eines durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-igen Agarosegels mit 40% w/w Trehalosezusatz.

Deutlich kann hier die Bildung von Trehalosekristallen beobachtet werden. Der Rest der Probenoberfläche besteht allerdings nur aus einer glatten Fläche auf der keine Strukturen, die von Hydrokolloiden herrühren könnten, zu sehen sind.

In der folgenden Abbildung sind die REM-Aufnahmen eines 1%-igen Agarosegels, welches zunächst gefriergetrocknet wurde, dargestellt. Deutlich kann hier die Existenz eines feinen Netzwerkes erkannt werden.

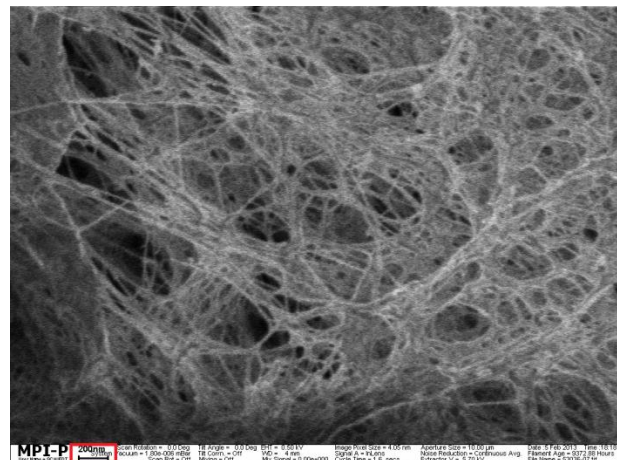
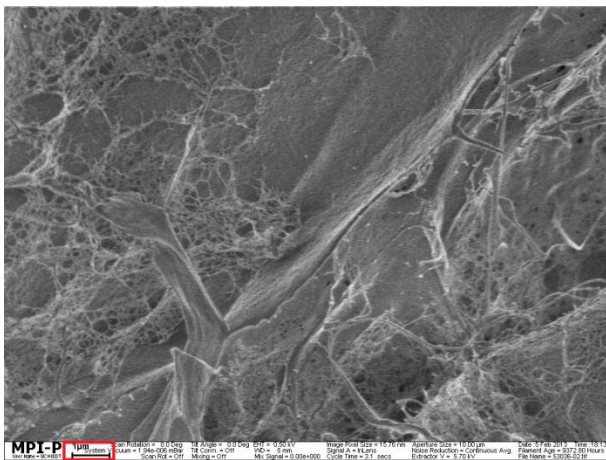
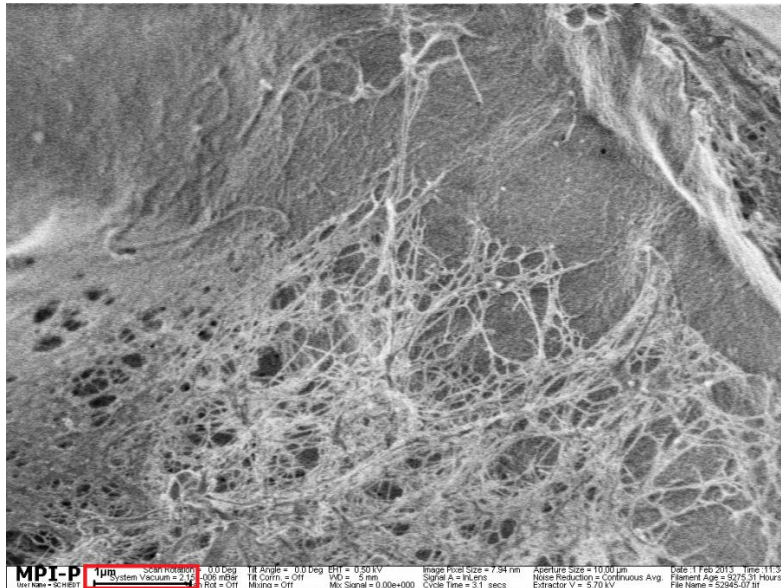


Abbildung 4.48 REM-Aufnahmen eines durch Gefrier Trocknung getrockneten 1%-igen Agarosegels in verschiedenen Auflösungen.

Im Vergleich dazu zeigen die Polysaccharide Alginat (Abb. 4.49) und Xanthan (Abb.4.50) nur verknäulte und verhakete Stränge, die beim Alginat fein voneinander getrennt wirken und beim Xanthan mehr zusammen „kleben“.

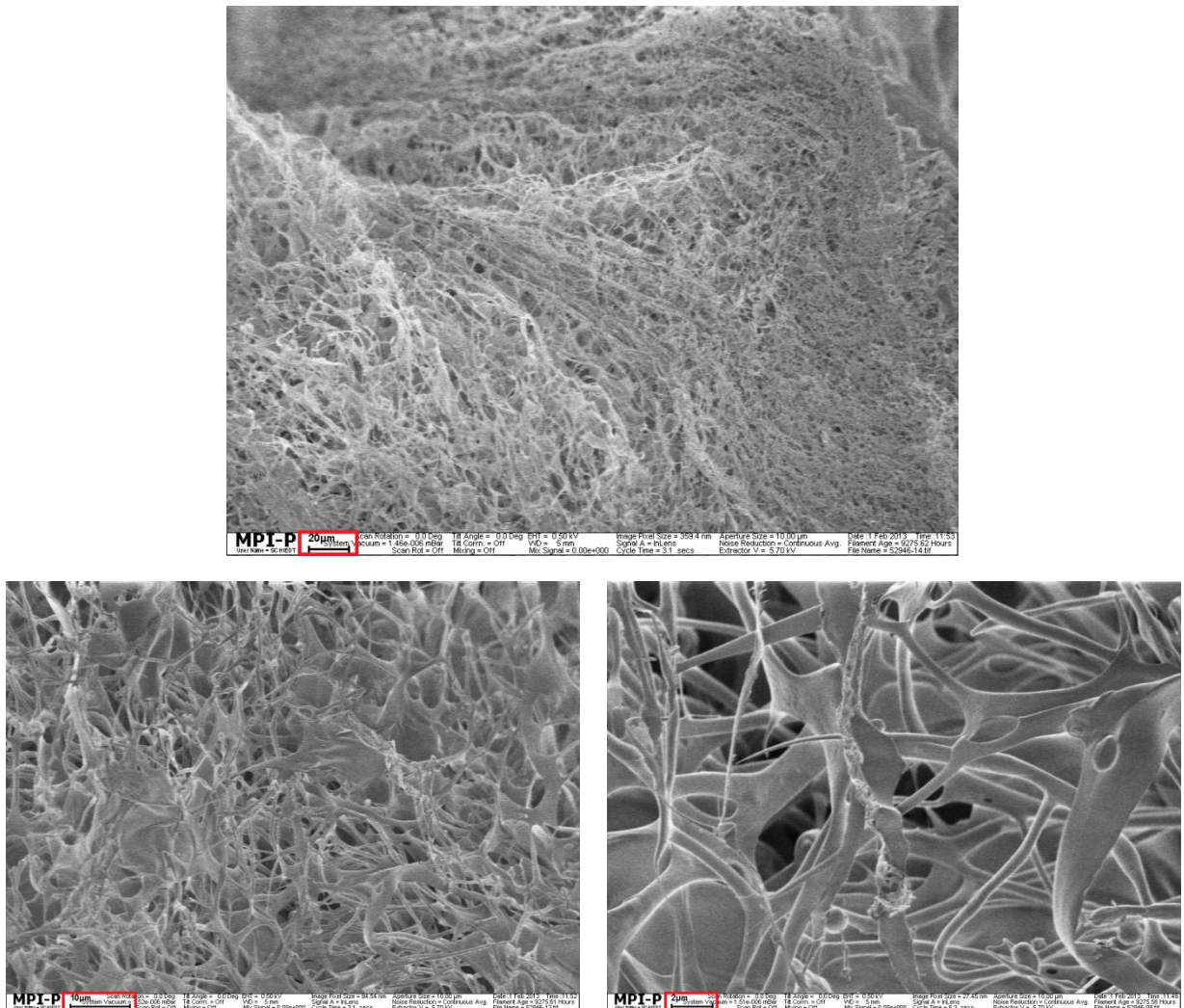
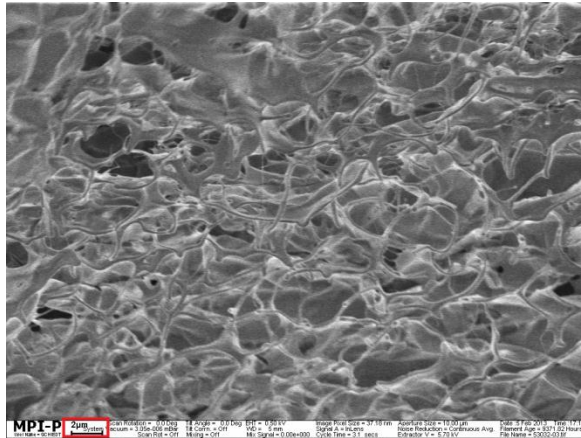


Abbildung 4.49 REM-Aufnahmen einer durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-igen Alginitlösung in verschiedenen Auflösungen.

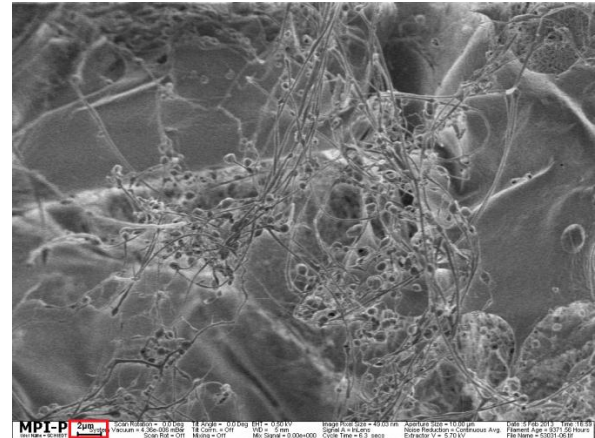
Die obere Abbildung lässt vermuten, dass sich auch hier beim Alginat eine Art Netzwerk bildet; durch eine höhere Vergrößerung wird aber sichtbar, dass es sich um kein Netzwerk mit Verknötungspunkten handelt, sondern nur um viele einzelne Polymerstränge, die ineinander verwickelt sind. Die Strukturen in der Xanthandispersion wirken etwas klumpiger und die Verteilung der einzelnen Stränge weniger homogen.

werden, jedoch wird hier kein deutlicher Unterschied zwischen Alginate und Xanthan sichtbar.

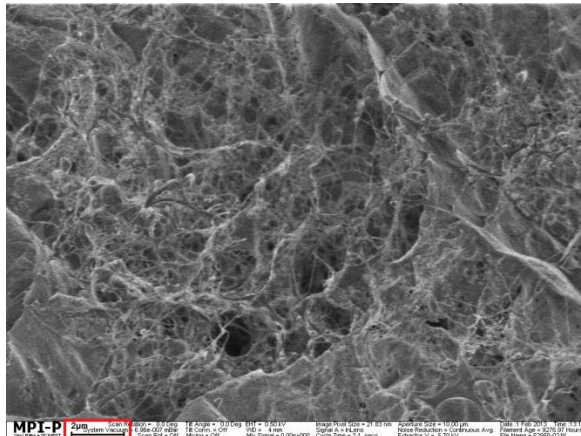
Agarose-Alginat 1-3



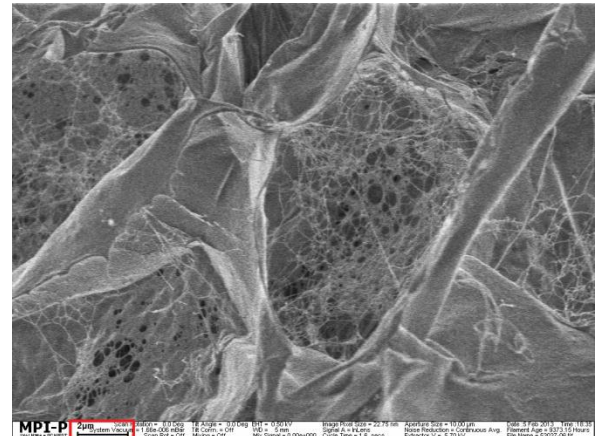
Agarose-Xanthan 1-3



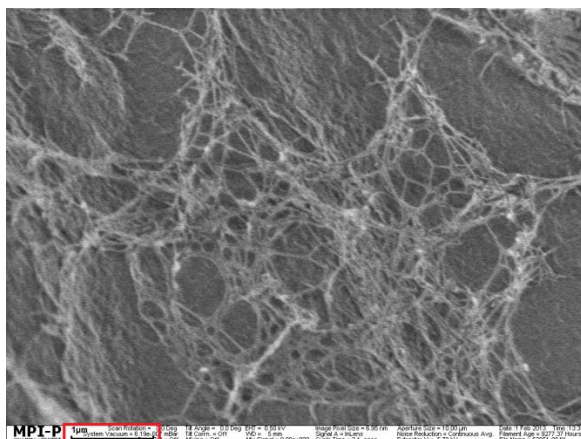
Agarose-Alginat 1-1



Agarose-Xanthan 1-1



Agarose-Alginat 3-1



Agarose-Xanthan 3-1

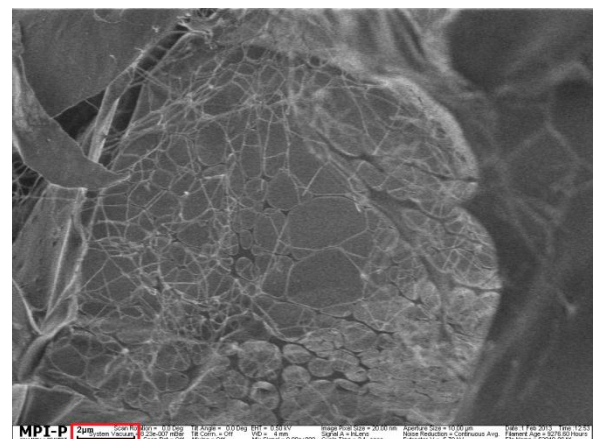


Abbildung 4.51 REM-Aufnahmen der durch Gefriertrocknung getrockneten 1%-tigen Agarose-Alginat-Gele bzw. Agarose-Xanthan-Gele in drei verschiedenen Zusammensetzungen.

4.4 Analyse der thermischen Eigenschaften durch kalorimetrische Messungen

Um die schon in Kapitel 4.1.7 gewonnenen Erkenntnisse über das thermische Verhalten und über die thermischen Stabilitäten der verschiedenen Hydrokolloidsysteme zu vertiefen, sollten zusätzlich DSC-Messungen durchgeführt werden. Das Finden von aussagekräftigen Ergebnissen erwies sich jedoch als sehr schwierig. Die Problematik der Hydrogele als Messsysteme liegt in ihrem hohen Wasseranteil. Es wurden Aluminiumtiegel mit einem Fassungsvermögen von 100 μL verwendet, deren maximaler Überdruck auf 0,2 MPa beschränkt war. Beim Erhitzen der Gele wird Wasserdampf frei und der Druck in dem Tiegel steigt, dementsprechend konnte hier die Maximaltemperatur von $T = 95\text{ }^\circ\text{C}$ nicht überschritten werden und mögliches Aufschmelzen der Gele bei höheren Temperaturen nicht detektiert werden. Zudem begrenzte das Volumen der Tiegel die Einfüllmenge. Da die Gele ein enormes Volumen einnehmen und immer nur 1% Polymer in dem Gel enthalten waren, war die effektive Substanzmenge nur sehr klein. Auch die Verwendung von Wasser als Referenz erforderte ein sehr präzises Angleichen an das Probengewicht und verursachte schon bei kleinen Abweichungen Veränderungen der Messkurven. Die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse konnte nur unzureichend erfüllt werden, weshalb hier leider nur wenige präsentierbare Ergebnisse gefunden werden konnten.

Die folgende Abbildung zeigt die Thermogramme des 1%-igen Agarosegels, mit 20% w/w und 40% w/w Saccharosezusatz beim Aufheizen.

Auf die Auftragung der Abkühlkurve wurde hier verzichtet, da hier keine Erscheinungen zu beobachten waren. Die Sensitivität der hier verwendeten DSC reichte also leider nicht aus, um die geringe frei werdende Energie während dem Gelierungsprozess am Gelpunkt zu detektieren. Der Gelpunkt sollte nämlich in Form eines exothermen Peaks auf der Abkühlkurve zu erkennen sein.

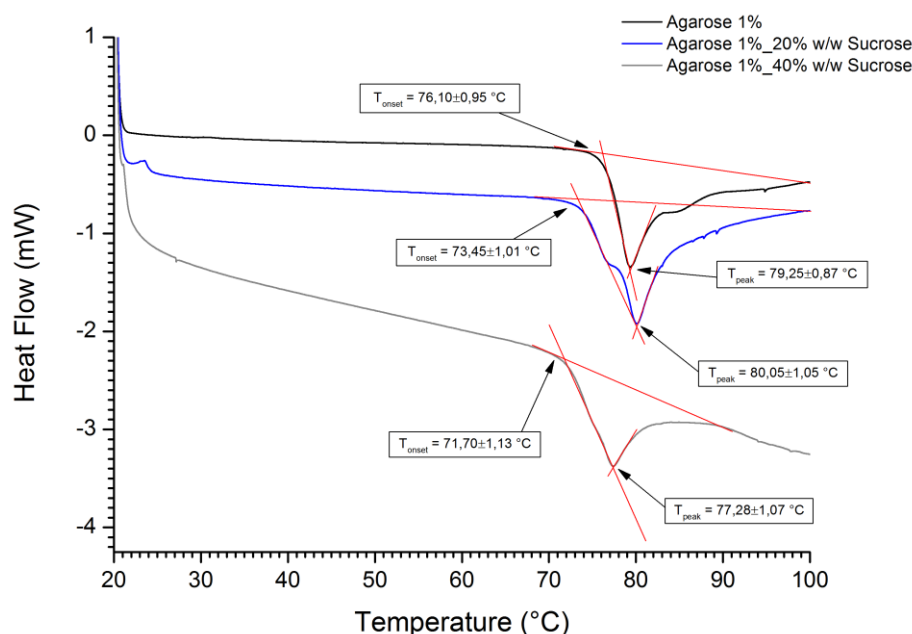


Abbildung 4.52 Aufheizkurve des 1%-igen Agarosegels (schwarz), Agarose mit 20% w/w Saccharosezusatz (blau) und Agarose mit 40% w/w Saccharosezusatz (grau) mit einer Heizrate von 1 K/min.

In Abbildung 4.52 ist der Schmelzprozess der Gele in Form eines endothermen Peaks zu beobachten. Dabei wird eine Verschiebung der Temperatur bei der das Schmelzen beginnt (T_{onset}) zu kleineren Werten mit wachsender Zuckerkonzentration sichtbar. Mit wachsender Zuckerkonzentration beginnt der Schmelzprozess der Gele also schon bei geringeren Temperaturen und die thermische Stabilität nimmt geringfügig ab. Der Schmelzpunkt fällt mit dem Minimum der Aufheizkurve (T_{peak}) zusammen und zeigt unter Einbeziehung der Fehlergrenzen nur eine sehr geringe Verschiebung mit wachsender Zuckerkonzentration. Der Schmelzpunkt des Agarosegels mit 40% w/w Saccharosezusatz liegt um 1,97 °C unter dem des reinen Agarosegels. Wie schon in Kapitel 4.1.6 diskutiert, vermindern die Zuckermoleküle die Beweglichkeit der Agarosehelices und die Wahrscheinlichkeit, dass die Helices aggregieren und das dreidimensionale Netzwerk ausbilden wird verringert. Dementsprechend ist die Anzahl an Verknüpfungszonen in dem Netzwerk kleiner. Beim Schmelzen der Gele werden zunächst genau diese Zonen gelöst, gefolgt von dem Übergang der Agarosehelices in willkürlich verteilte Knäuel in der erhaltenen Lösung. Ist die Dichte der Verknüpfungszonen in dem Netzwerk nun geringer, nimmt die thermische Stabilität auch ab und der Schmelzprozess beginnt schon bei tieferen Temperaturen. Schon durch die temperaturabhängigen Oszillationsmessungen konnte dieser Einfluss des Zuckers auf die thermische Stabilität der Agarosegele vermutet werden.

Die thermische Stabilität nimmt auch stark durch den Zusatz der anderen Hydrokolloide Alginat bzw. Xanthan ab. Wie in Abbildung 4.53 erkennbar ist verschiebt sich der Beginn des Schmelzprozesses durch die Mischung mit Alginat und Xanthan zu noch kleineren Temperaturen. Im Vergleich zu dem reinen Agarosegel aus Abbildung 4.52 verringert sich T_{onset} um $2,47\text{ °C}$ für die Mischung mit Alginat im Verhältnis 1-1 und um $3,53\text{ °C}$ mit Xanthan. Diese Abnahme der thermischen Stabilität konnte auch schon in Kapitel 4.1.7 beobachtet werden. Zunächst ist die Konzentration des Gelierungsmittels Agarose hier nur $0,5\%$, wodurch das dreidimensionale Netzwerk weniger homogen und fest aufgebaut wird, dementsprechend ist die thermische Stabilität auch verringert. Die Mischung mit Xanthan beginnt im Vergleich zu der mit Alginat schon bei minimal geringerer Temperatur zu schmelzen. Diese Beobachtung lässt sich ebenfalls auf den Gelierungsprozess zurückführen. Durch die starre Anordnung der Xanthanstäbchen ist die Mobilität der Agarosehelices verringert und das resultierende Netzwerk ist weniger stark ausgebildet.

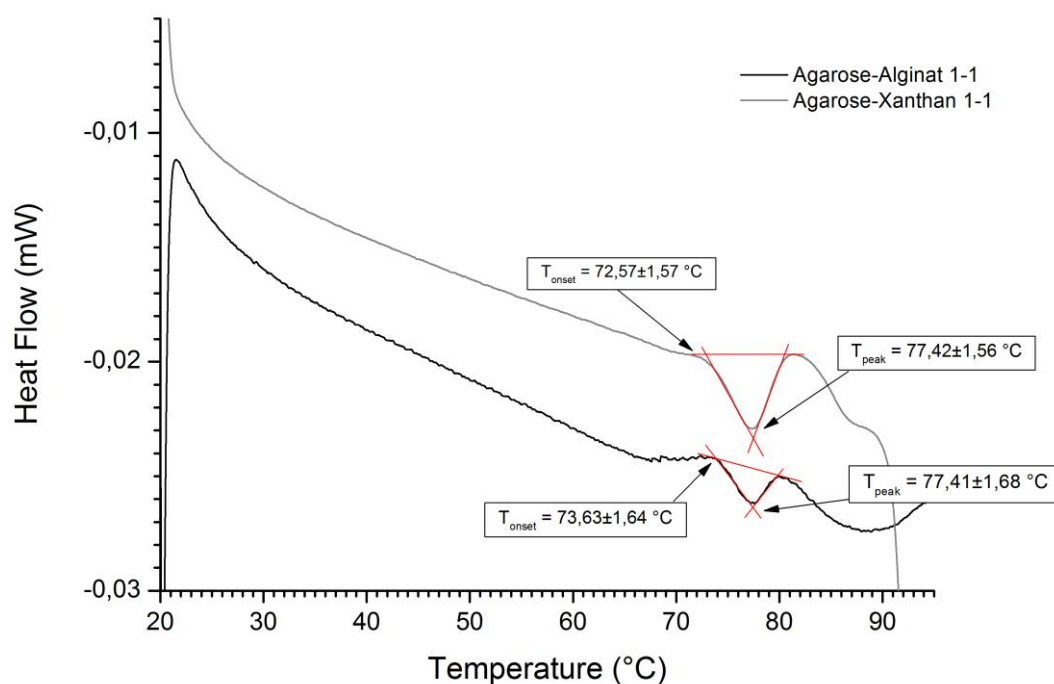


Abbildung 4.53 Aufheizkurve des 1%-igen Agarose-Alginat-Gels 1-1 (schwarz), Agarose-Alginat 1-3 (blau) und Agarose-Xanthan 1-1 (grau) mit einer Heizrate von 1 K/min .

An dieser Stelle soll nochmal erwähnt sein, dass die zuvor interpretierten Ergebnisse auf einer stark fehlerbelasteten Messmethode beruhen und eine weitere Verifizierung von Nöten ist.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Gelbildung des Gelbildners Agarose, sowie in Verbindung mit den Verdickungsmitteln Alginat und Xanthan untersucht und analysiert. Zudem zeigten sich enorme strukturelle Veränderungen durch den Zusatz der Disaccharide Saccharose und Trehalose. Durch rheologische Untersuchungen konnten aufschlussreiche Erkenntnisse über die Wechselwirkungen der unterschiedlichen Hydrokolloide und über den Einfluss der Disaccharide in den jeweiligen Hydrokolloidsystemen gewonnen werden. Eine detaillierte Betrachtung der viskoelastischen Eigenschaften der Rein- und Mischsysteme durch scherratenabhängige Viskositätsmessungen und deformationsabhängige Oszillationsmessungen zeigte deutliche Differenzen in den mechanischen Eigenschaften. 1-1-Mischungen aus den Komponenten Agarose und Xanthan bildeten weniger elastische Gele, besitzen jedoch einen längeren LVE-Bereich, als vergleichbar konzentrierte Agarosegele. Die Mischung mit Alginat hingegen zeigte elastischere Eigenschaften. Durch diesen Befund und weiteren Ergebnisse konnten unter anderem Modelvorstellungen über die Struktur und Anordnung der verschiedenen Hydrokolloide in der Mischung und über die Auswirkungen auf die Netzwerkbildung der Agarose entwickelt werden. Das Agarosenetzwerk besteht aus einem dreidimensionalen Netz aus aggregierten Agarosehelices, getrennt durch verknäulte Kettenenden. Alginat liegt in Lösung als verhakte Polymerknäuel vor und kann sich so in die Netzwerkmaschen einlagern. Dadurch werden die Maschen des Agarosenetzwerks gequollen und es kann mehr Energie bei einer Deformation gespeichert werden. Xanthan erfährt in Lösung ab einer bestimmten Konzentration eine sogenannte *jamming transition*. Dabei liegen die geladenen und starren Xanthanmoleküle in einer stark geordneten Konformation vor und sind lokal immobilisiert. Bei der Gelbildung ist die Bewegung der Agarosehelices in der Mischung mit Xanthan stark eingeschränkt und es bilden sich weniger Verknüpfungszonen in dem Netzwerk aus. Die Elastizität der Gele sinkt. Durch die Mischung von Agarose mit Alginat können also elastischere Gele und durch den Zusatz von Xanthan deformationsstabilere Gele produziert werden.

Eine genauere Betrachtung der Wechselwirkungen beim Zusatz von unterschiedlichen Konzentrationen an niedermolekularen Co-Soluten, Saccharose und Trehalose, zeigte verschiedene Auswirkungen in den jeweiligen Hydrokolloidsystemen. In dem reinen Agarosegel konnte mit wachsender Zuckerkonzentration eine Zunahme des elastischen Anteils beobachtet werden. Der Vergleich mit einem effektiv hochkonzentrierten Agarosegel zeigte jedoch eine Abnahme. Es wurden zwei konkurrierende Effekte beim Zusatz von Zucker sichtbar. Zum einen verursacht die hohe Zuckerkonzentration einen Mangel an freiem Wasser, wodurch die effektive Agarosekonzentration in dem System steigt und Gele mit hohen Modulwerten gebildet werden. Die Zuckermoleküle verursa-

chen jedoch eine Abnahme der Mobilität und behindern die Aggregation der Helices und es zeigt sich ein weniger elastischer Anteil. Beim Alginat hingegen erhöhen die Zuckermoleküle die Verknäulungsdichte der Polymerketten und der elastische Charakter wird gesteigert. In Dispersionen aus Xanthan/Zucker-Gemischen destabilisieren die Zuckermoleküle die verkeilte Anordnung der Xanthanstäbchen und verursachen somit eine Verringerung des elastischen Moduls. Die Mischungen aus Agarose-Alginat bzw. Agarose-Xanthan zeigten mit hohem Zuckerzusatz eine Abnahme des elastischen Moduls. Das durch die Agarose gebildete Netzwerk wird dabei durch den Zuckerzusatz destabilisiert. Bei allen Hydrokolloidsystemen konnte stets ein stärkerer Einfluss durch Trehalose als durch Saccharose beobachtet werden. Trehalose bildet durch die sterische Anordnung der Hydroxylgruppen stärkere Wechselwirkungen mit den Wassermolekülen aus und konkurriert somit stärker mit den Hydrokolloiden um Wasserstoffbrückenbindungen.

Temperaturabhängige Oszillationsmessungen verdeutlichten den Zuckereinfluss auf die thermischen Eigenschaften der Hydrokolloidsysteme und konnten durch entsprechende DSC-Messungen teilweise bestätigt werden. Mit wachsender Zuckerkonzentration verschob sich die Geltemperatur in allen Gelen geringfügig zu höheren Temperaturen. Durch die Bindung des Wassers an den Zuckermolekülen verkleinert sich das den Hydrokolloiden zur Verfügung stehende effektive Volumen, in dem sich die bei hoher Temperatur noch frei beweglichen Agarosehelices befinden. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei oder mehrere Helices treffen und durch intermolekulare Wechselwirkungen zusammenlagern können, wird erhöht und die Ausbildung des dreidimensionalen Netzwerks wird beschleunigt. Die Betrachtung der thermischen Stabilität beim Wiederaufheizen der Gele zeigte ein unterschiedliches Verhalten der Mischungen mit Xanthan bzw. Alginat. Die reinen Agarosegele ließen eine Abnahme der thermischen Stabilität mit wachsender Zuckerkonzentration erahnen. Mit wachsender Zuckerkonzentration wird die Ausbildung des Agarosenetzwerks behindert und die Gele können schon bei kleineren Temperaturen aufgeschmolzen werden. Die Mischung Agarose-Alginat zeigte ebenfalls eine Abnahme der thermischen Stabilität mit wachsender Zuckerkonzentration. Der elastische Anteil der in den Agarosenetzwerkmaschen eingeschlossenen Alginatketten nimmt mit wachsender Zuckerkonzentration bei wachsender Temperatur schneller ab und der Widerstand des Netzwerks, sich bei Wärmezufuhr zu lösen, dementsprechend ab. Die hier untersuchten Agarose-Xanthan-Systeme zeigten hingegen eine Zunahme der thermischen Stabilität mit wachsender Zuckerkonzentration. Mit wachsender Zuckerkonzentration wird die anisotrope Orientierung der Xanthanstäbchen weiter gestört, die Mobilität der Agarosehelices gesteigert und die resultierenden Gele erhalten eine höhere Hitzeresistenz. Je nach Verdickungsmittel und Zuckerzusatz kann also das thermische Verhalten je nach Anwendungsgebiet angepasst und modifiziert werden.

Weitere Ergebnisse konnten auch durch die Untersuchung der Wasserbindungsfähigkeit der unterschiedlichen Hydrokolloidsysteme und unter Einwirkung der Disaccharide gewonnen werden. Durch zwei unterschiedliche Auswertungsmethoden konnte sowohl der Zuckereinfluss, wie auch die Fähigkeit der Hydrokolloide Wasser zu binden, studiert werden. Bei allen Systemen, seien es die reinen Hydrokolloidsysteme oder die Mischsysteme, konnte jeweils eine stetige Zunahme der Wasserbindungsfähigkeit mit ansteigendem Zuckergehalt beobachtet werden. Dabei hatte der Trehalosezusatz immer einen dominanteren Einfluss als der Saccharosezusatz. Durch die wachsende Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Wassermolekülen und Disaccharid, wird die Wasserbindung erhöht und die Entfernung des Wassers aus dem System wird zunehmend erschwert. Agarose bzw. die Mischungen mit Alginat und Xanthan zeigen eine ausgeprägtere Fähigkeit das Systemwasser zu binden. Neben den Wasserstoffbrückenbindungen können die Wassermoleküle hier zusätzlich in den Netzwerkmaschen eingeschlossen werden und die Diffusion der Wassermoleküle wird weiter erschwert. Alginat ist im Vergleich zum Xanthan das effektivere Verdickungsmittel bezüglich der Wasserbindung. Aufgrund entropischer Wechselwirkungen erscheint es für die Wassermoleküle günstiger sich an die flexiblen Alginatketten anzulagern, als ein Bindung mit den starren und festorientierten Hydroxylgruppen der Xanthanstäbchen einzugehen. Durch den Zuckerzusatz und besonders durch die Zugabe von Trehalose mehr als von Saccharose kann also das Wasserbindungsvermögen der Hydrokolloidsysteme verbessert werden.

Die konfokale Mikroskopie bestätigte durch detaillierte Aufnahmen im wenigen μm -Bereich die Modelldarstellung der Polymeranordnung in den ausgehärteten Gelen und durch entsprechende Rasterelektronenaufnahmen wurden repräsentative Strukturmerkmale der unterschiedlichen Hydrokolloide gefunden.

Die Analyse der thermischen Eigenschaften durch DSC-Messungen erfordert noch zusätzliche Verifizierung der gesammelten Ergebnisse und muss noch auf mehrere Zusammensetzungen erweitert werden. Zudem wäre noch eine detaillierte Analyse des Knäuel-Helix-Übergangs der Agaroseketten während dem Gelierungsprozess durch beispielsweise CD-Spektroskopie (Circulardichroismus) interessant. Auch hier könnte ein möglicher Einfluss durch Zuckerkonzentrationen beobachtbar sein. Auch der Gelbildungsprozess des reinen Agarosenetzwerks lässt noch offene Fragen auf. Zum Beispiel konnte noch nicht geklärt werden ob die Festigkeit des Netzwerkes von der Anzahl der Verknüpfungszonen aus aggregierten Agarosehelices oder von der Länge dieser Helices abhängt. Unterschiedliche Streumethoden zur Bestimmung von Korrelationsgrößen könnten hier eventuell Aufschluss geben. Frequenzabhängige Oszillationsmessungen könnten weitere Erkenntnisse über die viskoelastischen Eigenschaften der Hydrokolloide erlauben. Wie schon im Einführungskapitel gezeigt wurde, gibt es zahlreiche Verdickungs- und Gelierungsmittel mit unterschiedlichsten Eigenschaften und

das Entwickeln neuer Kombination dieser Hydrokolloide ermöglicht eine Ausweitung vieler Anwendungsgebiete. Interessant wäre es auch den Einfluss anderer Disaccharide oder Monosaccharide, sowie synthetischer oder natürlicher Süßstoffe (z.B. Aspartam oder Stevia), zu studieren. Da Hydrokolloide unter anderem ein sehr großes Anwendungsspektrum im Bereich der Lebensmittelindustrie besitzen, ist deren genaues physikalisches Verständnis von Nöten.

In dieser Arbeit konnte also gezeigt werden, dass Hydrogele aus einem Agarosenetzwerk durch den Zusatz von Verdickungsmitteln wie Alginat oder Xanthan, sowie durch kontrollierte Zuckerzusätze entsprechend ihren Anforderungsbedingungen modifiziert werden können. Materialspezifische Eigenschaften, wie Viskoelastizität, Textur, Wasserbindungsverhalten, Gelbildungstemperatur oder Hitzestabilität können so angepasst werden und ihr Anwendungsbereich enorm vergrößert werden.

Anhang A Temperaturabhängige Messungen

A.1 Vergleichsmessungen am KIT Karlsruhe

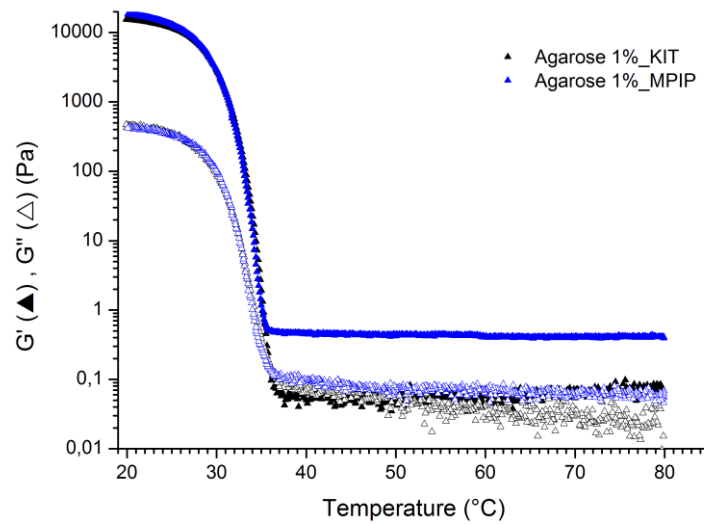
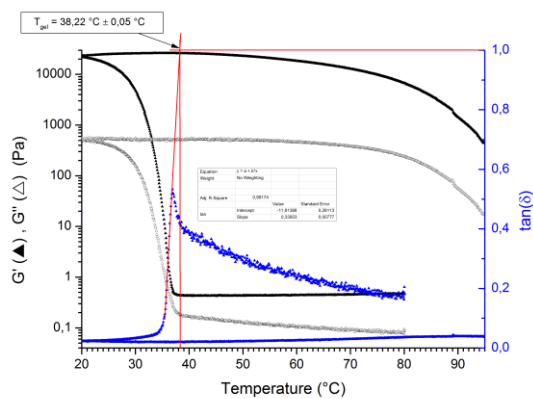


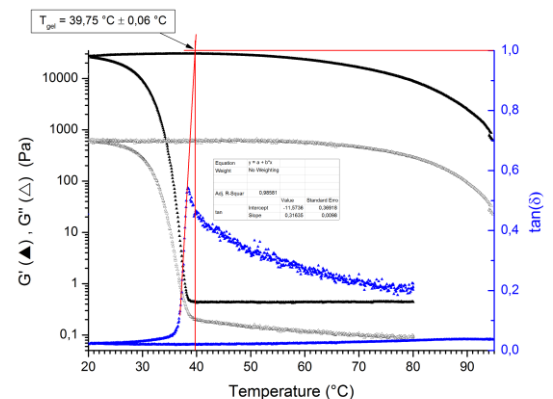
Abbildung A.1 Temperaturabhängige Oszillationsmessung der 1%-igen Agarose im Vergleich zu den Messungen an dem hochsensitivem DHR3 Rheometer von TA Instruments am KIT in Karlsruhe.

A.2 Auswertung der Gelierungstemperaturen

Agarose 1%_20% Sucrose



Agarose 1%_20% Trehalose



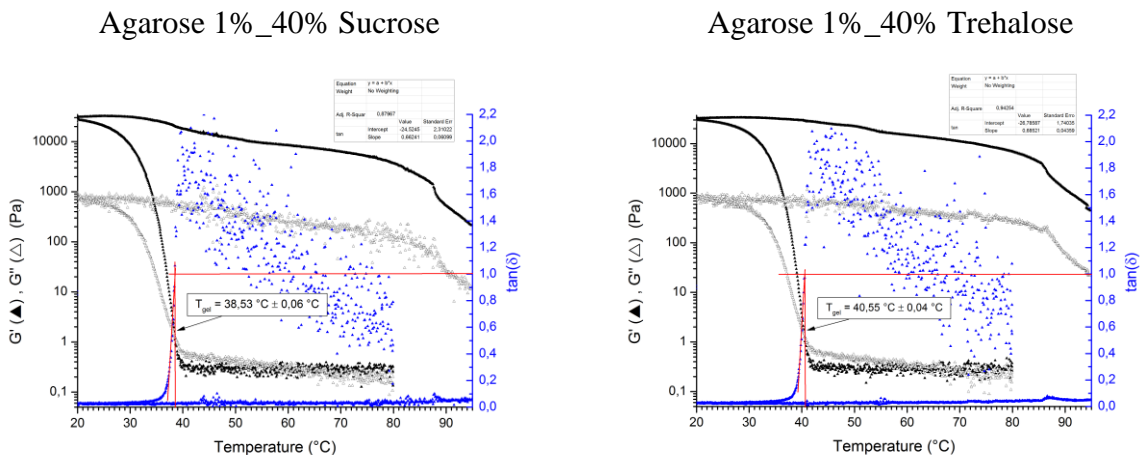
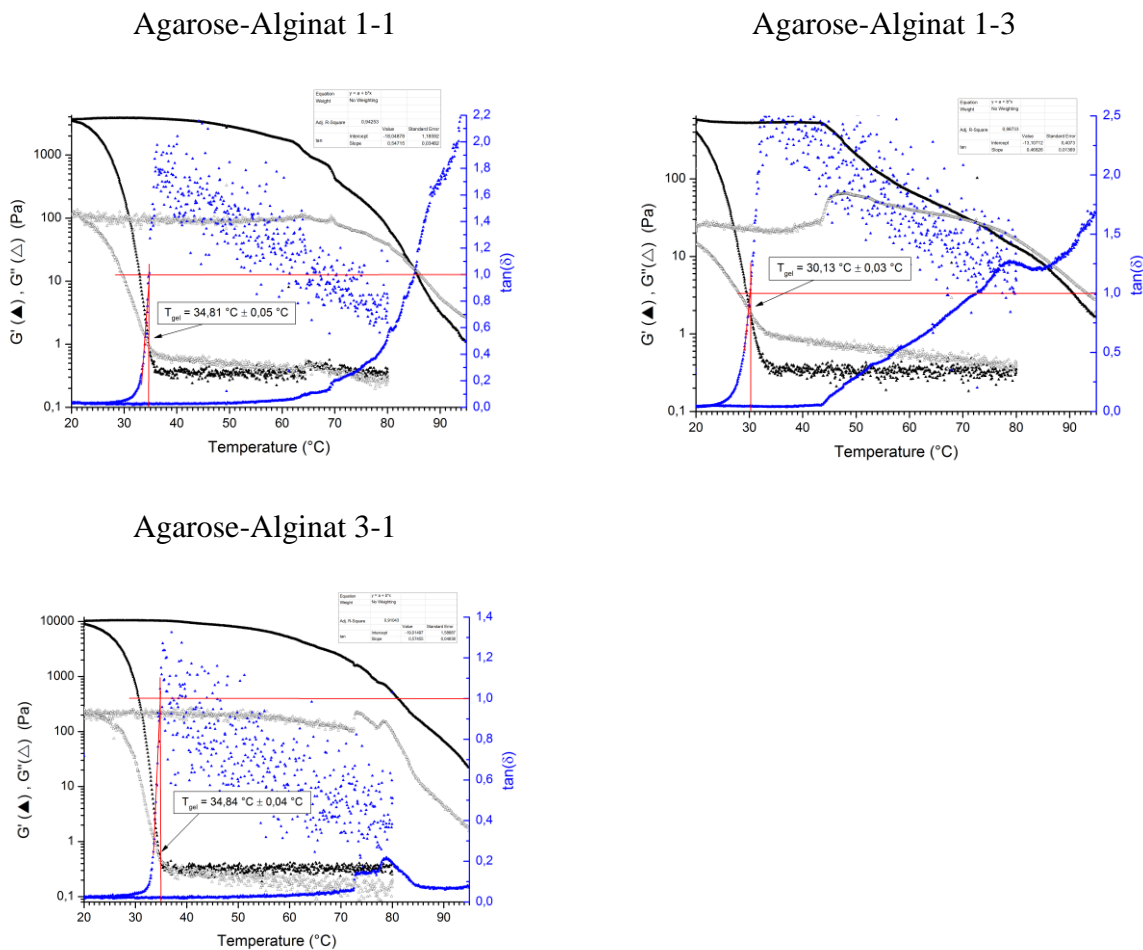
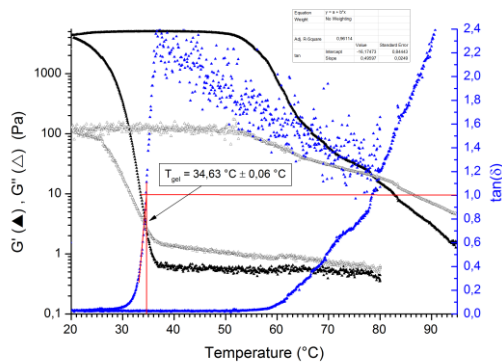


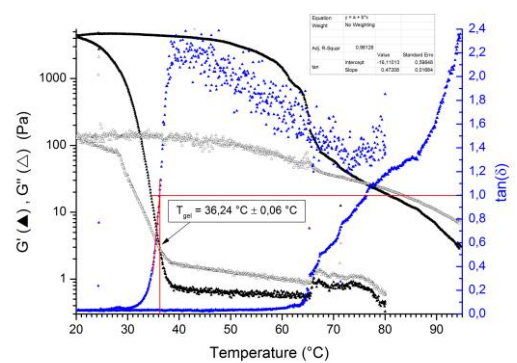
Abbildung A.2 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan \delta$ als Funktion der Temperatur für 1%-ige Agarose mit entsprechendem Zuckerzusatz. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgerade und den Schnittpunkt mit der Abszisse bzw. Ordinate.



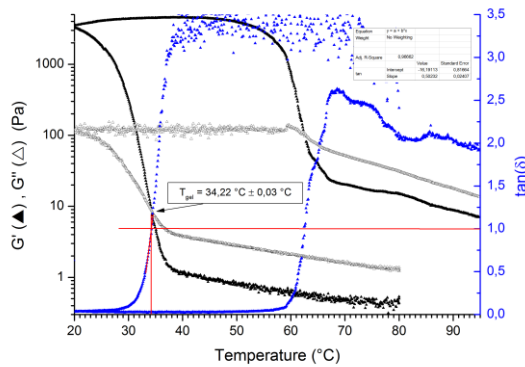
Agarose-Alginat 1-1_20% Sucrose



Agarose-Alginat 1-1_20% Trehalose



Agarose-Alginat 1-1_40% Sucrose



Agarose-Alginat 1-1_40% Trehalose

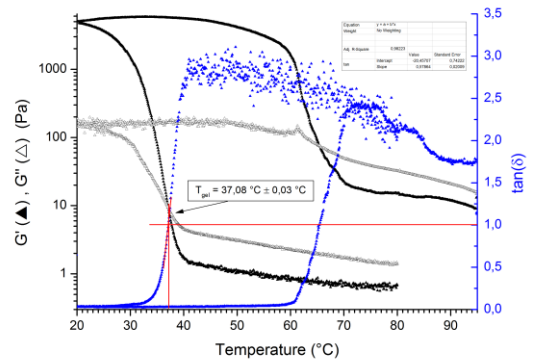
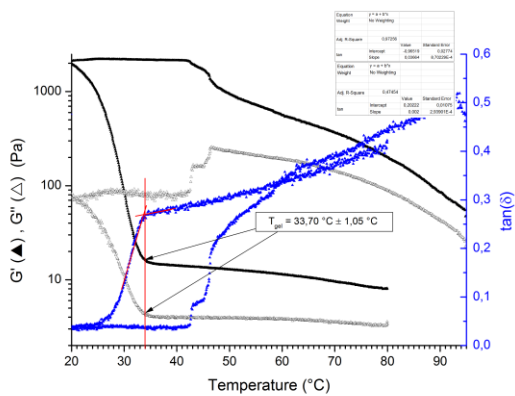
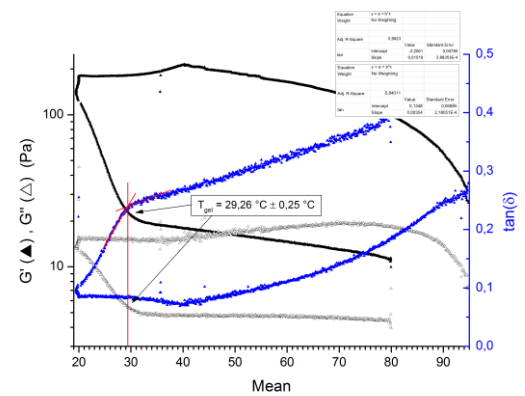


Abbildung A.3 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regression an der Kurve des $\tan \delta$ als Funktion der Temperatur für die 1%-ige Agarose-Alginat-Mischungen in unterschiedlichen Konzentrationsverhältnis und mit entsprechendem Zuckerzusatz. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgerade und den Schnittpunkt mit der Abszisse bzw. Ordinate.

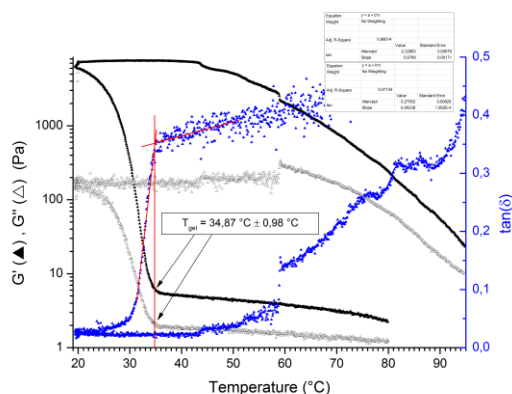
Agarose-Xanthan 1-1



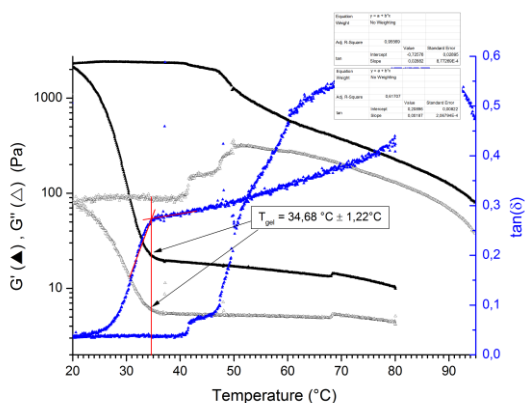
Agarose-Xanthan 1-3



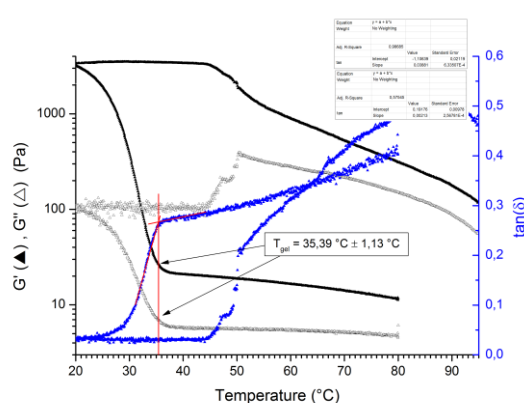
Agarose-Xanthan 3-1



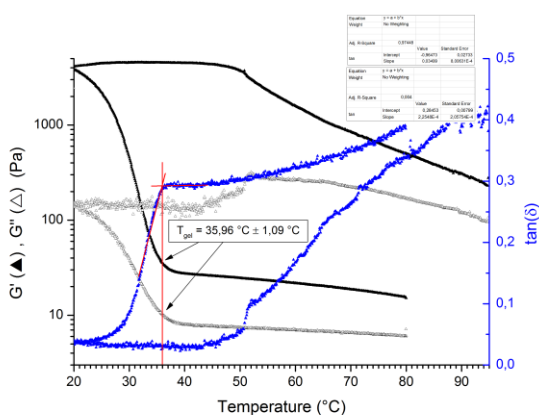
Agarose-Xanthan 1-1_20% Sucrose



Agarose-Xanthan 1-1_20% Trehalose



Agarose-Xanthan 1-1_40% Sucrose



Agarose-Xanthan 1-1_40% Trehalose

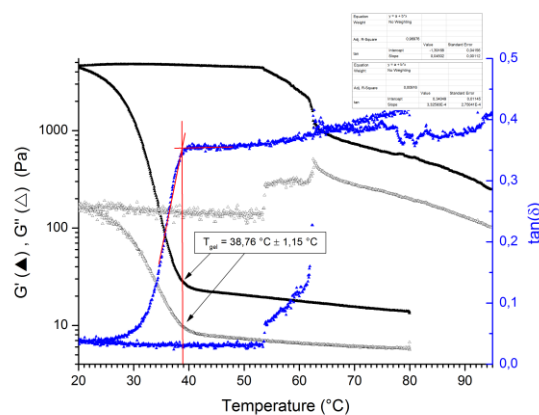
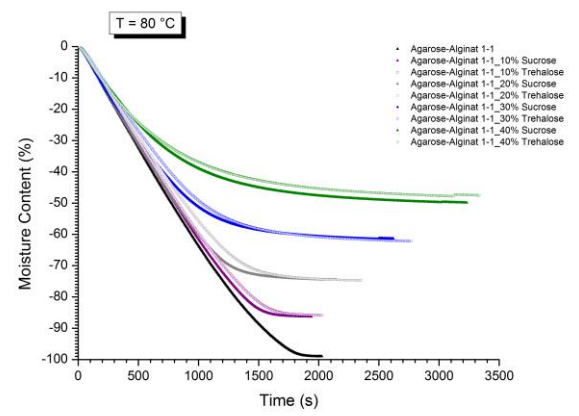
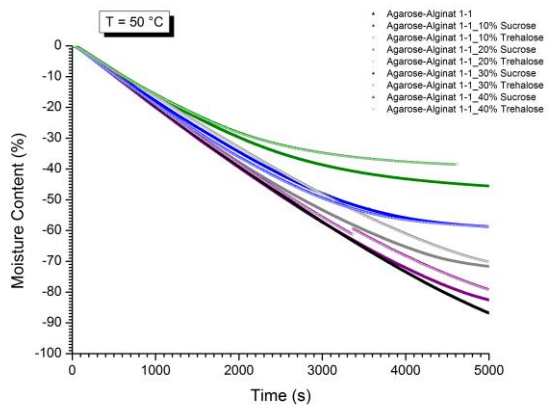
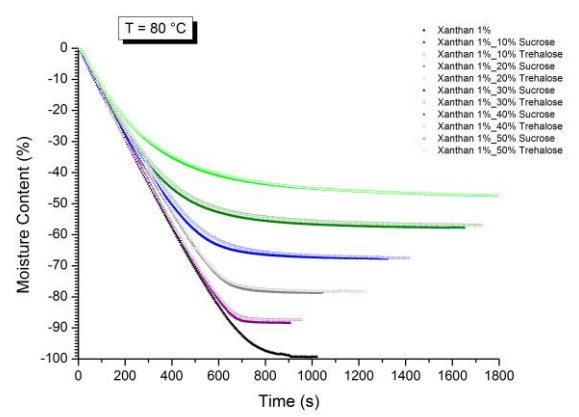
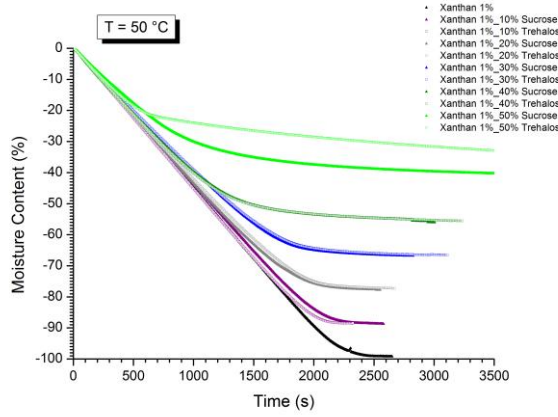
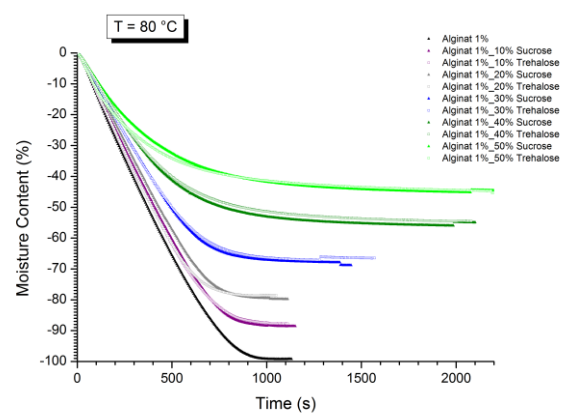
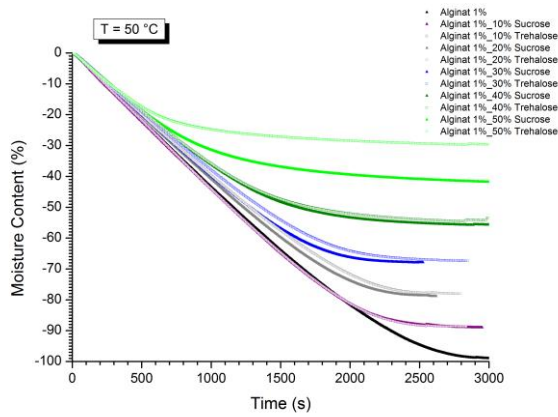


Abbildung A.4 Logarithmische Darstellung des elastischen und viskosen Moduls G' und G'' in Abhängigkeit von der Temperatur und die Bestimmung von T_{gel} mit Hilfe der linearen Regressionen an der Kurve des $\tan \delta$ als Funktion der Temperatur für die 1%-ige Agarose-Xanthan-Mischungen in unterschiedlichen Konzentrationsverhältnis und mit entsprechendem Zuckerzusatz. Die roten Geraden verdeutlichen die Regressionsgeraden und deren Schnittpunkt bzw. den Schnittpunkt mit der Abszisse.

Anhang B Messkurven der Restfeuchtebestimmung



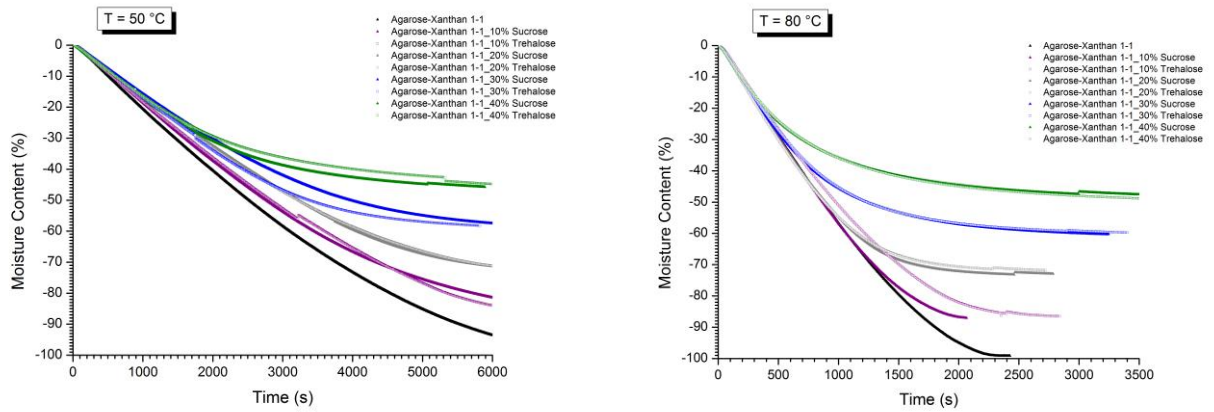
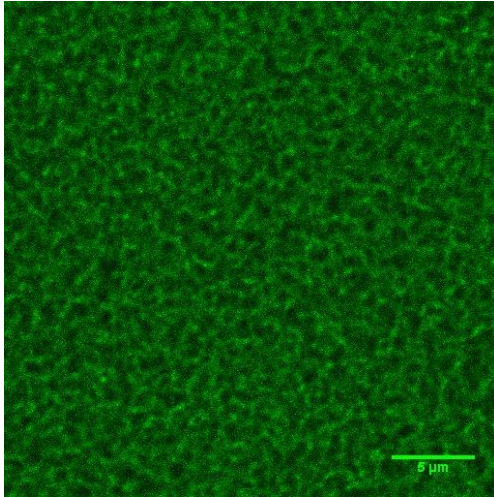


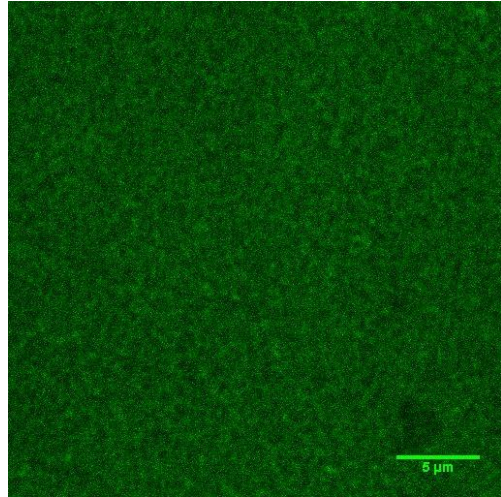
Abbildung B.1 Verlust des Feuchtigkeitsgehalts als Funktion der Zeit bei einer konstanten Temperatur $T = 50\text{ °C}$ (jeweils links) und $T = 80\text{ °C}$ (jeweils rechts) für die 1%-igen Hydrokolloidsysteme. Die ausgefüllten Dreiecke symbolisieren jeweils den Verlauf des Saccharosezusatzes und die nicht-ausgefüllten Vierecke den des Trehalosezusatzes.

Anhang C CLSM-Bilder der Hydrogele mit Zuckerzusatz

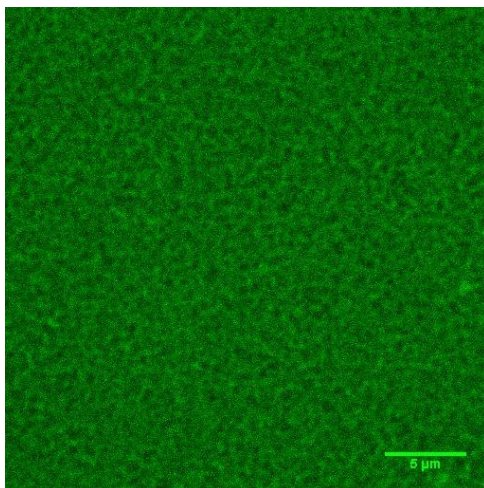
Agarose-Alginat 1-3_40% Trehalose



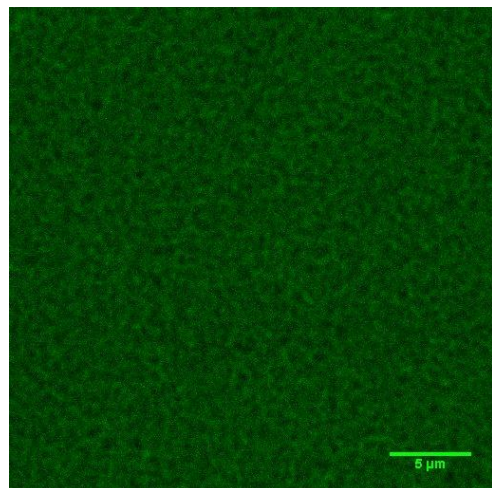
Agarose-Xanthan 1-3_40% Trehalose



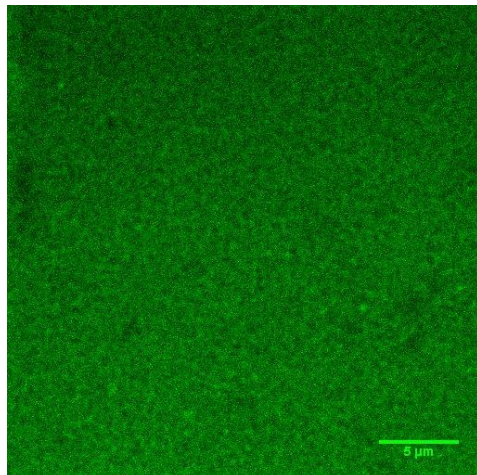
Agarose-Alginat 1-1_40% Sucrose



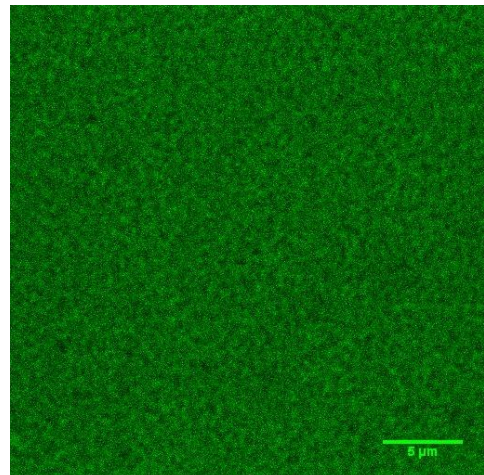
Agarose-Alginat 1-1_40% Trehalose



Agarose-Xanthan 1-1_40% Sucrose



Agarose-Xanthan 1-1_40% Trehalose

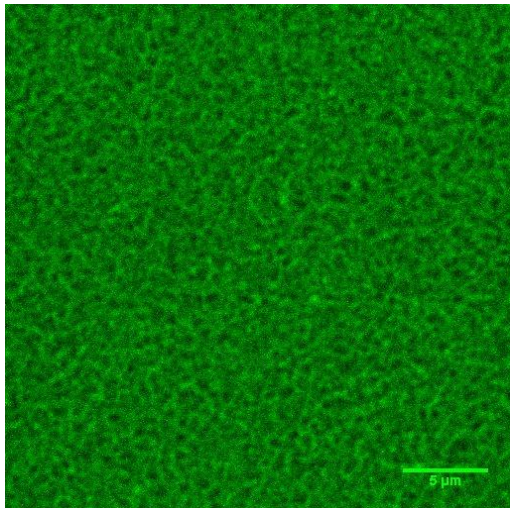


Agarose-Alginat 3-1_40% Sucrose

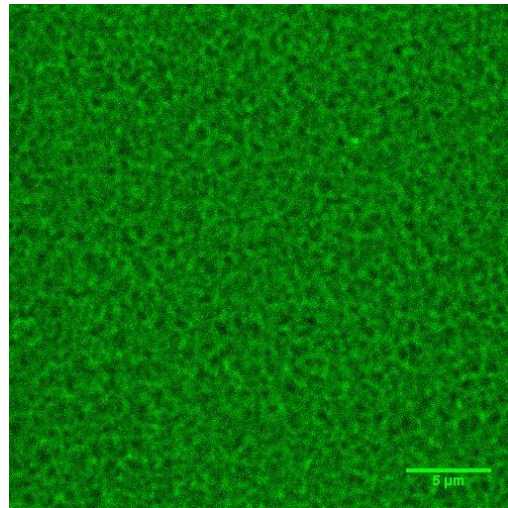


Agarose-Alginat 3-1_40% Trehalose





Agarose-Xanthan 3-1_40% Sucrose



Agarose-Xanthan 3-1_40% Trehalose

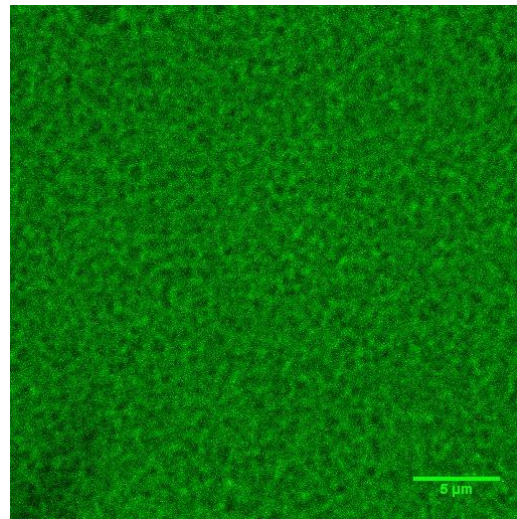
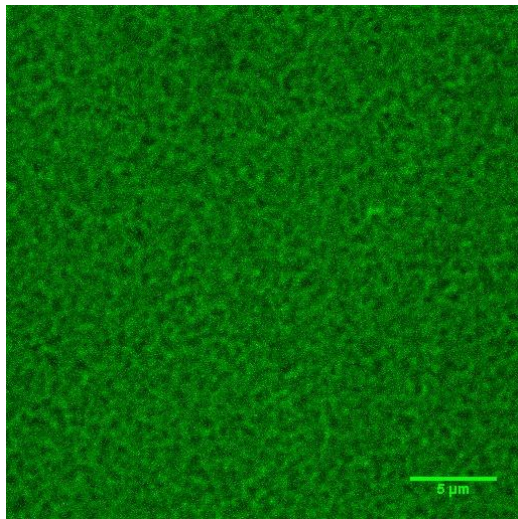


Abbildung C.1 CLSM-Aufnahme der fluoreszierenden Agarose-Alginat-Gele mit 40% w/w Disacchariden und Agarose-Xanthan-Gele 40% w/w Disacchariden im Mischungsverhältnis 1-3, 1-1 und 3-1 durch die Markierung mit 5-DTAF in 60-facher Vergrößerung.

Literaturverzeichnis

- Arnott, S., Fulmer, A., Scott, W. E., Dea, I. C. M., Moorhouse, R., & Rees, D. A. (1974). The agarose double helix and its function in agarose gel structure. *Journal of Molecular Biology*, 90(2), 269-284.
- Atkins, P. (2001). *Physikalische Chemie, 3. Auflage*: VCH Verlag, Weinheim.
- Banerji, S. N., & Ghosh, S. (1930). Hysteresis bei der Sol-Gel-Umwandlung. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 194(1), 305-315.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2008). *Lehrbuch der lebensmittelchemie*: Springer DE.
- Blakemore, W. R., & Harpell, A. R. (2009). Carrageenan. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, 73-94.
- Braccini, I., & Pérez, S. (2001). Molecular Basis of Ca²⁺-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. *Biomacromolecules*, 2(4), 1089-1096.
- Branca, C., Magazù, S., Maisano, G., Migliardo, F., Migliardo, P., & Romeo, G. (2001). α,α -Trehalose/Water Solutions. 5. Hydration and Viscosity in Dilute and Semidilute Disaccharide Solutions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(41), 10140-10145.
- Burey, P., Bhandari, B., Howes, T., & Gidley, M. (2008). Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(5), 361-377.
- Chambon, F., & Winter, H. H. (1985). Stopping of crosslinking reaction in a PDMS polymer at the gel point. *Polymer Bulletin*, 13(6), 499-503.
- Deszczynski, M., Kasapis, S., MacNaughton, W., & Mitchell, J. R. (2003). Effect of sugars on the mechanical and thermal properties of agarose gels. *Food Hydrocolloids*, 17(6), 793-799.
- Deszczynski, M., Kasapis, S., & Mitchell, J. R. (2003). Rheological investigation of the structural properties and aging effects in the agarose/co-solute mixture. *Carbohydrate Polymers*, 53(1), 85-93.
- Elbein, A. D., Pan, Y. T., Pastuszak, I., & Carroll, D. (2003). New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13(4), 17R-27R.
- Fizman, S. M., & Durán, L. (1992). Effects of fruit pulp and sucrose on the compression response of different polysaccharides gel systems. *Carbohydrate Polymers*, 17(1), 11-17.
- Galmarini, M. V., Baeza, R., Sanchez, V., Zamora, M. C., & Chirife, J. (2011). Comparison of the viscosity of trehalose and sucrose solutions at various

- temperatures: Effect of guar gum addition. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 186-190.
- Galmarini, M. V., Chirife, J., Zamora, M. C., & Pérez, A. (2008). Determination and correlation of the water activity of unsaturated, supersaturated and saturated trehalose solutions. *LWT - Food Science and Technology*, 41(4), 628-631.
- Gharsallaoui, A., Rogé, B., & Mathlouthi, M. (2008). Water–disaccharides interactions in saturated solution and the crystallisation conditions. *Food Chemistry*, 106(4), 1329-1339.
- Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J., & Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS lett*, 32(1), 195-198.
- Helgerud, T., Gåserød, O., Fjæreide, T., Andersen, P. O., & Larsen, C. K. (2009). Alginates. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, 50-72.
- Höhne, G., Hemminger, W. F., & Flammersheim, H.-J. (2003). *Differential scanning calorimetry*: Springer.
- Imeson, A. (1997). *Thickening and gelling agents for food*: Springer.
- Imeson, A. (2009). Agar. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, 31-49.
- Kasapis, S., Al-Marhoobi, I. M., Deszczynski, M., Mitchell, J. R., & Abeysekera, R. (2003). Gelatin vs Polysaccharide in Mixture with Sugar. *Biomacromolecules*, 4(5), 1142-1149.
- Labropoulos, K. C., Niesz, D. E., Danforth, S. C., & Kevrekidis, P. G. (2002). Dynamic rheology of agar gels: theory and experiments. Part I. Development of a rheological model. *Carbohydrate Polymers*, 50(4), 393-406.
- Lammert, A. M., Schmidt, S. J., & Day, G. A. (1998). Water activity and solubility of trehalose. *Food Chemistry*, 61(1–2), 139-144.
- Lee, H.-C., & Brant, D. A. (2002). Rheology of Concentrated Isotropic and Anisotropic Xanthan Solutions: 3. Temperature Dependence. *Biomacromolecules*, 3(4), 742-753.
- Maurer, S., Junghans, A., & Vilgis, T. A. (2012). Impact of xanthan gum, sucrose and fructose on the viscoelastic properties of agarose hydrogels. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 298-307.
- Meena, R., Chhatbar, M., Prasad, K., & Siddhanta, A. K. (2008). Development of a robust hydrogel system based on agar and sodium alginate blend. *Polymer International*, 57(2), 329-336.
- Mehl, P. M. (1997). Solubility and glass transition in the system α -D-trehalose/water. *Journal of thermal analysis*, 49(2), 817-822.
- Mezger, T. (2007). *Das Rheologie Handbuch: Für Anwender von Rotations-und Oszillations-Rheometern*: Vincentz Network GmbH & Company KG.

- Milas, M., & Rinaudo, M. (1979). Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. *Carbohydrate Research*, 76(1), 189-196.
- Milas, M., & Rinaudo, M. (1986). Properties of xanthan gum in aqueous solutions: Role of the conformational transition. *Carbohydrate Research*, 158(0), 191-204.
- Miller, D., de Pablo, J., & Corti, H. (1997). Thermophysical Properties of Trehalose and Its Concentrated Aqueous Solutions. *Pharmaceutical Research*, 14(5), 578-590.
- Moe, S., Draget, K., Skjåk-Bræk, G., & Smidsrød, O. (1995). Food polysaccharides and their applications. *New York: Marcel and Dekker*, 245-286.
- Moorhouse, R., Walkinshaw M, D., & Arnott, S. (1977). Xanthan Gum?Molecular Conformation and Interactions. In *Extracellular Microbial Polysaccharides*, vol. 45 (pp. 90-102): AMERICAN CHEMICAL SOCIETY.
- Morris, E. R., Rees, D. A., Young, G., Walkinshaw, M. D., & Darke, A. (1977). Order-disorder transition for a bacterial polysaccharide in solution. A role for polysaccharide conformation in recognition between Xanthomonas pathogen and its plant host. *Journal of Molecular Biology*, 110(1), 1-16.
- Morris, V. J. (2007). Gels. In *The chemical physics of food*, (pp. 151-198): Blackwell Science Ltd.
- Nishinari, K., & Takahashi, R. (2003). Interaction in polysaccharide solutions and gels. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(4-5), 396-400.
- Nishinari, K., Zhang, H., & Ikeda, S. (2000). Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5(3-4), 195-201.
- Nordqvist, D., & Vilgis, T. A. (2011). Rheological study of the gelation process of agarose-based solutions. *Food Biophysics*, 6(4), 450-460.
- Normand, V., Aymard, P., Lootens, D. L., Amici, E., Plucknett, K. P., & Frith, W. J. (2003). Effect of sucrose on agarose gels mechanical behaviour. *Carbohydrate Polymers*, 54(1), 83-95.
- Norton, I. T., Goodall, D. M., Frangou, S. A., Morris, E. R., & Rees, D. A. (1984). Mechanism and dynamics of conformational ordering in xanthan polysaccharide. *Journal of Molecular Biology*, 175(3), 371-394.
- Pelletier, E., Viebke, C., Meadows, J., & Williams, P. A. (2001). A rheological study of the order-disorder conformational transition of xanthan gum. *Biopolymers*, 59(5), 339-346.
- Pongsawatmanit, R., Ikeda, S., & Miyawaki, O. (1999). Effect of Sucrose on Physical Properties of Alginate Dispersed Aqueous Systems. *Food Science and Technology Research*, 5(2), 183-187.
- Quintas, M., Brandão, T. R. S., Silva, C. L. M., & Cunha, R. L. (2006). Rheology of supersaturated sucrose solutions. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 844-852.

- Rees, D. A., & Welsh, E. J. (1977). Secondary and Tertiary Structure of Polysaccharides in Solutions and Gels. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 16(4), 214-224.
- Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57(3), 397-430.
- Rosenplenter, K., & Nöhle, U. (2007). *Handbuch Süßungsmittel*: Behr's Verlag DE.
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 587-597.
- Sikorski, P., Mo, F., Skjåk-Bræk, G., & Stokke, B. T. (2007). Evidence for Egg-Box-Compatible Interactions in Calcium-Alginate Gels from Fiber X-ray Diffraction. *Biomacromolecules*, 8(7), 2098-2103.
- Simeone, M., Alfani, A., & Guido, S. (2004). Phase diagram, rheology and interfacial tension of aqueous mixtures of Na-caseinate and Na-alginate. *Food Hydrocolloids*, 18(3), 463-470.
- Song, K.-W., Kim, Y.-S., & Chang, G.-S. (2006). Rheology of concentrated xanthan gum solutions: Steady shear flow behavior. *Fibers and Polymers*, 7(2), 129-138.
- Song, K.-W., Kuk, H.-Y., & Chang, G.-S. (2006). Rheology of concentrated xanthan gum solutions: Oscillatory shear flow behavior. *Korea-Australia Rheology Journal*, 18(2), 67-81.
- Stephen, A. M., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2006). *Food polysaccharides and their applications*: CRC.
- Stevens, P. (2009). Gelatine. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, 116-144.
- Sworn, G. (2009). Xanthan gum. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, 325-342.
- Thomas, W. (1997). Konjac gum. In *Thickening and gelling agents for food*, (pp. 169-179): Springer.
- Tieke, B. (2012). *Makromolekulare Chemie*: Wiley-VCH.
- Urlacher, B., & Noble, O. (1997). Xanthan gum. *Thickening and gelling agents for food*. Ed. A. Imeson. Blackie Acad. Profess. London, 284-311.
- Vilgis, T. A. (2012). Hydrocolloids between soft matter and taste: Culinary polymer physics. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1(1), 46-53.
- Waje, S. S., Meshram, M. W., Chaudhary, V., Pandey, R., Mahanawar, P. A., & Thorat, B. N. (2005). Drying and shrinkage of polymer gels. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 22, 209-216.

- Watase, M., Kohyama, K., & Nishinari, K. (1992). Effects of sugars and polyols on the gel-sol transition of agarose by differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta*, 206(0), 163-173.
- Watase, M., Nishinari, K., Clark, A. H., & Ross-Murphy, S. B. (1989). Differential scanning calorimetry, rheology, x-ray, and NMR of very concentrated agarose gels. *Macromolecules*, 22(3), 1196-1201.
- Watase, M., Nishinari, K., Williams, P. A., & Phillips, G. O. (1990). Agarose gels: effect of sucrose, glucose, urea, and guanidine hydrochloride on the rheological and thermal properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(5), 1181-1187.
- Whistler, R. L. (1993). *Industrial gums: polysaccharides and their derivatives*: Academic Pr.
- Whitcomb, P., & Macosko, C. (1978). Rheology of xanthan gum. *Journal of Rheology*, 22, 493.
- Winter, H. H. (1987). Can the gel point of a cross-linking polymer be detected by the $G' - G''$ crossover? *Polymer Engineering & Science*, 27(22), 1698-1702.
- Winter, H. H., & Chambon, F. (1986). Analysis of Linear Viscoelasticity of a Cross-Linking Polymer at the Gel Point. *Journal of Rheology*, 30(2), 367-382.
- Wyatt, N. B., & Liberatore, M. W. (2009). Rheology and viscosity scaling of the polyelectrolyte xanthan gum. *Journal of Applied Polymer Science*, 114(6), 4076-4084.

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass die Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet wurden. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus anderen Quellen übernommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ort, Datum

Unterschrift