Korrelation der Primärstruktur von Xanthanen mit deren Verhalten in Lösung

Masterarbeit im Studiengang Chemie

zur Erlangung des Grades Master of Science

im Fachbereich 09 – Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,

durchgeführt am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz,

in Kooperation mit der Jungbunzlauer Ladenburg GmbH.

Vorgelegt von

Riccardo Wehr

geboren in Koblenz

Mainz, 2017

JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITÄT MAINZ

Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Max Planck Institute for Polymer Research

Jungbunzlauer

Diese Masterarbeit wurde in der Zeit vom 04. Januar 2017 bis 03. Juli 2017 am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz im Arbeitskreis von Prof. Dr. Katharina Landfester unter Betreuung von Dr. Svenja Winzen durchgeführt.

Gutachter:

Prof. Dr. Katharina Landfester

PD Dr. Wolfgang Schärtl

Betreuer:

Dr. Svenja Winzen

Masterarbeit im Studiengang Chemie oder Biomedizinische Chemie

an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Ich, Riccardo Wehr, Matrikelnummer 2680757, versichere, dass ich meine Masterarbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen schriftlichen und elektronischen Quellen sowie andere Hilfsmittel benutzt habe. Alle Ausführungen, die anderen Schriften wörtlich oder sinngemäß entnommen wurden, habe ich kenntlich gemacht.

(Ort, Datum) (Unterschrift)

Danksagung

Bedanken möchte ich mich zunächst bei Prof. Dr. Katharina Landfester für die Möglichkeit, in ihrer Gruppe die Masterarbeit durchführen zu können sowie für die optimalen Arbeitsbedingungen in ihrem Arbeitskreis.

Mein besonderer Dank gilt meiner Projektleiterin Dr. Svenja Winzen für die ausgezeichnete Betreuung meiner Masterarbeit, die vielen wertvollen Diskussionen, Ideen und Ratschläge sowie die nette Aufnahme in die Polymeranalytik-Gruppe.

Ich möchte mich auch besonders bei Christine Rosenauer bedanken für die Einführung in die Technik der Lichtstreuung, die Hilfestellung bei der Durchführung und Auswertung der Messungen und die vielen lehrreichen Diskussionen.

Bei Dr. Natalie Russ bedanke ich mich für die Betreuung auf Seiten der Firma Jungbunzlauer.

Für die Aufnahme der NMR-Spektren und die anschließenden Diskussionen und Ratschläge danke ich Dr. Manfred Wagner. Auch bei Beate Müller möchte ich mich für die HPLC/GPC-Versuche bedanken, ebenso bei Sandra Seywald und Ute Heinz für die GPC-Messungen und bei Elke Muth für die Messung des Zetapotentials.

Bedanken möchte ich mich auch bei PD Dr. Wolfgang Schärtl für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Allen Kollegen und Freunden aus dem Arbeitskreis Landfester danke ich für die freundliche Aufnahme in die Gruppe, die Unterstützung und die schöne Zeit während der Masterarbeit. Besonders der Polymeranalytik-Gruppe möchte ich für die perfekte Arbeitsatmosphäre im und um das Büro danken.

Bei meinen Freunden bedanke ich mich für die Unterstützung und die schöne Zeit während des Studiums, aber auch außerhalb der Universität.

Ebenso möchte ich meiner Familie herzlich danken für die gesamte Unterstützung während des Studiums.

Inhaltsverzeichnis

1. Motivation und Zielsetzung 9
2. Theoretischer Hintergrund 11
   2.1. Xanthan 11
      2.1.1. Sekundärstruktur von Xanthan 12
   2.2. Polyelektrolyteffekt 13
   2.3. Charakterisierungsmethoden 14
      2.3.1. Lichtstreuung 14
         2.3.1.1. Statische Lichtstreuung 15
         2.3.1.2. Dynamische Lichtstreuung 18
      2.3.2. Kernmagnetische Resonanz- (NMR-) Spektroskopie 20
      2.3.3. Infrarot- (IR-) Spektroskopie 20
      2.3.4. Gelpermeationschromatographie (GPC) 21
      2.3.5. Zetapotential 21
3. Experimenteller Teil 22
   3.1. Probenpräparation 22
   3.2. Messmethoden und Durchführung 22
      3.2.1. Lichtstreuung 22
         3.2.1.1. Apparativer Aufbau 22
         3.2.1.2. Probenvorbereitung und -messung 22
         3.2.1.3. Brechungsindexinkrement 23
      3.2.2. Ultraschallbehandlung 23
      3.2.3. Kernmagnetische Resonanz- (NMR-) Spektroskopie 23
      3.2.4. Infrarot- (IR-) Spektroskopie 24
      3.2.5. Gelpermeationschromatographie (GPC) 24
      3.2.6. Zetapotential 24
4. Ergebnisse und Diskussion 25
   4.1. Xanthanproben 25
   4.2. Infrarot- (IR)-Spektroskopie 25
   4.3. Gelpermeationschromatographie (GPC) 26
   4.4. Kernmagnetische Resonanz- (NMR-) Spektroskopie 29
      4.4.1. ^{1}H-NMR-Spektroskopie der vier Xanthane 29
      4.4.2. Bestimmung des Acetat- und Pyruvatgehalts mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie nach Ultraschallbehandlung 31
      4.4.3. ^{13}C-, HSQC- und DOSY-NMR-Messungen von ultraschallbehandeltem Xanthan-1 34

4.5. Messung des Zetapotentials der vier Xanthanproben ... 37
4.6. Lichtstreuung in rein wässriger Lösung ... 38
4.7. Lichtstreuung in Lösung verschiedener Salze ... 40
4.7.1. Bestimmung der hydrodynamischen Radien und PDIs in verschiedenen Salzlösungen durch dynamische Lichtstreuung ... 40
4.7.2. Bestimmung der apparenten Molekulargewichte über statische Lichtstreuung ... 43
4.7.2.1. Messung der Brechungsindexinkremente ... 44
4.7.2.2. Bestimmung des apparenten Molekulargewichtes ... 45
4.7.3. Bestimmung der Trägheitsradien in verschiedenen Salzlösungen über statische Lichtstreuung ... 47
4.7.4. Berechnung der Strukturparameter ρ ... 49
4.7.5. Analyse der Kettensteifheit der Xanthane in verschiedenen Salzlösungen mithilfe von Holtzer-Auftragungen ... 49
4.7.6. Zusammenfassung und Erklärung des Verhaltens in verschiedenen Salzlösungen ... 52
4.8. Lichtstreuung bei verschiedenen Salzkonzentrationen ... 55
4.8.1. Bestimmung der hydrodynamischen Radien von Xanthan-1 bei verschiedenen Salzkonzentrationen ... 55
4.8.2. Bestimmung der Trägheitsradien von Xanthan-1 bei verschiedenen Salzkonzentrationen ... 57
4.8.3. Berechnung der Strukturparameter ρ ... 59
4.8.4. Analyse der Kettensteifheit von Xanthan-1 bei verschiedenen Salzkonzentrationen mithilfe von Holtzer-Auftragungen ... 60
4.8.5. Bestimmung der Radien und Analyse der Kettensteifheit von Xanthan-3 bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen ... 61
4.8.6. Zusammenfassung und Erklärung des Verhaltens bei verschiedenen Salzkonzentrationen ... 63
4.9. Untersuchung der pH-Abhängigkeit ... 66
4.9.1. Probenpräparation und Messung des Zetapotentials ... 66
4.9.2. Bestimmung der hydrodynamischen und Trägheitsradien bei verschiedenen pH-Werten ... 68
4.9.3. Analyse der Kettensteifheit der vier Xanthane bei verschiedenen pH-Werten mithilfe von Holtzer-Auftragungen ... 71
4.9.4. Zusammenfassung und Erklärung des Verhaltens bei unterschiedlichem pH-Wert ... 72
5. Zusammenfassung und Ausblick ... 73
Abkürzungsverzeichnis ... 76
Quellenverzeichnis ... 78

1. Motivation und Zielsetzung

Xanthane sind natürlich vorkommende Polysaccharide, welche aus Bakterien des Stammes *Xanthomonas* gewonnen werden. Sie sind als Lebensmittelzusatzstoffe zugelassen und bieten vielfältige Verwendungsmöglichkeiten. Vor allem in der Lebensmittel- und Kosmetikindustrie, aber auch bei der Erdölförderung werden sie eingesetzt. Sie wirken als Stabilisator, Dispergier- und Verdickungsmittel. In ihrer chemischen Struktur unterscheiden sich die anionischen Polyelektrolyte je nach Bakterienstamm und Fermentationsbedingungen in dem Gehalt an zwei charakteristischen funktionellen Gruppen, den negativ geladenen Pyruvat- und den Acetateinheiten. Die Sekundärstruktur verschiedener Xanthane in wässriger Lösung wurde bereits mit verschiedensten Methoden und unter unterschiedlichen Bedingungen untersucht. Endgültige Klarheit über die Form, Anordnung und Kettensteifheit gibt es jedoch noch nicht. So lässt sich bisher nur sagen, dass Xanthan in wässriger Lösung eine hohe Kettensteifheit aufweist und höchstwahrscheinlich als Helix vorliegt. Dabei sind die Untersuchungsergebnisse jedoch stark abhängig von Faktoren wie Temperatur und Salzgehalt sowie Behandlung und Aufarbeitung der Proben. Auch wurden in der Vergangenheit einige Untersuchungen im Zusammenhang mit der Primärstruktur durchgeführt. So wurden pyruvat- oder acetatfreie Proben mittels Lichtstreuung analysiert. Eine umfassende und zufriedenstellende Erklärung des beobachteten Verhaltens steht allerdings noch aus. Inwiefern sich die Xanthane aus verschiedenen Fermentationen unterscheiden, welchen Einfluss die angesprochenen funktionellen Gruppen auf das Verhalten in Lösung haben und ob sich Rückschlüsse von der Primär- auf die Sekundärstruktur oder umgekehrt ziehen lassen, ist nicht abschließend geklärt.

An dieser Stelle setzt die vorliegende Masterarbeit an. Sie soll ein genaueres Verständnis über das Verhalten von Xanthanen in wässriger Lösung ermöglichen. Die aus unterschiedlichen Messmethoden erhaltenen Informationen sollen zusammengefügt werden, um eine Korrelation der chemischen Struktur verschiedener Xanthane mit deren Verhalten in Wasser und Salzlösung zu etablieren. So ist es einerseits notwendig, die Primärstruktur zu analysieren und Unterschiede zwischen den einzelnen Proben zu erkennen. Dafür bietet sich vor allem die NMR-Spektroskopie an. Andererseits muss eine Möglichkeit gefunden werden, das Verhalten in Lösung zu betrachten. Die Lichtstreuung ist für diesen Zweck das Mittel der Wahl. Sie ermöglicht die Betrachtung der Polymere in Lösung ohne direkte Einflussnahme auf die Struktur oder die Zerstörung der Probe und bietet eine gute Statistik. Die Ermittlung von hydrodynamischen Radien, Trägheitsradien und Molmassen ist möglich, genau wie Aussagen über die Kettensteifheit der Moleküle. Dadurch können Rückschlüsse zur Form der Ketten und der Sekundärstruktur getätigt werden. Neben dem Vergleich der Ergebnisse zwischen den verschiedenen Xanthanen ist die Erklärung und Diskussion der Beobachtungen in Bezug auf den Zusammenhang der Struktur mit dem Verhalten angestrebt. Was ist der Grund für das beobachtete Verhalten und die Unterschiede zwischen den einzelnen Proben? Kann ein Zusammenhang zwischen Primär- und Sekundärstruktur gefunden werden? Wie wirkt sich ein variabler Pyruvat- oder Acetatgehalt auf die Größe oder Struktur in Lösung aus? Diese und weitere Fragen sollen hier beantwortet werden.

Mit den präsentierten Ergebnissen kann die vorliegende Arbeit als Bindeglied zwischen chemischer Struktur auf molekularer Basis und makroskopisch gefundenem Verhalten verstanden werden. Sie soll auch einen neuen Blickwinkel auf Ergebnisse aus weiteren Messmethoden ermöglichen,

beispielsweise als Grundlage für Viskositäts- oder Rheologiestudien. Auch soll sie die Basis für weiterführende Untersuchungen bilden, die etwa auf das Mischungsverhalten von Xanthanen mit anderen Substanzen abzielen.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung verschiedener Xanthanproben in wässriger und salzhaltiger Lösung. Einige Salze und Salzkonzentrationen werden miteinander verglichen und die pH-Abhängigkeit wird analysiert. Die ermittelten Unterschiede in der Primärstruktur werden als Grundlage verwendet, um das in der Lichtstreuung beobachtete Verhalten zu deuten. Vorschläge, wie die Unterschiede zustande kommen, werden unterbreitet. Einige Messgrößen wie etwa Radien, Molekulargewichte und Polydispersitäten werden ermittelt, aber auch qualitative Aussagen zu Kettensteifheit, Form und Aggregation getätigt. Die Probleme beim Messen breit verteilter Proben werden erläutert und die Qualität der Messungen bewertet. Als Ergebnis soll die Möglichkeit stehen, den Einfluss struktureller Unterschiede auf die Ergebnisse von Lichtstreumessungen deuten zu können.

2. Theoretischer Hintergrund

2.1. Xanthan

Xanthan ist ein natürliches Polysaccharid, welches aus verschiedenen Bakterienstämmen der Gattung der *Xanthomonas* gewonnen wird.[1-2] Als anionisches Polyelektrolyt zeigt es in wässriger Lösung pseudoplastisches Verhalten, wirkt also scherverdünnend, und erhöht schon in geringen Konzentrationen die Viskosität erheblich.[3] Xanthan ist unempfindlich gegenüber hohen Temperaturen und in einem großen pH-Bereich nutzbar.[4-5] Da es als ungiftig eingestuft ist und keinerlei quantitative Begrenzungen der Aufnahme bestehen, ist es als Lebensmittelzusatzstoff mit der Nummer E 415 zugelassen.[6] Eingesetzt wird Xanthan als Emulsionsstabilisator, Dispersions- und Verdickungsmittel sowohl in der Lebensmittelindustrie für Soßen, Salatdressings, Speiseeis, Fertiggerichte und Getränke, als auch in der Kosmetikindustrie für Shampoos, Cremes und Waschmittel, sowie für verschiedene Verwendungszwecke in der Petrochemie / Erdölförderung, der Textilindustrie und der Landwirtschaft, wie in den Reviewartikeln von García-Ochoa *et al.*[7] und Becker *et al.*[8] zusammenfassend beschrieben ist.

Die Primärstruktur des Xanthans besteht aus Pentasaccharid-Wiederholungseinheiten mit einem Rückgrat aus den aus Cellulose bekannten β-(1→4)-verknüpften D-Glukoseeinheiten.[9-10] An jede zweite Glukoseeinheit ist ein Trisaccharid bestehend aus zwei Mannose- und einer Glucuronsäureeinheit in der Mitte als Seitenkette gebunden (Abbildung 1). An deren erster Mannoseeinheit ist an das C6 eine Acetatgruppe gebunden. An der C4- und C6-Position der letzten Mannoseeinheit wird mit Brenztraubensäure ein Ketal gebildet (Pyruvat-Gruppe). Je nach Bakterienstamm und Fermentationsbedingungen unterscheidet sich die Struktur durch teilweises oder vollständiges Fehlen dieser Pyruvat- oder Acetatgruppen.[11-13] Kommerziell erhältliches Xanthan stammt vorwiegend aus dem Bakterienstamm *Xanthomonas Campestris* und weist typischerweise eine Pyruvatsubstitution an 31 bis 56% der dritten Mannoseeinheit und eine Acetatsubstitution in ähnlicher Größenordnung an der ersten Mannoseeinheit auf.[6, 14] Üblicherweise liegt das Molekül an den Säuregruppen deprotoniert als Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Magnesiumsalz vor. Die Molmassen können bis zu $20 \cdot 10^6$ g/mol betragen.

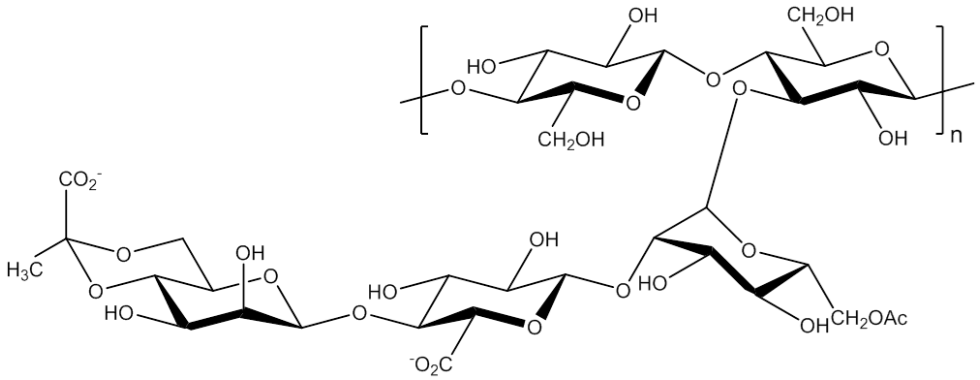

Abbildung 1: Primärstruktur des Xanthans.

2.1.1. Sekundärstruktur von Xanthan

Die Sekundärstruktur des Xanthans in wässriger Lösung wurde bereits durch einige Gruppen untersucht, welche neben theoretischen Berechnungen[15-16] unterschiedliche Analysemethoden wie Viskosimetrie,[17] Rheologie,[18] Circulardichroismus[19-20] oder oftmals Lichtstreuung einsetzten. Obwohl nicht alle Veröffentlichungen im Detail das gleiche Ergebnis liefern, wird von allen beschrieben, dass die Sekundärstruktur unterschiedlich sein kann und von verschiedenen Faktoren wie Polymer- und Salzkonzentration, Temperatur und thermischer Vorbehandlung sowie der Molmasse der Proben abhängt. Röntgenuntersuchungen lassen auf das Vorliegen von 5_1-Helices sowohl im Feststoff als auch im getrockneten Zustand schließen,[21-22] Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) -Aufnahmen zeigen das Vorliegen von Doppelhelices.[23] Als gesichert gilt außerdem, dass Xanthan auch in Lösung eine helikale Struktur bildet,[24] deren Kettensteifigkeit deutlich über der von Cellulose liegt, was als Folge der Anordnung der Seitenketten betrachtet werden kann. Ob es sich bei dieser semiflexiblen Struktur allerdings auch um eine Doppel- oder aber eine einfache Helix handelt, ist noch immer umstritten. Die Mehrzahl der Autoren schlussfolgert eine Doppelhelix, entweder aus einem gefalteten Einzelmolekül, wahrscheinlicher aber als Dimer aus zwei verschiedenen Einzelmolekülen.[15-16, 24-29]

Es handelt sich bei den in der Literatur untersuchten Proben größtenteils um kommerziell erhältliches Xanthan, bei dem die thermische Vorgeschichte nicht bekannt ist. Untersuchungen zeigen, dass es allerdings Auswirkungen auf die Ergebnisse haben kann, ob es sich bei den Proben um thermisch nicht vorbehandeltes Xanthan handelt (Englisch: ‚native xanthan‘), oder ob es beispielsweise beim Pasteurisieren durch den Produzenten bereits erhitzt und anschließend abgekühlt wurde (Englisch: ‚renatured xanthan‘).[30] Ersteres soll in Lösung eine einsträngige Helix bilden, letzteres allerdings eine Doppelhelix.[28]

Die Lichtstreumessungen, die zu den genannten Ergebnissen führten, wurden in salzhaltigen Lösungen durchgeführt. So sollte der Polyelektrolyteffekt (siehe Kapitel 2.2) umgangen werden, der in rein wässriger Lösung auch unterhalb der Überlappungskonzentration von ca. 0,2 g/L[31] zu starker intermolekularer Wechselwirkung und Aggregatbildung führt.[32-34] Durch Zugabe von Salzen steigt die Abschirmung der geladenen Seitenketten, wodurch die Aggregate aufgebrochen und aussagekräftige Messungen von Einzelmolekülen ermöglicht werden sollen.[26] Der Salzgehalt der in der Literatur untersuchten Proben variiert zwischen 0,004 und 1 mol/L. Oftmals wurde Natriumchlorid (NaCl), aber auch Kaliumchlorid (KCl), Natriumazid (NaN_3) oder Natriumsulfat (Na_2SO_4) eingesetzt. Die aus den Lichtstreumessungen ermittelten Messwerte scheinen nicht unabhängig von der Salzkonzentration zu sein. So kommt es mit zunehmender Salzkonzentration zu einer Vergrößerung sowohl der berechneten Molmassen als auch der Trägheitsradien.[17]

Neben der thermischen Vorgeschichte der untersuchten Proben spielt auch die Temperatur bei der Messung selbst eine wichtige Rolle. So zeigt sich bei einem Anstieg der Temperatur zwischen 40 und 80 °C eine Konformationsänderung von einem geordneten Zustand, welcher einer semiflexiblen Doppelhelix entsprechen soll, hin zu einem ungeordneten Zustand, welcher als Einzelhelix mit geringerer Kettensteifheit (random coil) beschrieben wird.[25, 35] Abhängig ist die Übergangs-temperatur neben den Eigenschaften der Xanthane (Molekulargewicht und Molmassenverteilung) auch von der Salzkonzentration: je höher die Ionenstärke, desto höher die Übergangstemperatur.

Geringe Salzkonzentrationen und hohe Temperaturen stabilisieren dementsprechend eher die Einzelhelix, höhere Salzkonzentrationen und niedrigere Temperaturen die Doppelhelix.[15, 17, 36]

Über den Einfluss der Pyruvat- oder Acetatgruppen auf die Sekundärstruktur sind einige Veröffentlichungen zu finden. Coviello *et al*.[16] zeigen, dass die Kuhn-Längen pyruvatfreier Xanthane ca. 20% größer, die acetatfreier Xanthane ca. 25% kleiner sind als die vergleichbarer Xanthane, welche beide Gruppen tragen. Die Übergangstemperatur vom geordneten Zustand einer Doppelhelix hin zum ungeordneten Zustand einer flexibleren Einzelhelix sinkt bei zunehmendem Pyruvatgehalt der Proben.[36] Erklärt wird dies mit einer Destabilisierung der geordneten Struktur durch eine Zunahme der intramolekularen elektrostatischen Abstoßung der geladenen Pyruvatgruppen.[37] Gleichzeitig soll es auch bei hoher Ionenstärke und hohem Pyruvatgehalt zu intermolekularer Assoziation kommen, was auf die apolare Wechselwirkung der Methylgruppen an den Pyruvateinheiten zurückzuführen sei.[37] Acetatgruppen stabilisieren im Gegensatz zu den Pyruvatgruppen die geordnete Struktur. Acetatfreie Proben zeigen dementsprechend höhere Übergangstemperaturen als acetathaltige Xanthane.[38-39]

Häufig wurden Lichtstreumessungen erst nach Fragmentierung der Xanthan-Moleküle durchgeführt, da die kommerziell erhältlichen Proben hohe Molekulargewichte in relativ breiten Verteilungen aufwiesen. Üblicherweise erfolgte die Zersetzung durch Ultraschallbehandlung oder enzymatische Degradation, gefolgt von Aufreinigungsschritten und schließlich Fraktionierung per Größenausschlusschromatographie.[25, 28, 40] Die Fragmentierung soll ausschließlich die Kettenlänge und somit das Molekulargewicht mindern, jedoch nicht zu einer Abspaltung der Acetat- und Pyruvatgruppen führen.[41] Interessant ist dies auch in Bezug auf die NMR-Untersuchung von Xanthanen, welche aufgrund der geringeren Viskosität der fragmentierten Proben vereinfacht wird. [42-43]

2.2. Polyelektrolyteffekt

Polyelektrolyte[44] sind makromolekulare Verbindungen, die in Lösung mit anionisch oder kationisch geladenen Wiederholungseinheiten vorliegen. Diese entstehen durch Dissoziation oder Assoziation von Protonen in einem Säure-Base-Gleichgewicht. Beispiele für anionische Polyelektrolyte (Polysäuren) sind Polyacrylsäuren oder Polysaccharide, für kationische Polyelektrolyte (Polybasen) Polyvinylpyridin oder andere stickstoffhaltige Verbindungen, z. B. auch DNA. Polyelektrolyte zeigen von ungeladenen Polymeren abweichendes Verhalten in wässriger Lösung. Für letztere wird ein Viskositätsabfall bei sinkender Polymerkonzentration beobachtet. Bei Polyelektrolyten steigt die Viskosität hingegen an. Ursächlich ist die abnehmende Ionenstärke in der Lösung, die die Abschirmung der geladenen Gruppen senkt. Die Ketten versteifen, häufig ist auch eine Aggregatbildung festzustellen. Dieses Verhalten wird als Polyelektrolyteffekt bezeichnet. Durch Zugabe von Salzen wird die Ionenstärke erhöht und die Abschirmung der geladenen Gruppen verbessert. Die Ketten verhalten sich flexibler bis hin zum Verknäulen, wodurch die Aggregate aufgebrochen werden und die Viskosität abnimmt. Bei sehr hoher Salzkonzentration kann es auch zum Ausfallen der Polymere kommen. Diese Tendenz kann durch Benutzung von multivalenten Ionen noch gesteigert werden, welche eine Vernetzung von mehreren Ketten bewirken.

2.3. Charakterisierungsmethoden

2.3.1. Lichtstreuung

In diesem Kapitel wird nur auf die für diese Arbeit relevanten Aspekte der Lichtstreuung eingegangen. Die Theorie der Lichtstreuung ist hinlänglich in der Literatur beschrieben. Details und weiterführende Inhalte sind in den Standardwerken zu finden.[45-46]

Der Effekt der Lichtstreuung tritt auf, sobald eine elektromagnetische Welle wie Licht auf Materie trifft. In den Molekülen wird aufgrund der negativen und positiven Ladungsträger ein oszillierender Hertzscher Dipol induziert, welcher als Ausgangspunkt für Sekundärwellen der gleichen Wellenlänge λ wie der des einfallenden Lichts dient (Rayleigh-Streuung, Abbildung 2). Diese elastisch gestreuten Sekundärwellen werden isotrop in alle Raumrichtungen senkrecht zum Oszillator emittiert. Die Amplitude und damit die Intensität des gestreuten Lichts hängen von der Polarisierbarkeit des Moleküls ab.

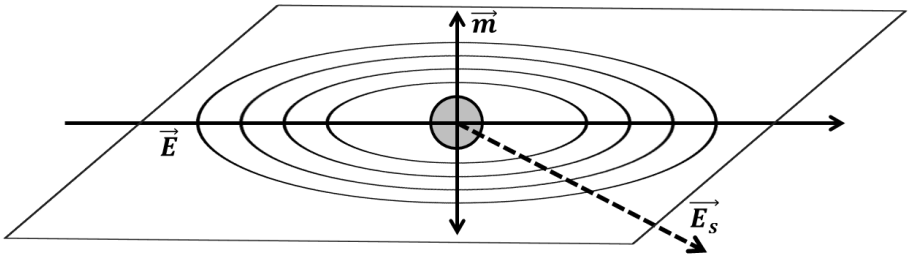

Abbildung 2: Durch auftreffende Lichtwellen induzierter Hertzscher Dipol in einem Streuer sowie die dadurch ausgesandten, isotrop gestreuten Sekundärwellen.

Bei kleinen Molekülen mit Durchmessern $d < \lambda/20$ kann angenommen werden, dass pro Molekül nur ein Streuzentrum vorliegt, bzw. dass die Abstände zwischen mehreren Streuzentren vernachlässigbar klein sind, sodass sich die gestreuten Wellen konstruktiv überlagern (Punktstreuer). Die gemessene Streuintensität ist also isotrop und vom Betrachtungswinkel unabhängig. Bei Molekülen mit $d > \lambda/20$ ist diese Näherung nicht mehr zulässig und es muss von mehreren Streuzentren ausgegangen werden, sodass es zu Gangunterschieden des Streulichtes kommt. Es ergeben sich destruktive Interferenzen, wodurch die Streuintensität vom Beobachtungswinkel abhängig wird (Abbildung 3). Das resultierende Interferenzmuster wird in der statischen Lichtstreuung (SLS) untersucht und durch den Partikelformfaktor charakterisiert, welcher typisch für Form und Größe eines Moleküls ist. So lassen sich beispielsweise Molmassen und Trägheitsradien berechnen.

Bei der dynamischen Lichtstreuung (DLS) ist der untersuchte Faktor die Diffusion von Partikeln durch die Brownsche Molekularbewegung. Bei gegebenem Winkel weist das Interferenzmuster also eine Zeitabhängigkeit auf (Abbildung 4), welche zur Ermittlung von hydrodynamischen Radien aus der Stokes-Einstein-Gleichung genutzt werden kann.

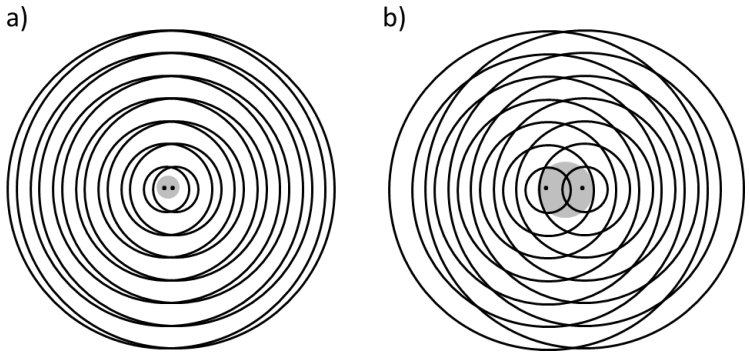

Abbildung 3: Unterschiedliches Interferenzverhalten der gestreuten Lichtwellen bei a) kleinem und b) großem Abstand zweier Streuzentren.

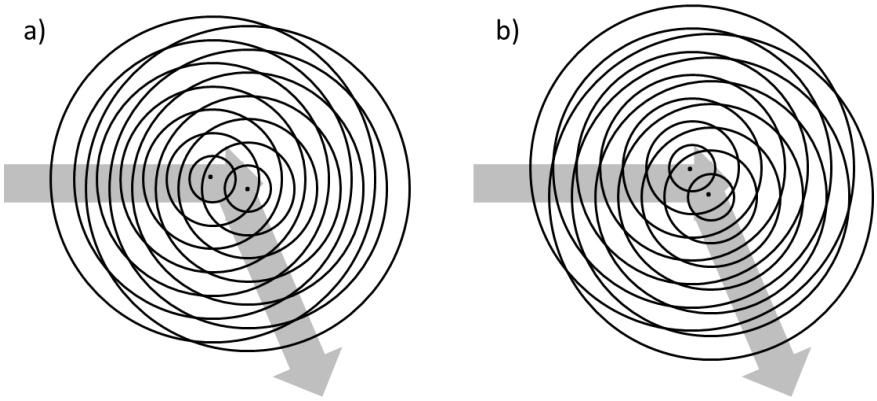

Abbildung 4: Winkelabhängigkeit des Interferenzmusters durch Brownsche Molekularbewegung der Teilchen: a) Destruktive Interferenz, b) konstruktive Interferenz.

2.3.1.1. Statische Lichtstreuung

Streuung von verdünnten Lösungen kleiner Partikel: Grundprinzipien der Lichtstreuung

Wie oben erwähnt, hängt das elektrische Dipolmoment $\vec{m}$ eines Streuers von der Polarisierbarkeit α und dem elektrischen Feldvektor $\vec{E}$ des einfallenden Lichtes ab:

$$\vec{m} = \alpha\vec{E} \tag{1}$$

mit

$$\left|\vec{E}\right| = E_0 \exp\big(\mathrm{i}(2\pi\nu t - kx)\big) \tag{2}$$

$\nu = \mathrm{c}/\lambda$ ist die Frequenz des einfallenden Lichtes der Wellenlänge λ und $\left|\vec{k}\right| = k = 2\pi/\lambda$ die Länge des Wellenvektors $\vec{k}$. In Gleichung (2) wird linear polarisiertes Licht angenommen, welches sich in *x*-Richtung ausbreitet. Die Amplitude E_s des gestreuten Lichtes ergibt sich zu

$$E_\mathrm{s} = \left(\frac{\partial^2 m}{\partial t^2}\right)\frac{1}{r_\mathrm{D}\mathrm{c}^2} = \frac{-4\pi^2\,\nu^2\alpha E_0}{r_\mathrm{D}\mathrm{c}^2}\exp\left(\mathrm{i}\big(2\pi\nu t - \vec{k}\vec{r}_\mathrm{D}\big)\right) \tag{3}$$

mit $\vec{r}_{\mathrm{D}}$ dem Abstandsvektor des Streuzentrums vom Detektor. Detektiert wird nicht die Amplitude selbst, sondern die Streuintensität als deren Betragsquadrat: $I_{\mathrm{s}} = |E_{\mathrm{s}}|^2$. Die Polarisierbarkeit ist abhängig von der dielektrischen Permittivität ε und somit vom Brechungsindex n. Für transparente Stoffe gilt $\varepsilon \approx n^2$:

$$4\pi \frac{N}{V} \alpha = \varepsilon - 1 = n^2 - 1 \tag{4}$$

mit N der Anzahl der Streupartikel im Streuvolumen V, also dem Bereich, in dem sich der einfallende Lichtstrahl und die Blendenöffnung des Detektors überschneiden.

Die Gesamtstreuintensität von Teilchen in Lösung ist proportional zu der Differenz der Polarisierbarkeit von Lösung α (mit Brechungsindex n) und Lösungsmittel α_0 (mit Brechungsindex n_0):

$$\Delta\alpha = \alpha - \alpha_0 = \frac{n^2 - {n_0}^2}{4\pi \frac{N}{V}} \tag{5}$$

Unter Benutzung des Brechungsindexinkrements:

$$\left(\frac{\partial n}{\partial c}\right) = \frac{n - n_0}{c} \tag{6}$$

mit c der Konzentration des gelösten Stoffes ergibt sich der Kontrastfaktor K ([K] = $m^2\ g^{-2}$ mol) als Streuintensität eines einzelnen gelösten Teilchens:

$$K = \frac{4\pi^2}{\lambda^4 N} {n_0}^2 \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)^2 \tag{7}$$

Da die Streuintensität noch abhängig von Gerätekonstanten (Geometrie des Aufbaus, Empfindlichkeit des Detektors) ist, wird das Rayleigh-Verhältnis R eingeführt, welches die absolute Streuintensität unabhängig von den experimentellen Bedingungen angibt und sich aus dem Kontrastfaktor K, der Konzentration c und der Molmasse M des Teilchens ergibt:

$$R = K \cdot c \cdot M = \frac{4\pi^2}{\lambda^4 N} {n_0}^2 \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)^2 \cdot c \cdot M \tag{8}$$

An Gleichung (8) ist zu erkennen, dass die Streuintensität großer Partikel viel höher als die kleinerer Partikel in gleicher Konzentration ist (R ist proportional zur Anzahl der Streuzentren und zum Quadrat der Molmasse: $R \sim c \sim M$). Daher werden Lichtstreumessungen sehr stark durch molekulare Aggregation oder Verunreinigungen wie Staub gestört. Experimentell zu bestimmen ist das Rayleigh-Verhältnis durch Abziehen der Streuintensität des Untergrundes ($I_{\text{Lösungsmittel}}$) von der der Probe ($I_{\text{Lösung}}$), normiert mit der Streuintensität eines Standards (I_{Std}) und der sogenannten absoluten Streuintensität des Standards aus der Literatur ($I_{\text{Std,abs}}$):

$$R = \frac{I_{\text{Lösung}} - I_{\text{Lösungsmittel}}}{I_{\text{Std}}} I_{\text{Std,abs}} \tag{9}$$

Bei nicht ideal verdünnten Lösungen sind interpartikuläre Wechselwirkungen zwischen gelöstem Substrat und Lösungsmittel in Form des zweiten Virialkoeffizienten A_2 aus einer Reihenentwicklung nach c zu berücksichtigen. Für kleine Partikel mit Durchmessern $d < \lambda/20$ ergibt sich somit aus Gleichung (8) folgende Gleichung:

$$\frac{Kc}{R} = \frac{1}{M} + 2A_2c \tag{10}$$

Streuung von verdünnten Lösungen größerer Partikel: Einführung der Winkelabhängigkeit

Die Streuintensitäten sind wie eingangs erwähnt für kleine Teilchen vom Beobachtungswinkel unabhängig. Größere Teilchen mit Durchmessern $d > \lambda/20$ können nicht mehr als Punktstreuer betrachtet werden, die gemessene Intensität wird nun winkelabhängig, da es zu konstruktiver und destruktiver Interferenz der gestreuten Lichtwellen kommt. Beschreiben lässt sich dies durch den Streuvektor $\vec{q} = \vec{k} - \vec{k}_0$ (Abbildung 5a). Die Länge des Vektors $\vec{q}$ ist abhängig von der Wellenlänge des Lichts λ, dem Streuwinkel θ und dem Brechungsindex des Lösungsmittels n:

$$|\vec{q}| = q = \frac{4\pi n \sin(\frac{\theta}{2})}{\lambda} \tag{11}$$

Aus Gleichung (11) ist zu erkennen, dass es sich bei q um eine inverse Längenskala handelt. Die Größenordnung des Streuvektors entspricht somit der Vergrößerungsstufe, mit der Proben untersucht werden können. Von einem Partikel können umso mehr Details wahrgenommen werden, je größer q wird, je kleiner also die intrapartikulären Distanzen werden (Abbildung 5b).

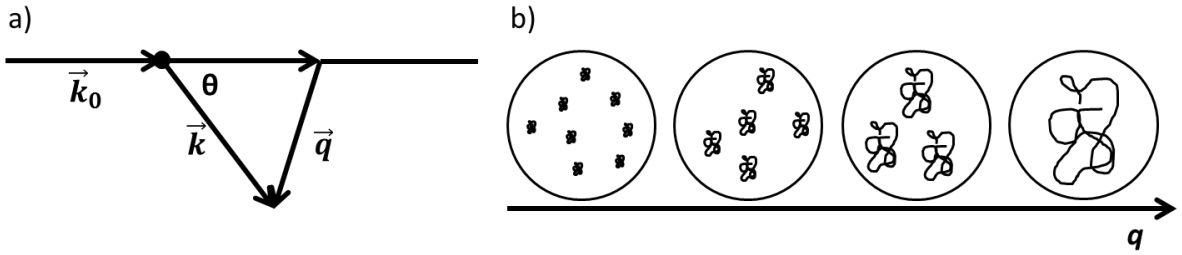

Abbildung 5: a) Definition des Streuvektors $\vec{q}$. b) Veranschaulichung der Vergrößerung bei zunehmendem q.[46]

Interpartikuläre Wechselwirkungen können in verdünnter Lösung vernachlässigt werden, sodass nur noch die intrapartikulären Interferenzen betrachtet werden müssen. Für die winkelabhängige, normierte Streuintensität, das Rayleigh-Verhältnis R, ergibt sich durch paarweises Aufsummieren über sämtliche Interferenzen und Mittelung über alle Raumrichtungen eine Abhängigkeit vom sogenannten Partikelformfaktor $P(q)$:

$$R(q) = K \cdot c \cdot M \cdot P(q) \tag{12}$$

Dieser beschreibt die intramolekularen Wechselwirkungen in einem Partikel und damit dessen Form. Unter Einbeziehung der Schwerpunktkoordinaten ergibt sich für $P(q)$:

$$P(q) = 1 - \frac{1}{3} {R_g}^2 q^2 \tag{13}$$

Bei R_g handelt es sich um den *z*-gemittelten Trägheitsradius des Partikels. Gleichung (10) wird nun um den Partikelformfaktor erweitert und ergibt die für die statische Lichtstreuung essentielle Zimm-Gleichung:[47]

$$\frac{Kc}{R} = \frac{1}{MP(q)} + 2A_2c = \frac{1}{M} + \frac{1}{3M} {R_g}^2 q^2 + 2A_2c \tag{14}$$

Aus Gleichung (14) ergibt sich die Möglichkeit, den Trägheitsradius und die Molmasse von Streuern zu ermitteln. Bei letzterem handelt es sich um das Gewichtsmittel der Molmasse M_w polydisperser Proben. Der zweite Virialkoeffizient A_2 gilt als Maß für die Partikel-Lösungsmittel-Wechselwirkung. Für $A_2 \approx 0$ liegt ein schlechtes Lösungsmittel vor (keinerlei Wechselwirkung), für $A_2 > 0$ ein gutes.

Die experimentelle Darstellung des Formfaktors als Auftragung von $q \cdot P(q)$ gegen q wird als Holtzer-Plot[48] bezeichnet, der Verlauf der Kurve lässt Aussagen über die Flexibilität bzw. Form der untersuchten Teilchen zu, wie in Abbildung 6 gezeigt.

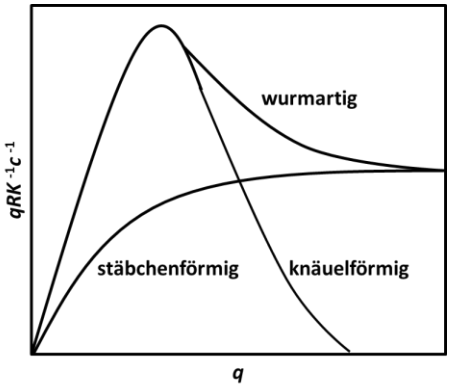

Abbildung 6: Schematischer Verlauf der Holtzer-Plots für unterschiedlich flexible Strukturen

2.3.1.2. Dynamische Lichtstreuung

Die dynamische Lichtstreuung basiert auf der Brownschen Bewegung von gelösten Teilchen aufgrund von thermischen Dichtefluktuationen des Lösungsmittels. Die Diffusion der Teilchen in das Streuvolumen hinein oder heraus hat dementsprechend eine zeitliche Änderung der Streuintensität bei gegebenem Winkel zur Folge: $I(q, t)$. Während bei der statischen Lichtstreuung die Streuintensität über die gesamte Messdauer bei einem Winkel gemittelt wird, wird in der dynamischen Lichtstreuung die Fluktuation der Streuintensität über die Zeit aufgenommen. Um das Signal vom Untergrundrauschen abzuheben, wird dieses mithilfe eines Korrelators in eine van-Hove-Autokorrelationsfunktion umgewandelt, welche die zeitliche Veränderung der Teilchenorte beschreibt. Das dazugehörige DLS-Signal ist die Fourier-Transformierte. Die Intensitätsauto-korrelationsfunktion $G(q, \tau)$ ergibt sich durch paarweise Multiplikation (Korrelation) von $I(q, t)$ mit einer um die Zeit τ verschobenen Streuintensität $I(q, t + \tau)$, Mittelung über die gesamte Messzeit (< >) und Normierung:

$$G(q,\tau) = \frac{\langle I(q,t)I(q,t+\tau)\rangle}{\langle I(q,t)^2\rangle} \tag{15}$$

G ist nun nicht mehr von *t*, sondern nur noch von der Korrelationszeit τ abhängig, welche von 100 ns bis zu einigen s reichen kann. So wird untersucht, inwiefern diese zwei Intensitäten von sich selbst abhängen (autokorreliert sind). Mit zunehmendem τ sinkt die Selbstähnlichkeit und die Autokorrelationsfunktion fällt mit der Relaxationsrate $\Gamma = 1/\tau$ ab. Rauschen ist rein statistisch und daher nicht autokorreliert, sodass es herausgefiltert wird. Über die Siegert-Relation wird die experimentell zugängliche Intensitätsautokorrelationsfunktion aus Gleichung (15) in die Amplitudenautokorrelationsfunktion $C(q,\tau)$ umgewandelt:

$$C(q,\tau) = \sqrt{\frac{\langle I(q,t)I(q,t+\tau)\rangle}{\langle I(q,t)^2\rangle} - 1} = \exp(-\Gamma\,\tau) = \exp(-D_s q^2\,\tau) \tag{16}$$

D_s bezeichnet den Selbstdiffusionskoeffizienten, welcher einen Parameter für die Bewegung des Einzelteilchens in der Lösung („Random Walk“) darstellt und über die Stokes-Einstein-Gleichung gegeben ist:

$$D_s = \frac{\mathrm{k}T}{6\pi\eta R_\mathrm{h}} \tag{17}$$

η ist dabei die Viskosität des Lösungsmittels. Durch Umstellen lässt sich der *z*-gemittelte hydrodynamische Radius R_h des Teilchens ermitteln:

$$R_\mathrm{h} = \langle 1/R_\mathrm{h}\rangle_\mathrm{z}^{-1} = \frac{\mathrm{k}T}{6\pi\eta D_s} \tag{18}$$

Zu beachten ist, dass der Diffusionskoeffizient für nichtsphärische oder polydisperse Partikel winkelabhängig ist. Daher muss eine Extrapolation auf $q = 0$ durchgeführt werden. Des Weiteren gelten die Berechnungen nur für ausreichend verdünnte Lösungen unterhalb der Überlappungskonzentration c^*, also ohne Partikel-Partikel-Wechselwirkungen.

Bei Proben mit mehreren Relaxationsraten kann der sogenannte CONTIN-Algorithmus[49-51] zur Analyse verwendet werden:

$$C(q,\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} H(\ln\tau)\exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) d\,(\ln\tau) \tag{19}$$

Die Auftragung der Relaxationszeitenverteilung $H(\ln\tau)$ gegen τ ergibt Maxima, aus denen Γ, D_s und schließlich R_h berechnet werden können.

Der Quotient aus Trägheitsradius R_g und hydrodynamischen Radius R_h wird als Strukturparameter ρ bezeichnet:

$$\rho = \frac{R_\mathrm{g}}{R_\mathrm{h}} \tag{20}$$

ρ ist ein Maß für die Dichte einer Struktur und sein Wert lässt Rückschlüsse auf die Form der Teilchen zu. Eine homogene Kugel liefert beispielsweise $\rho = 0{,}775$, eine Hohlkugel 1, ein statistisches Knäuel ca. 1,5 und Ellipsoide oder andere anisotrope Strukturen Werte zwischen 0,775 und 4.

2.3.2. Kernmagnetische Resonanz- (NMR-) Spektroskopie

Grundlage der NMR-Spektroskopie[52] (Nuclear Magnetic Resonance / Kernmagnetische Resonanzspektroskopie) ist die Untersuchung der Kernspinzustände von NMR-aktiven Kernen, um Aussagen über die elektronische Umgebung der Kerne in organischen Molekülen zu erhalten. Kerne, die ein magnetisches Moment besitzen (einen von Null verschiedenen Kernspin), sind per NMR-Spektroskopie zugänglich, allen voran ^{1}H, aber auch beispielsweise ^{13}C oder ^{31}P-Kerne. In einem starken, alternierenden Magnetfeld von bis zu 24 Tesla werden Kernspin-Übergänge angeregt, deren Resonanzfrequenzen (Larmor-Frequenz) im Bereich von 300–1000 MHz liegen. Je nach chemischer Umgebung kommt es zu Ab- oder Entschirmung der Kerne, welche die Resonanzfrequenzen leicht verändern. Die Änderung wird als chemische Verschiebung δ in ppm angegeben. Sie ist typisch für die Wechselwirkung mit dem Kern und lässt Aussagen über die Struktur des Moleküls zu.

Durch Benutzung eines inhomogenen Magnetfeldes lässt sich die Beweglichkeit eines Moleküls in der Probe analysieren. Die Signale erhalten eine Abhängigkeit von der Diffusionsgeschwindigkeit, das daraus abgeleitete zweidimensionale DOSY-Spektrum (Englisch: ‚Diffusion Ordered Spectroscopy‘) ermöglicht die Bestimmung des zu einem Signal zugehörigen Diffusionskoeffizienten. Das sogenannte HSQC-Spektrum (Englisch: ‚Heteronuclear Single Quantum Coherence‘) ermöglicht die Korrelation der Signale verschiedener Spektren, zum Beispiel die des ^{1}H- mit denen des ^{13}C-Spektrums.

2.3.3. Infrarot- (IR-) Spektroskopie

Die Infrarot- (IR-) Spektroskopie[53] basiert auf der Analyse von Molekülschwingungen durch Anregung mit elektromagnetischen Wellen im infraroten Bereich von 800 nm bis 1 mm. Dabei kommt es zur Absorption von Energie und einer Anregung der Molekülbindungen in höherliegende Schwingungsniveaus. Voraussetzung für IR-aktive Schwingungen ist ein sich änderndes Dipolmoment. Im resultierenden Transmissionsspektrum (aufgetragen üblicherweise gegen die Energie in cm^{-1}) entsprechen die Signale charakteristischen Bindungsschwingungen, sodass die IR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung und zum Nachweis funktioneller Gruppen eingesetzt werden kann.

2.3.4. Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie (GPC),[54] auch Größenausschlusschromatographie (Englisch: ‚Size Exclusion Chromatography, SEC') genannt, ist eine Flüssigchromatographiemethode, die auf der Trennung von makromolekularen Substanzen nach deren hydrodynamischem Volumen basiert. Die Trennsäule (stationäre Phase) besteht aus porösen Partikeln, durch die die Probe im Eluenten diffundiert. Polymere mit einem kleinen hydrodynamischen Volumen können in die Poren der Partikel eindringen. Sie haben daher ein großes Diffusionsvolumen zur Verfügung und brauchen lange, um die Säule komplett zu passieren. Größere Moleküle können jedoch nicht in die kleinen Poren eindringen und eluieren schneller bzw. bei einem geringeren Elutionsvolumen. Dabei soll keine chemische oder physikalische Wechselwirkung zwischen Säule und Probe stattfinden. Die Porengröße der Polymerschicht muss an die zu trennende Probe angepasst werden, um eine gute Trennleistung zu ermöglichen. Die Detektion erfolgt üblicherweise über Brechungsindex- (RI-) oder UV-Vis-Detektoren, bei der GPC-MALS (Englisch: ‚Multi Angle Light Scattering') über Lichtstreudetektoren.

Die GPC ist eine Relativmethode zur Molekulargewichtsbestimmung, das heißt, es werden externe Standards zur Kalibration benutzt. Monodisperse Polymere mit definierter Molmasse in unterschiedlichen Größen werden auf der Säule eluiert und bilden eine Kalibrationskurve, mit der das Signal der eigentlichen Probe verglichen wird. So lassen sich das Zahlenmittel (M_n) und das Gewichtsmittel (M_w) des Molekulargewichts berechnen und daraus die Polydispersität (Polydispersitäts-Index PDI) der Probe:

$$\mathrm{PDI} = \frac{M_\mathrm{w}}{M_\mathrm{n}} \tag{21}$$

2.3.5. Zetapotential

Das Zeta-Potential ζ ist ein Maß für die Oberflächenladung von Partikeln in Lösung oder Suspension.[55] Elektrisch geladene Partikel (z. B. Ionen oder Polyelektrolyte) in Elektrolytlösung bilden aufgrund der elektrostatischen Anziehung eine sogenannte Helmholtz-Doppelschicht aus, in der sich Ionen relativ fest gebunden um den Partikel anordnen. Darauf folgt eine weitere Schicht mit Lösungsmittelmolekülen, welche deutlich schwächer gebunden ist. Beim Anlegen einer elektrischen Spannung findet eine Diffusion des Partikels inklusive Helmholtz-Doppelschicht hin zu der entgegengesetzt geladenen Elektrode statt. Die zweite, locker gebundene Schicht wird aufgrund der Reibung abgeschert, der Partikel erscheint also geladen. Je nach Stärke der Ladung erfolgt die Diffusion in unterschiedlicher Geschwindigkeit, ausgedrückt als elektrophoretische Mobilität U_e, welche als Maß für das Zeta-Potential dient:

$$\zeta \sim \frac{\eta U_\mathrm{e}}{\varepsilon} \tag{22}$$

η bezeichnet die Viskosität der Lösung, ε die dielektrischen Permittivität. Messen lässt sich die elektrophoretische Mobilität durch die Laser-Doppler-Elektrophorese, der Detektion der Frequenzverschiebung des Streulichtes aufgrund des Dopplereffekts, woraus die Geschwindigkeit der Teilchenbewegung berechnet wird.

3. Experimenteller Teil

3.1. Probenpräparation

Die vier untersuchten Xanthane wurden von Jungbunzlauer Ladenburg GmbH (Ladenburg, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Sie lagen in Form der Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calciumsalze vor und wurden ohne weitere Aufreinigung verwendet. Die Proben werden im Folgenden als Xanthan-1 (X1), Xanthan-2 (X2), Xanthan-3 (X3) und Xanthan-4 (X4) bezeichnet.

Zur Herstellung der rein wässrigen Lösungen wurden die Xanthane in der entsprechenden Menge MilliQ-Reinstwasser (Merck Millipore, Billerica, USA) über Nacht auf der Schüttelplatte gelöst. Bei höheren Xanthankonzentrationen (> 0,5 g/L) wurde, falls nötig, über zwei Nächte geschüttelt, um vollständiges Lösen zu ermöglichen. Alle untersuchten Xanthane ließen sich nur bei niedriger Salzkonzentration (≤ 0,01 mol/L) direkt in der Salzlösung über Nacht lösen. Bei höherer Salzkonzentration war ein Lösen auch über mehrere Tage unter Rühren und bei 60 °C nicht möglich. Daher wurden die Xanthane zu einer höheren Konzentration in MilliQ-Wasser über Nacht auf der Schüttelplatte gelöst, anschließend wurde die benötigte Menge der 2 M Salzlösung zugegeben und ebenfalls über Nacht geschüttelt, um die gewünschte Polymer- und Salzkonzentration zu erhalten.

3.2. Messmethoden und Durchführung

3.2.1. Lichtstreuung

3.2.1.1. Apparativer Aufbau

Die verwendete Lichtstreuanlage stammte von der Firma ALV GmbH (Langen, Deutschland). Bei dem Korrelator handelte es sich um einen ALV 5004-Korrelator mit 320 Kanälen (Auflösung 10^{-7}–10^{3} s), bei dem Detektor um eine Avalanche-Photodiode auf einem elektrisch ansteuerbaren Goniometer. Als Lichtquelle wurde ein Helium-Neon-Laser vom Typ 1145P von JDS Uniphase (Milpitas, USA) mit einer Wellenlänge von 632,8 nm und einer Leistung von 25 mW verwendet. Für temperaturabhängige Messungen war die Anlage mit einem Thermostaten von Julabo (Seelbach, Deutschland) bestückt. Messungen wurden im Winkelbereich von θ = 30°–150° (entspricht q = 6,846–25,550 μm^{-1}) durchgeführt.

3.2.1.2. Probenvorbereitung und -messung

Lichtstreumessungen fanden – falls nicht anders beschrieben – an Xanthanlösungen mit Polymerkonzentrationen von 0,5 g/L (entspricht 0,05% w/w) und unterschiedlichen Salzkonzentrationen bei Raumtemperatur statt. 1,5 mL der Lösungen wurden durch hydrophile Millex-Filter 0,45 µm HA aus Cellulosemischester (Merck Millipore, Billerica, USA) in Quarzglasküvetten von

Hellma (Müllheim, Deutschland) mit Innendurchmessern von 18 mm filtriert. Dabei wurden die ersten drei Tropfen verworfen, um Verunreinigungen zu beseitigen. Die Küvetten wurden vorher in Acetonbrunnen staubfrei gespült (Aufbau nach Thurmond[56]).

Dynamische Lichtstreumessungen wurden – falls nicht anders beschrieben – bei Raumtemperatur (20 °C) in Winkeln zwischen 30° und 150° in 30°-Schritten durchgeführt. Die Messdauer betrug 60 s, jeder Winkel wurde zweimal gemessen. Statische Lichtstreumessungen erfolgten bei Raumtemperatur in 5°-Schritten zwischen 30 und 150° bei 5 Messungen pro Winkel à 5–10 s.

Anzumerken ist, dass Lichtstreumessungen zur besseren Reproduzierbarkeit immer kurz nach der Probenvorbereitung erfolgen sollten. Die vorliegenden Messungen wurden zumeist nur einen Tag oder unwesentlich länger nach dem Lösen in Wasser bzw. Salzlösung durchgeführt. Messungen, die nach etwa ein bis zwei Wochen oder noch später nach dem Ansetzen der Lösungen stattfanden, zeigten leicht abweichende Streuintensitäten und somit auch andere Radien und Kurvenverläufe. Nach ein bis zwei Monaten der Lagerung bei Raumtemperatur zeigten sich auch Spuren von Bakterienwachstum in den Proben.

3.2.1.3. Brechungsindexinkrement

Das Brechungsindexinkrement wurde bei Raumtemperatur an einem Scanning Michelson Interferometer[57] mit einem Laser der Wellenlänge 632,8 nm sowohl in rein wässriger, als auch in 0,1 M $NaNO_3$-Lösung mit Konzentrationen zwischen 0,1 und 1,9 g/L gemessen.

3.2.2. Ultraschallbehandlung

Die Xanthanproben wurden in Konzentration zwischen 1,5 und 2 g/L in MilliQ-Wasser über mindestens eine Nacht auf der Schüttelplatte gelöst und 20 mL der Lösungen in 50 mL-Bechergläser gegeben. Die Ultraschallbehandlung erfolgte unter Eiskühlung an einem SFX450 Sonifier von Branson Ultrasonics (Danbury, USA) mit Titanspitze, einer Leistung von 450 W und einer Frequenz von 20 kHz für eine Beschallungsdauer von insgesamt 30 min, wobei nach jeweils 30 s eine Pause von 30 s zur Schonung der Spitze eingelegt wurde. Die Amplitude entsprach 30% der Maximalleistung. Anschließend wurde die Probe über Nacht gefriergetrocknet.

3.2.3. Kernmagnetische Resonanz- (NMR-) Spektroskopie

Die nicht ultraschallbehandelten Xanthanproben wurden in einer Konzentration von 5 g/L (^{1}H-NMR) über Nacht auf der Schüttelplatte in Deuteriumoxid (D_2O) gelöst, die ultraschallbehandelten Proben aufgrund der besseren Löslichkeit in einer Konzentration von 10 g/L. Die Messung erfolgte an Bruker Avance III-Spektrometern (Billerica, USA) mit Magnetfeldern von 500 oder 700 MHz und TXI ^{1}H/^{13}C/^{15}N-Probenköpfen mit *z*-Gradient.

3.2.4. Infrarot- (IR-) Spektroskopie

Die IR-Messungen erfolgten an einem Spectrum BX-FT-IR-Spektrometer von Perkin Elmer (Waltham, USA).

3.2.5. Gelpermeationschromatographie (GPC)

GPC-Messungen wurden durchgeführt an Xanthanproben mit einer Polymerkonzentration von 0,5 g/L. Eingesetzt wurde eine Säule Suprema Linear XL von PSS (Mainz, Deutschland) aus Polyhydroxymethacrylat mit einer Partikelgröße von 10 µm und einem Trennbereich von 5000 bis 3.000.000 g/mol. Als Eluent diente 0,1 M $NaNO_3$, die Messung fand bei 60 °C statt. Das Injektionsvolumen betrug 25 µL bei einer Flussrate von 0,5 mL/min. Die Kalibration erfolgte mit Pullulan-Standards mit Molmassen zwischen 500 und $1{,}2 \cdot 10^6$ g/mol, die Detektion mittels Brechungsindexdetektor.

3.2.6. Zetapotential

Die Messung des Zetapotentials erfolgte an einem Zetasizer Nano ZS von Malvern (Malvern, UK). Die Probenvorbereitung unterschied sich je nach Messung, dies ist in der Auswertung an der entsprechenden Stelle vermerkt. Die Xanthankonzentration wurde mit 1,9 g/L konstant gehalten. Jede Probe wurde dreimal gemessen und der Mittelwert gebildet.

4. Ergebnisse und Diskussion

Die Untersuchung der vier Xanthanproben erfolgt nach einem festen Schema. Zunächst werden Unterschiede in der Primärstruktur mithilfe verschiedener Methoden analysiert. Besonders auf Unterschiede im Acetat- oder Pyruvatgehalt wird hingewiesen. Die Untersuchungen lassen auch Rückschlüsse auf die Größe und Größenverteilung sowie eventuelle Verunreinigungen zu. Anschließend wird das Verhalten in Lösung diskutiert. Lichtstreumessungen geben Auskunft über die Größe, Form und Flexibilität der einzelnen Proben. Zusammenfassend werden die beobachteten Eigenschaften diskutiert und Erklärungen für das Verhalten vorgeschlagen.

4.1. Xanthanproben

Die vier zur Verfügung gestellten Xanthanproben stammen laut Herstellerangaben aus verschiedenen Fermentationen. Über die einzelnen Proben sind folgende Details bekannt:

Xanthan-1: keine weiteren Details,

Xanthan-2: acetatfrei,

Xanthan-3: geringe Viskosität,

Xanthan-4: bildet eine trübe Lösung.

4.2. Infrarot- (IR)-Spektroskopie

Um Unterschiede in der Primärstruktur zu bestimmen, wurden zunächst IR-Spektren der vier zu untersuchenden Xanthanproben aufgenommen (Abbildung 7). Die erhaltenen Spektren sind relativ ähnlich. Auffällig sind die breiten O–H-Valenzbanden der Kohlenhydrate um 3400 cm^{-1}. die Banden bei 2900 cm^{-1} sind den C–H-Valenzschwingungen zuzuordnen, die bei 1600 cm^{-1} den C–O-Valenzschwingungen der Carboxygruppen. Während Xanthan-1, -3 und -4 keine unterschiedlichen Banden zeigen, sind zwei Abweichungen im Spektrum von Xanthan-2 zu erkennen, wie der vergrößerte Ausschnitt in Abbildung 7 zeigt. Zum einen entfällt bei Xanthan-2 das Nebensignal der Carboxybande bei 1730 cm^{-1} (gelb markiert), zum anderen ist die Bande bei 1300 cm^{-1} (blau hinterlegt) nicht mehr zu erkennen. Eine eindeutige Zuordnung dieser fehlenden Banden ist nicht möglich. Dennoch kann vermutet werden, dass es sich bei ersterer um eine Deformationsschwingung eines Esters handelt, während die zweite Bande die Streckschwingung eines Esters widerspiegelt. Dies würde die Aussage bestätigen, dass Xanthan-2 acetatfrei sein soll, da die Acetatgruppen die einzigen Ester in der Struktur des Xanthans darstellen. Da es nicht möglich ist, die Carboxygruppen der Pyruvateinheiten von denen der Glucuronsäure zu unterscheiden, kann keine Aussage über den Pyruvatgehalt der Proben getroffen werden, ebenso wenig über den Acetatgehalt oder andere strukturelle Unterschiede der übrigen Xanthane.

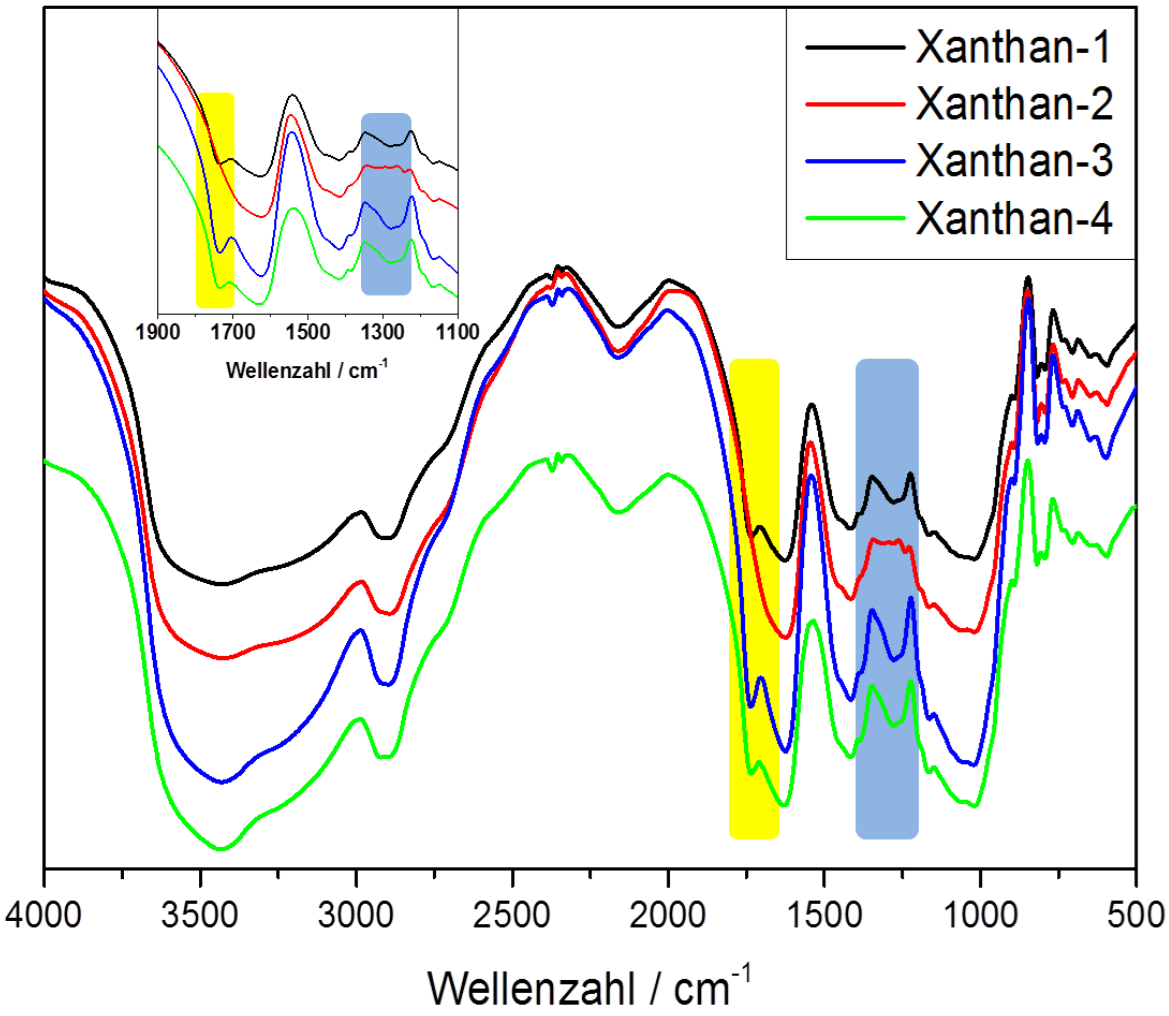

Abbildung 7: IR-Spektren von Xanthan-1 bis -4 mit Vergrößerung des Bereichs zwischen 1900 und 1100 cm^{-1}. Gelb und blau markiert sind die als Deformations- bzw. Streckschwingungen eines Esters identifizierten Banden.

4.3. Gelpermeationschromatographie (GPC)

GPC-Untersuchungen sollen Aufschluss über Molmassen, Molekulargewichtsverteilungen und eventuelle Verunreinigungen der vier Xanthanproben geben. Es wurden Versuche unter unterschiedlichen Bedingungen wie Säulenmaterial und Porengröße, Temperatur, Eluenten, Probenkonzentration, Einspritzvolumen usw. unternommen, um die optimalen Bedingungen zu ermitteln. Die Ergebnisse der Messungen mittels konventioneller GPC und RI-Detektor unter den im Experimentalteil beschriebenen Bedingungen sind für die vier Xanthane in Abbildung 8 zu sehen.

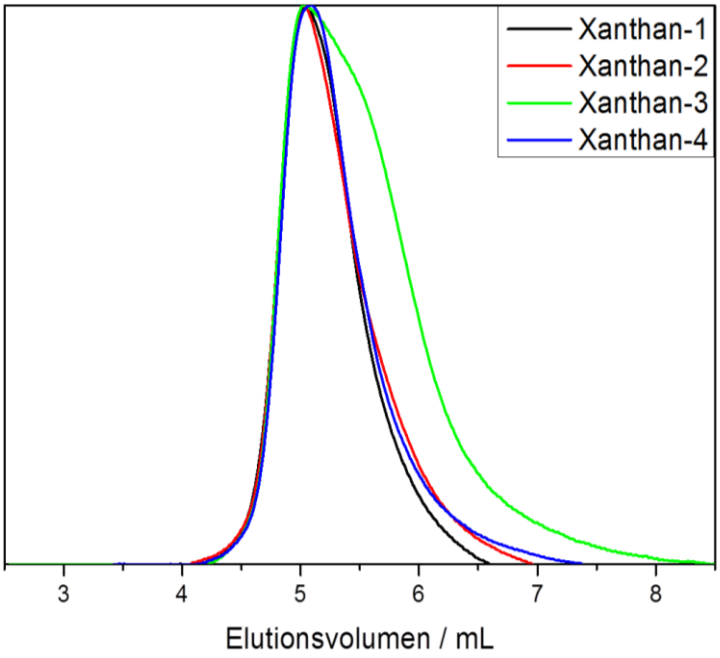

Abbildung 8: Normierte GPC-Elugramme der vier Xanthanproben.

Die Elugramme weisen breite Verteilungen bei niedrigen Elutionsvolumina auf, Nebenmaxima sind nicht zu erkennen. Einzig bei Xanthan-3 zeigt sich eine Schulter hin zu niedrigeren Molmassen. Die Maxima der vier Proben liegen alle im gleichen Bereich. Der RI-Detektor zeigt ausschließlich eine Detektion nach Konzentration und nicht nach Molmasse oder Größe. Diese kann nur durch Kalibration mit externen Standards erfolgen. Die Kurven liegen allerdings außerhalb des Kalibrationsbereichs mit Pullulan bei niedrigeren Elutionsvolumina, sodass sich nur Molmassen größer als $1{,}2 \cdot 10^6$ g/mol schlussfolgern lassen. Zur Bestätigung der Trennung wurden GPC-MALS (Englisch: ‚Multi Angle Light Scattering') -Messungen mit dem Lichtstreudetektor unter den gleichen Bedingungen durchgeführt. Die Online-Lichtstreudetektion eignet sich zur absoluten Molekulargewichtsbestimmung auch bei Proben dieser Größenordnung. In dem Elugramm der GPC-MALS ist allerdings keine Abnahme der Molmassen bei Fraktionen größerer Elutionsvolumina festzustellen. Zu erwarten wäre eine niedrigere Streuintensität und daraus resultierend ein kleineres Molekulargewicht bei später eluierenden Fraktionen. Eine molmassenabhängige Elution erscheint daher unwahrscheinlich. Es wird geschlussfolgert, dass bei allen GPC-Messungen keine Trennung nach hydrodynamischem Volumen stattgefunden hat. Vermutlich handelt es sich hier um eine ungeeignete Säule, die nicht in der Lage ist, die Proben nach Molekulargewicht oder Größe aufzutrennen. Auch wäre eine Säulenüberladung denkbar, Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial, ungeeignete Eluenten oder andere Bedingungen, die nur bei genauerer Analyse zu erkennen wären. Diese konnten jedoch im Rahmen dieser Masterarbeit nicht weiter untersucht werden. Auch bei nicht erfolgter Trennung kann angenommen werden, dass die Elution bei diesen geringen Volumina für eine Molmasse der Proben von über $1 \cdot 10^6$ g/mol spricht. Diese Größenordnung ist auch in der Literatur üblicherweise zu finden.

Zur Überprüfung der GPC-Trennung sowie für nachfolgende Charakterisierungsmethoden wurden Teile aller vier Xanthanproben einer Ultraschallbehandlung zur Reduzierung der Größe und des Molekulargewichtes ausgesetzt. Erste Versuche in einem Ultraschallbad mit Beschallungsdauern von bis zu 100 min führten zu keinerlei Abweichung in den GPC-Elugrammen und somit zu keiner Fragmentierung. Daher wurde als Alternative die Behandlung mit einer Ultraschallspitze für 30 min durchgeführt. Die so erhaltene Kurve für Xanthan-1 ist in Abbildung 9 im Vergleich zum Elugramm der unbehandelten Probe gezeigt.

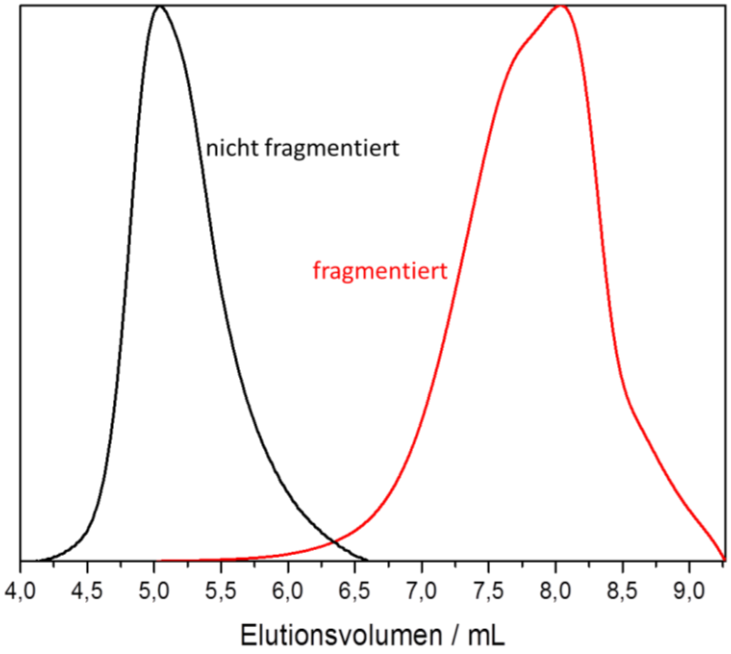

Abbildung 9: Normierte GPC-Elugramme von unbehandeltem (nicht fragmentiertem), sowie von ultraschallbehandeltem (fragmentiertem) Xanthan-1.

Die ultraschallbehandelte Probe eluiert bei deutlich größeren Elutionsvolumina und ist breiter verteilt als die ursprüngliche Probe. Das Signal liegt nun innerhalb des Kalibrationsbereichs mit Pullulan. So ergeben sich Molmassen von M_n = 120.000 g/mol und M_w = 179.000 g/mol, was zu einem PDI von 1,50 führt. Auch wenn diese Absolutwerte aufgrund der unterschiedlichen Struktur des Pullulans nur auf eine ungefähre Größenordnung hindeuten, lässt sich daraus schließen, dass die Fragmentierung erfolgreich war und kleinere Einheiten vorliegen. Ob hier aber tatsächlich eine Trennung nach hydrodynamischem Volumen vorliegt, lässt sich nicht zweifelsfrei klären.

4.4. Kernmagnetische Resonanz- (NMR-) Spektroskopie

Die NMR-Untersuchungen an den verschiedenen Xanthanen sollen mehrere Aspekte abdecken. Einerseits soll ermittelt werden, ob, und falls ja, welche Verunreinigungen in den Proben vorhanden sind. Andererseits sollen eventuelle strukturelle Unterschiede zwischen den einzelnen Proben analysiert werden. Darunter fällt auch die Bestimmung des Acetat- und Pyruvatgehaltes der Ketten durch Integration dieser Signale gegen ein Referenzsignal. Über zweidimensionale HSQC-Messungen soll darüber hinaus eine genauere Analyse des Zusammenhangs zwischen den Signalen des ^{1}H- und des ^{13}C-Spektrums erfolgen. DOSY-Messungen ermöglichen die Berechnung des Diffusionskoeffizienten der signalgebenden Molekülteile, woraus sich die hydrodynamischen Radien ermitteln lassen.

4.4.1. ^{1}H-NMR-Spektroskopie der vier Xanthane

Um ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (Signal-to-Noise Ratio, SNR) zu erhalten, wurden die Xanthanproben in höchstmöglicher Konzentration in Deuteriumoxid (D_2O) gelöst. Durch die resultierende hohe Viskosität der Lösungen war es jedoch nicht möglich, über Xanthankonzentrationen von mehr als 5 mg/mL hinauszugehen. ^{1}H-NMR-Messungen an 250 bzw. 300 MHz-Geräten bei Raumtemperatur lieferten Spektren mit einem sehr schlechten SNR, aus denen keine weiteren Informationen herausgezogen werden konnten. Daher erfolgten alle weiteren Messungen bei 80 °C und 500 bzw. 700 MHz. Die ^{1}H-NMR-Spektren der vier Xanthane sind in Abbildung 10 gezeigt.

Deutlich zu sehen sind in allen Spektren die zwischen 5,3 und 3,7 ppm breit verteilten und nicht getrennt voneinander aufgelösten Signale der direkt an die Kohlenhydratkette gebundenen Protonen. Das Lösungsmittelsignal von D_2O bei 4,7 ppm ist lila markiert. Die Acetat- und Pyruvatsignale sind bei 2,7 ppm (gelb) bzw. 1,9 ppm (grün) zu erkennen. Bei den blau hinterlegten Signalen handelt es sich um eine Verunreinigung, vermutlich Essigsäure oder Acetate.

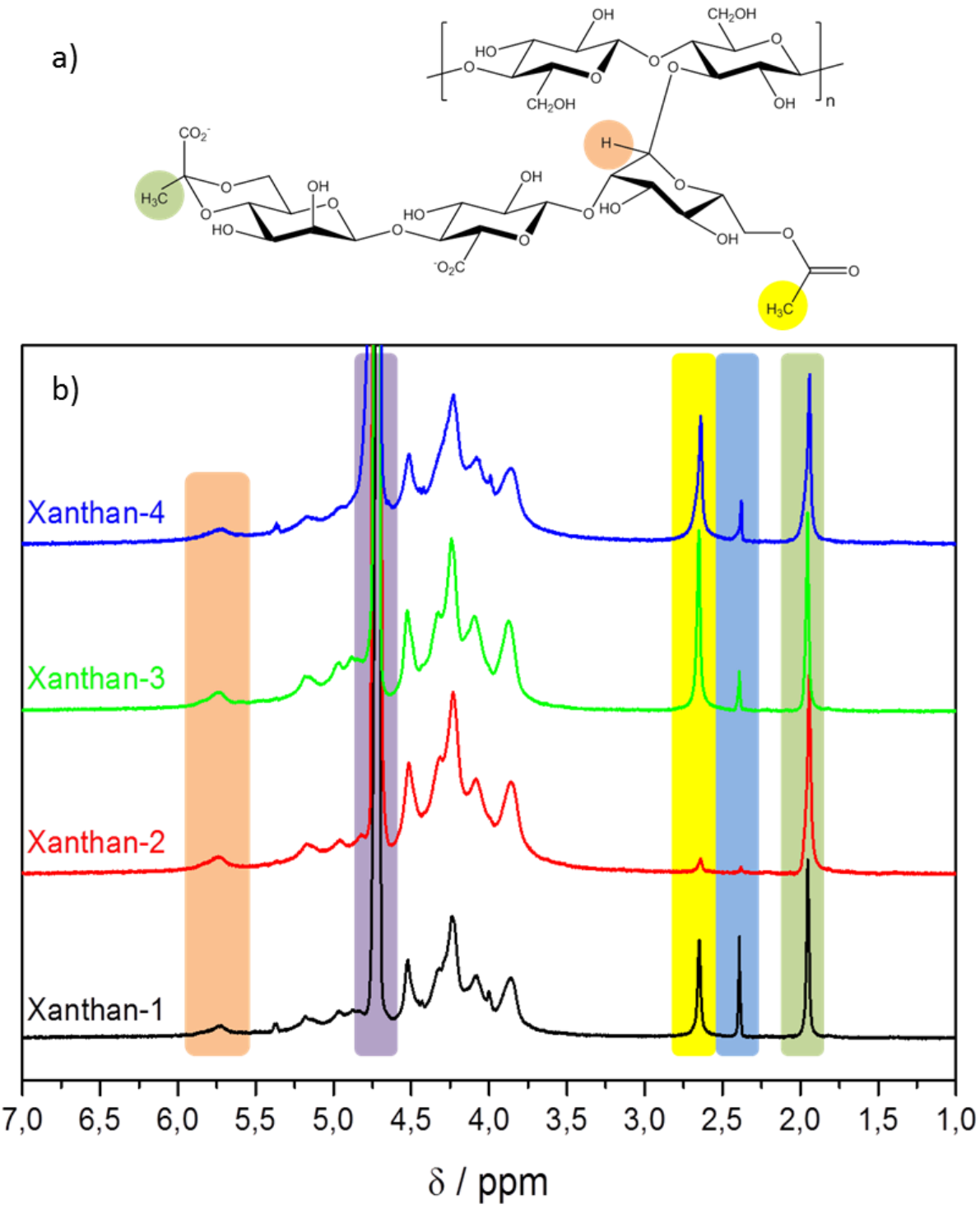

Abbildung 10: a) Primärstruktur des Xanthans mit farblicher Markierung der Protonen, die in den Spektren in b) die charakteristischen Signale liefern. b) ^{1}H-NMR-Spektren der vier Xanthanproben bei 80 °C und 500 MHz in D_2O. Lila markiert das Lösungsmittelsignal, blau eine Verunreinigung. Orange markiert das Signal des anomeren Protons an der ersten Mannoseeinheit, gelb und grün die Signale der Acetat- bzw. Pyruvatgruppen.

4.4.2. Bestimmung des Acetat- und Pyruvatgehalts mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie nach Ultraschallbehandlung

Die Ermittlung des Acetat- und Pyruvatgehalts der einzelnen Xanthane erfolgt wie in der gängigen Literatur[42] beschrieben durch Integration dieser Signale im Vergleich zum Signal des anomeren Protons an der C1-Position der ersten Mannoseeinheit in der Seitenkette bei 5,8 ppm (in Abbildung 10 orange hinterlegt). Wird dieses Signal auf eins normiert (entspricht einem Proton pro Wiederholungseinheit) und die Intensitäten der Acetat- und Pyruvatsignale durch drei dividiert (da jede Acetat- und Pyruvatgruppe drei chemisch äquivalente Protonen enthält), so ergibt sich ein theoretischer Wert zwischen 0 und 1, welcher der Substitution mit diesen Gruppen pro Wiederholungseinheit entspricht. Ein ermittelter Wert von beispielsweise 0,5 entspricht somit einem Substitutionsgrad von 50%.

In Abbildung 10 ist zu erkennen, dass vor allem die Referenzsignale dieses anomeren Protons sehr schlecht aufgelöst sind und sich nicht basisliniengetrennt von den anderen Signalen integrieren lassen. Dadurch wird die Integration sehr stark fehlerbehaftet und es lassen sich nur ungefähre Werte ermitteln. Dies wurde anhand der großen Streuung der Werte mehrerer Messungen deutlich. Eine genauere Bestimmung der Werte ist daher wünschenswert. Besser aufgelöste Spektren sind durch Degradation der Proben mittels Behandlung per Ultraschallspitze in kleinere Fragmente zu erwarten.[43] Dies könnte besser integrierbare Signale liefern und eine exaktere Bestimmung der Gehalte an Pyruvat und Acetat ermöglichen.

Alle vier Xanthane wurden daher einer Ultraschallbehandlung von 30 min unterzogen und anschließend gefriergetrocknet. Die Polymerkonzentration dieser Proben für die NMR-Spektren konnte aufgrund der besseren Löslichkeit und geringeren Viskosität auf 10 mg/mL gesteigert werden, die Messungen erfolgten wie oben beschrieben bei 80 °C an einem 500 bzw. 700 MHz-Spektrometer. Das ^{1}H-NMR-Spektrum der ultraschallbehandelten Probe (rot) ist beispielhaft für Xanthan-1 in Abbildung 11 im Vergleich zu dem der nicht ultraschallbehandelten Probe (schwarz) gezeigt.

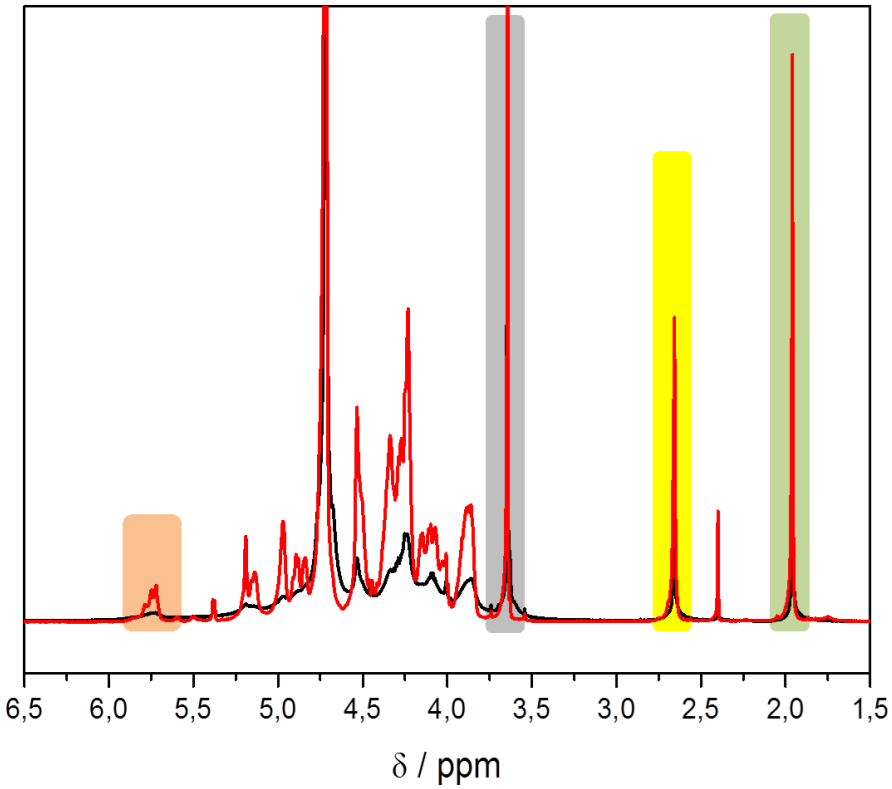

Abbildung 11: ^{1}H-NMR-Spektren von nicht fragmentiertem (schwarz) und fragmentiertem (rot) Xanthan-1 bei 80 °C und 700 MHz in D_2O. Gelb hinterlegt die Acetat- und grün die Pyruvatsignale, die zur Bestimmung des jeweiligen Gehalts gegen das orange markierte Referenzsignal des anomeren Protons an der ersten Mannoseeinheit integriert wurden. Grau hinterlegt das Signal des internen Standards Dimethylsulfon (DMS).

Eine höhere Intensität und bessere Auflösung der Signale ist deutlich zu erkennen. Für die weiteren Xanthane wurden ebenso entsprechend besser aufgelöste Spektren erhalten. Erneut wurde der Acetat- und Pyruvatgehalt bei gleichem Vorgehen wie oben erläutert bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 12 und Tabelle 1 gezeigt.

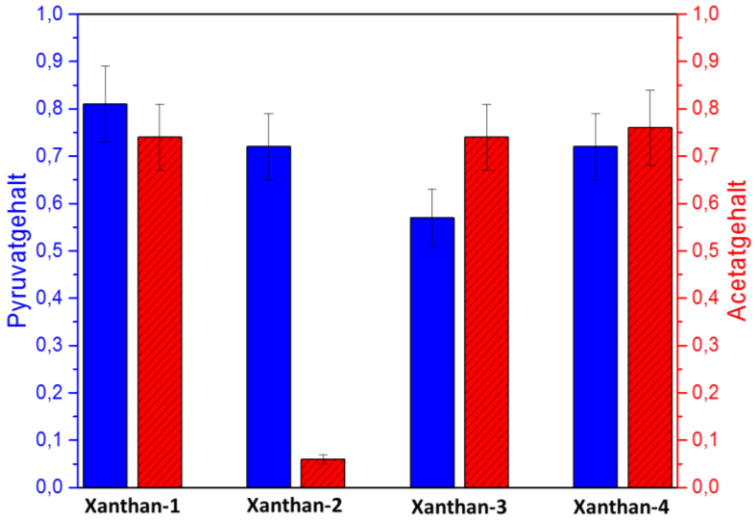

Abbildung 12: Durchschnittliche Anzahl der Pyruvat- (blau) und Acetatgruppen (rot schraffiert) pro Wiederholungseinheit der verschiedenen Xanthane. Werte bestimmt aus der Integration der entsprechenden Signale in den ^{1}H-NMR-Spektren der fragmentierten Proben gegen das anomere Proton an der C1-Position der ersten Mannoseeinheit.

Tabelle 1: Pyruvat- und Acetatgehalt der verschiedenen Xanthane.

	Pyruvatgehalt	Acetatgehalt
Xanthan-1	0,81 ± 0,08	0,74 ± 0,07
Xanthan-2	0,72 ± 0,07	0,06 ± 0,01
Xanthan-3	0,57 ± 0,06	0,74 ± 0,07
Xanthan-4	0,72 ± 0,07	0,76 ± 0,08

Wie erwartet zeigt Xanthan-2 einen sehr niedrigen Acetatgehalt an nur etwa 6% der Seitenketten. Der Acetatgehalt der übrigen Xanthane liegt deutlich höher im Bereich um 75%. Der Pyruvatgehalt von Xanthan-1 ist mit ca. 81 % am höchsten und reduziert sich bei Xanthan-2 und -4 auf 72%. Xanthan-3 weist einen deutlich niedrigeren Pyruvatgehalt von 57% auf. Die Fehlerbereiche werden mit 10% des Messwertes angenommen.

Bei der Bewertung der Ergebnisse müssen zwei Überlegungen überprüft werden. Erstens stellt sich die Frage, ob eine Ultraschallbehandlung ausschließlich zur Reduzierung des Molekulargewichts durch Fragmentierung führt, oder ob auch funktionelle Gruppe abgespalten werden, sich der Acetat- und Pyruvatgehalt der Fragmente also ändert. Laut Literatur sollen beide Werte unverändert bleiben.[41] Tatsächlich ergibt die oben angesprochene Berechnung der nicht ultraschallbehandelten Proben unter Berücksichtigung der großen Fehler einen gleichen Wert bei Xanthan-2 und -3. Xanthan-1 und -4 zeigen um bis zu 20% niedrigere Gehalte als die fragmentierten Proben. Eine Abspaltung der funktionellen Gruppen bei Ultraschallbehandlung kann also ausgeschlossen werden, da die Werte der ultraschallbehandelten Proben in diesem Fall niedriger und nicht höher liegen müssten als die der unbehandelten Proben.

Diese Unterschiede in den Gehalten zwischen fragmentiertem und nichtfragmentiertem Xanthan-1 und -4 führen zu der zweiten Frage, wodurch diese Differenzen zustande kommen. Eine Möglichkeit stellt die bessere Auflösung der Signale nach Ultraschallbehandlung dar. Vor allem das Referenzsignal (orange) kann nun basisliniengetrennt integriert werden, wodurch die Ermittlung der Werte deutlich verbessert und der Fehler verkleinert wird. Die zweite Möglichkeit allerdings behandelt die Frage, ob die berechneten Werte sowohl bei den unbehandelten, als auch bei den fragmentierten Proben repräsentativ für die gesamte Kette stehen. Durch die hohe Viskosität und geringe Beweglichkeit wäre es denkbar, dass beispielsweise nur außenliegende, mobilere Kettensegmente oder Gruppen an kleineren Fragmenten zugänglich sind. Durchgehend höhere Werte an den ultraschallbehandelten Proben würden aufgrund der besseren Beweglichkeit der kürzeren Ketten dafür sprechen.

Zur Klärung dieser Fragen wurden weitere Messungen unter Zugabe eines internen Standards durchgeführt. Eine definierte Menge Dimethylsulfon (DMS) wurde zugegeben, das entsprechende Signal bei 3,6 ppm (in Abbildung 11 grau markiert) integriert und ins Verhältnis zu dem Signal des anomeren Protons gesetzt. Ein höherer Wert des Signals von DMS als theoretisch berechnet würde für oben genannte Theorie sprechen, dass nicht alle Kettenteile zugänglich sind, da Intensität des Referenzsignals verloren ginge. Damit wäre auch der Acetat- und Pyruvatgehalt nicht repräsentativ für die gesamte Probe. Ein niedrigerer Wert als erwartet spricht für Einwiege-, Integrations- oder Messfehler, da keine Intensität des internen Standards DMS verloren gehen sollte und die Intensität des Referenzsignals nicht auf Werte steigen kann, die über denen der eingewogenen Menge liegen.

Die Auswertung der Spektren ergibt sowohl für die ultraschallbehandelte als auch für die unbehandelte Xanthan-1-Probe um ca. 20 bzw. 5% niedrigere Werte von DMS als theoretisch erwartet. Damit wird vermutet, dass hier tatsächlich Mess- und Integrationsfehler ursächlich sind, aber keine Intensität des anomeren Protons und damit der gesamten Polymerkette verloren geht. Die per ^{1}H-NMR-Messung ermittelten Pyruvat- und Acetatgehalte stehen somit repräsentativ für die gesamte Kette und können als Vergleich zwischen den verschiedenen Xanthanproben dienen.

4.4.3. ^{13}C-, HSQC- und DOSY-NMR-Messungen von ultraschallbehandeltem Xanthan-1

^{13}C-NMR-Spektren unbehandelter Xanthane zeigen selbst bei 80 °C keinerlei Signale, da vermutlich sowohl die Polymerkonzentration als auch die Mobilität der Moleküle zu niedrig ist, um detektiert werden zu können. Nach erfolgter Ultraschallbehandlung sind jedoch aussagekräftige ^{13}C-NMR-Spektren zugänglich. Abbildung 13 zeigt das Spektrum von Xanthan-1. Zu erkennen sind Signale im Bereich von 80 bis 60 ppm, welche den Kohlenstoffatomen in den eigentlichen Kohlenhydratketten entsprechen. Des Weiteren sind die farblich markierten Signale der funktionellen Gruppen zu sehen, allen voran die der Carbonylgruppen der Acetat- und Pyruvateinheiten und der Glucuronsäure im Tieffeld des Spektrums, sowie die der Methylgruppen an Acetat- und Pyruvatgruppen im Hochfeld.

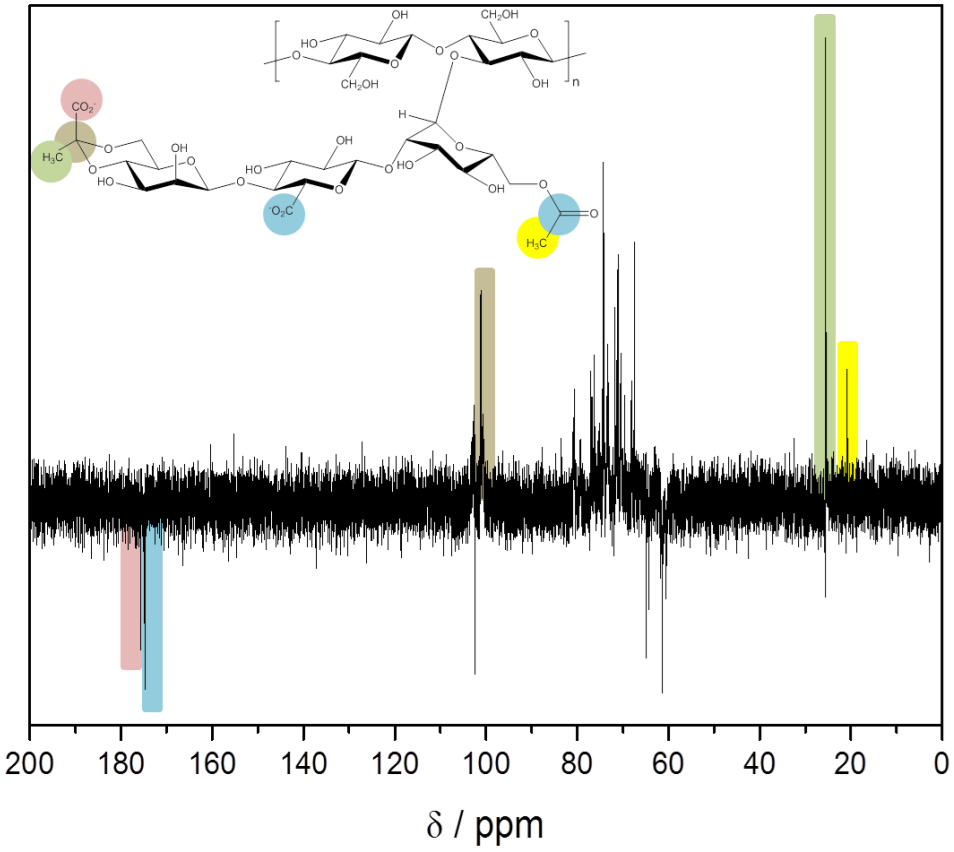

Abbildung 13: Primärstruktur von Xanthan sowie das ^{13}C-NMR-Spektrum von ultraschallbehandeltem Xanthan-1 bei 80 °C und 500 MHz in D_2O. Blau und rot markiert die Signale der Kohlenstoffatome an den Carboxygruppen, braun das Signal des α-C-Atoms der Pyruvatgruppe. Grün und gelb hinterlegt die Signale der Methylgruppen an Pyruvat- bzw. Acetatsubstituenten.

Das HSQC-(Heteronuclear Single Quantum Coherence) Spektrum (in Abbildung 14 für Xanthan-1 gezeigt) ist durch Korrelation der ^{1}H-Signale auf der Abszisse und der ^{13}C-Signale auf der Ordinate zugänglich.

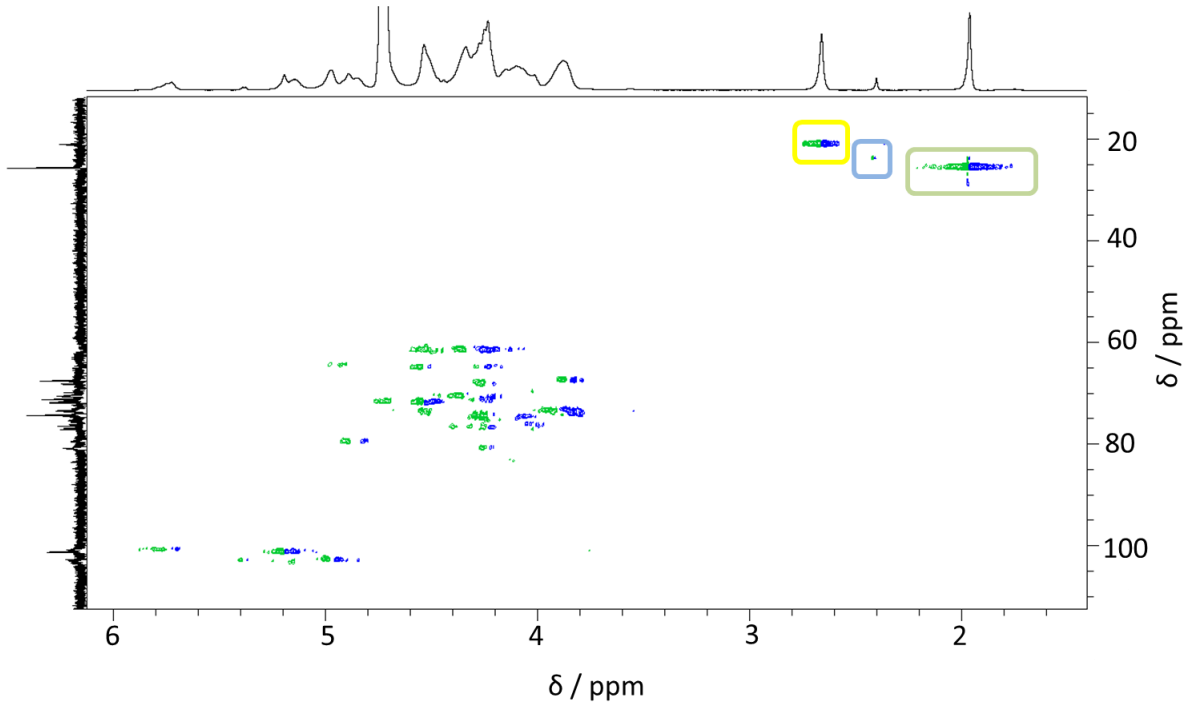

Abbildung 14: HSQC-Spektrum von ultraschallbehandeltem Xanthan-1 bei 80 °C und 500 MHz in D_2O. Gelb umrandet die Acetatsignale, grün die Pyruvatsignale und blau das Signal der Verunreinigung.

Die Signale der Acetat- und Pyruvatgruppen sind deutlich zu sehen, sie sind gelb bzw. grün umrandet. Auch das Signal der Verunreinigung ist zu erkennen (blau markiert). Da es bei ähnlicher Verschiebung wie die Acetat- und Pyruvatsignale auftritt, ist auch hier von einer Carbonyl- bzw. Carboxylgruppe auszugehen, was für Essigsäure oder Acetate spricht.

DOSY-(Diffusion Ordered Spectroscopy) Messungen wurden durchgeführt, um nicht chemisch oder physikalisch zusammenhängende, also nebeneinander vorliegende Moleküle nach ihrem Diffusionskoeffizienten aufzutrennen. In Abbildung 15 ist dies für nicht ultraschallbehandeltes Xanthan-1 zu sehen, in Abbildung 16 für die ultraschallbehandelte Probe, jeweils mit Zugabe des internen Standards DMS. Auf der oberen Achse ist das ^{1}H-NMR-Spektrum dargestellt, auf den seitlichen Achsen der Logarithmus des Selbstdiffusionskoeffizienten log(*D*).

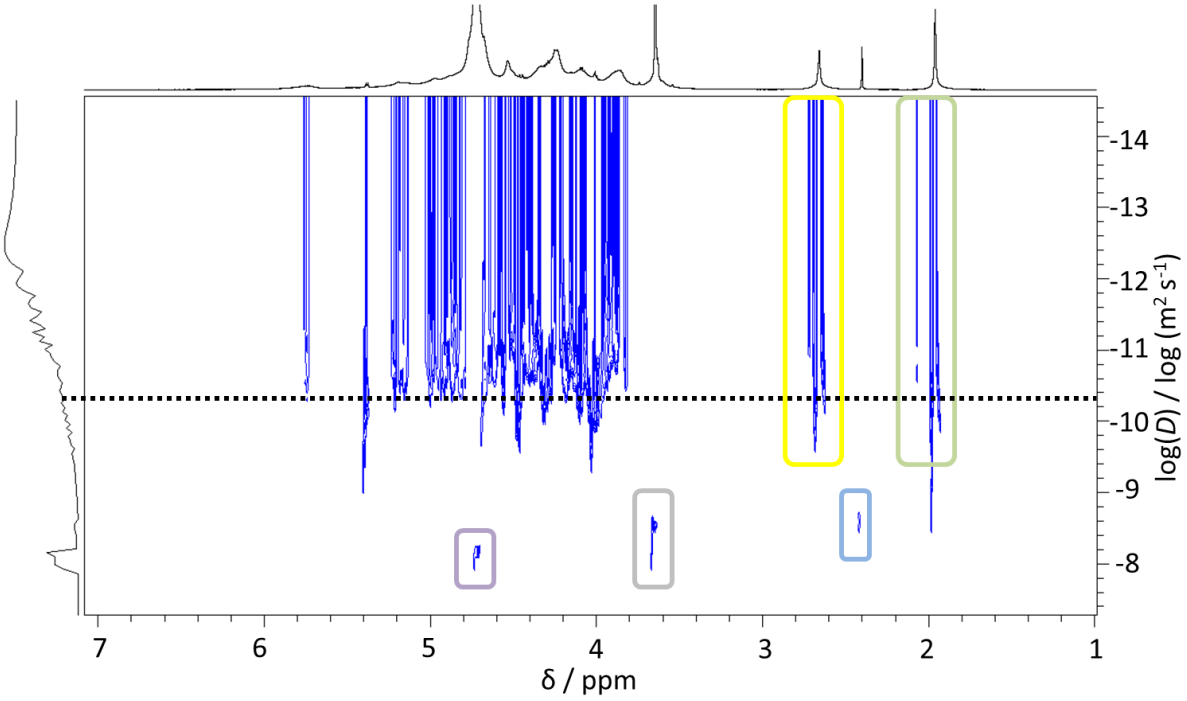

Abbildung 15: DOSY-Spektrum von nichtultraschallbehandeltem Xanthan-1 bei 80 °C und 700 MHz in D_2O. Lila umrandet das Signal des Lösungsmittels, grau das des internen Standards Dimethylsulfon (DMS), blau das der Verunreinigung, gelb die Acetat- und grün die Pyruvatsignale. Die gestrichelte Linie markiert den Diffusionskoeffizienten, bei dem die Signale der Kohlenhydrate zu sehen sind.

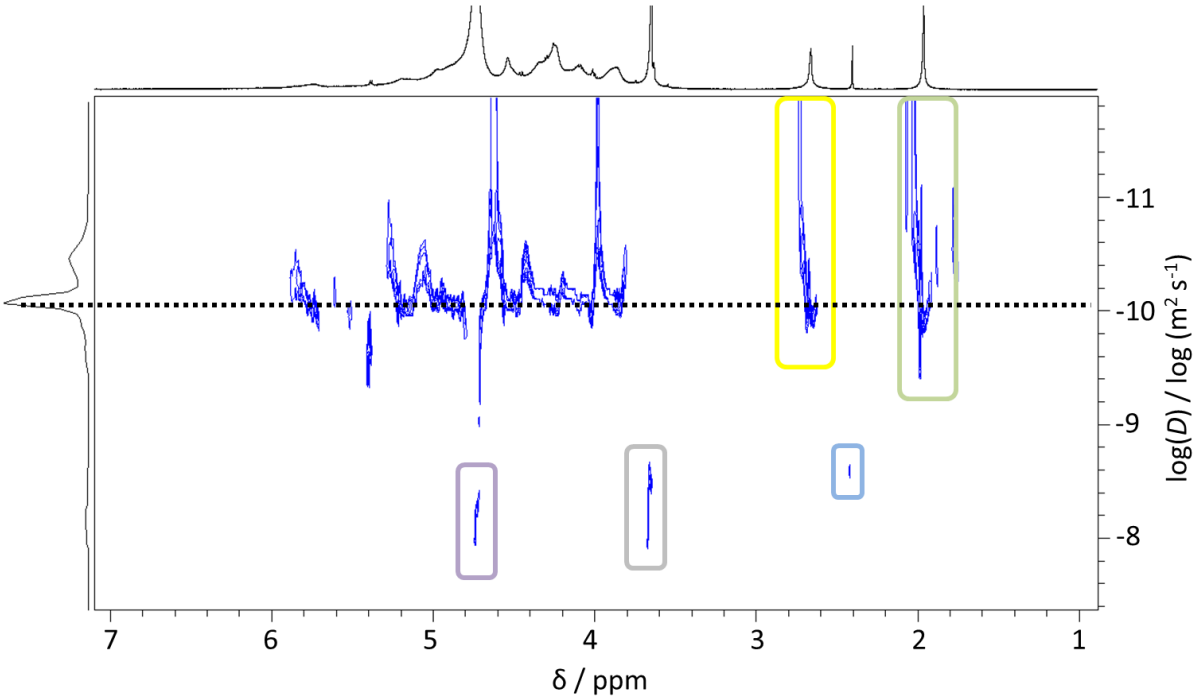

Abbildung 16: DOSY-Spektrum von ultraschallbehandeltem Xanthan-1 bei 80 °C und 700 MHz in D_2O. Lila umrandet das Signal des Lösungsmittels, grau das des internen Standards Dimethylsulfon (DMS), blau das der Verunreinigung, gelb die Acetat- und grün die Pyruvatsignale. Die gestrichelte Linie markiert den Diffusionskoeffizienten, bei dem die Signale der Kohlenhydrate zu sehen sind.

Das Signal des Lösungsmittels (lila markiert) sowie das des internen Standards (grau) treten bei vergleichsweise hohen Diffusionskoeffizienten auf, die sich unter Benutzung der Stokes-Einstein-Gleichung (Gleichung 18, Theorie) in hydrodynamische Radien von einigen Ångström umrechnen lassen, also kleinen Einzelmolekülen entsprechen. In ähnlicher Größenordnung liegt das Signal der Verunreinigung (blau umrandet), sodass auch hier von Essigsäure oder Acetaten ausgegangen werden kann. In Abbildung 15 ist bei niedrigeren Diffusionskoeffizienten um $4{,}7 \cdot 10^{-11}$ m^2/s (markiert durch die gestrichelte Linie) der Anfang der Polymersignale zu erkennen, die sich bis ans obere Ende des Spektrums durchziehen. Dieser Wert entspricht einem theoretischen hydrodynamischen Radius von 4,7 nm. Allerdings kann davon ausgegangen werden, dass dieser Wert nicht der tatsächlichen Größe der Teilchen entspricht. Wahrscheinlich handelt es sich um einzelne mobile Molekülteile, Randgruppen oder Fragmente, die innerhalb der hochviskosen Lösung eine bessere Beweglichkeit aufweisen oder sich so anordnen, dass ein scheinbarer Diffusionskoeffizient in dieser Größenordnung detektiert wird. Die Größe der hier zu analysierenden Polymere (Molekulargewichte > 1 Mio. g/mol) übersteigt also bei weitem die, die aussagekräftig in DOSY-Messungen ausgewertet werden kann. Das Spektrum der ultraschallbehandelten Probe in Abbildung 16 zeigt ein Maximum des Diffusionskoeffizienten bei $7{,}9 \cdot 10^{-11}$ m^2/s, was einem hydrodynamischen Radius von 3,3 nm entspricht. Auch dies ist selbst für fragmentierte Proben deutlich zu klein, sodass auch hier aus gleichen Gründen keine aussagekräftigen Radien angegeben werden können. Die Signale sind im Vergleich zu der nicht fragmentierten Probe jedoch deutlich schärfer und auf einen kleineren Bereich des Diffusionskoeffizienten beschränkt. Von einer höheren Mobilität der Fragmente kann daher ausgegangen werden. Für Xanthan-2, -3 und -4 ergeben sich analoge Bilder mit gleichem Verhalten und mit hydrodynamischen Radien in gleicher Größenordnung wie die von Xanthan-1.

4.5. Messung des Zetapotentials der vier Xanthanproben

Die Messung des Zetapotentials stellt eine Möglichkeit dar, die Oberflächenladung von Polymeren zu bestimmen. Die Xanthane wurden mit einer Konzentration von 1,9 g/L in 1 mM Kaliumchloridlösung gelöst. Die pH-Werte wurden dabei nicht extra eingestellt und lagen zwischen 6,4 und 6,7 (Abbildung 17). Wie für anionische Polyelektrolyte erwartet zeigen alle Xanthane negative Zetapotentiale und somit negative Oberflächenladungen. Deutlich zu sehen ist ein höheres (= weniger negatives) Zetapotential bei Xanthan-3 als bei den drei anderen Xanthanen. Es weist also eine niedrigere Oberflächenladung auf, was auf eine geringere Substitution mit Carboxygruppen hindeutet. Da der Glucuronsäuregehalt in Xanthanen als unveränderlich angenommen wird, muss der Unterschied in den Pyruvatgruppen begründet liegen. Somit bestätigen diese Messungen die ^{1}H-NMR-Untersuchungen, die ebenfalls auf einen geringeren Pyruvatgehalt bei Xanthan-3 als bei den anderen Xanthanen schließen lassen. Die etwas niedrigere Pyruvatsubstitution von Xanthan-2 aus den ^{1}H-NMR-Spektren kann hier nicht bestätigt werden. Da die Acetatgruppen keine Ladung tragen, lassen sich keine weiteren Aussagen diesbezüglich treffen.

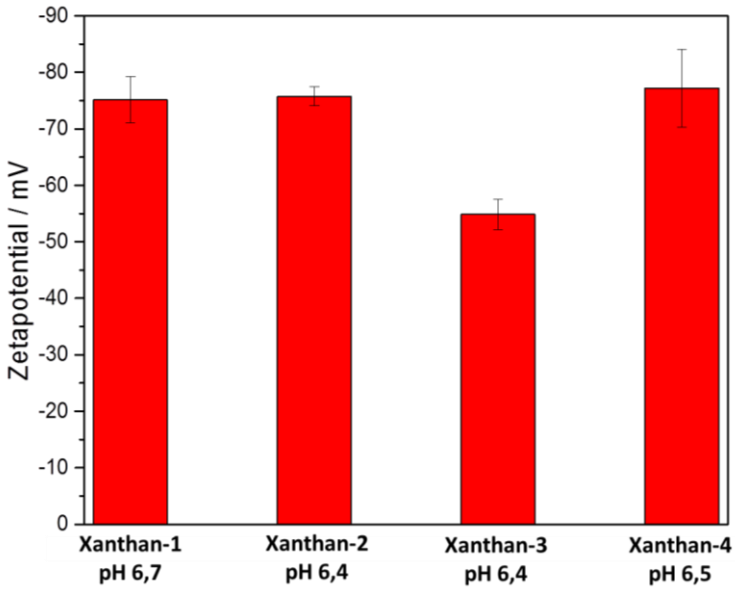

Abbildung 17: Zetapotential der verschiedenen Xanthanproben bei nicht eingestelltem pH-Wert in 1 mM KCl-Lösung.

4.6. Lichtstreuung in rein wässriger Lösung

Zur Untersuchung des Verhaltens in Wasser mussten zunächst die optimalen Bedingungen für die Lichtstreumessungen gefunden werden. Das Lösen der Xanthane erfolgte mindestens über eine Nacht in MilliQ-Wasser auf der Schüttelplatte. Dabei stieg die Viskosität mit zunehmender Xanthankonzentration deutlich an. Die Lösungen von Xanthan-1, -2 und -3 waren klar und farblos, die von Xanthan-4 schon bei geringen Polymerkonzentrationen ab ca. 0,3 g/L milchig trüb. Bei einer konstant gehaltenen Xanthankonzentration von 0,5 g/L wurde zunächst die Abhängigkeit der Untersuchungsergebnisse von Filtern unterschiedlicher Porengröße und verschiedenen Materials analysiert. Durch Dynamische Lichtstreumessungen (DLS) stellte sich der Filter 0,45 µm HA als am besten geeignet heraus. So konnten mit Filtern größerer Porengröße (5 µm LS) nicht genug stark streuende Anteile, also größere Partikel, entfernt werden. Unter Benutzung von Filtern kleinerer Porengröße (0,22 µm GS) wurde die Streuintensität hingegen zu stark abgesenkt, da sehr viele dieser größeren Partikel herausgefiltert wurden. Zwischen dem für organische und wässrige Proben geeigneten Filter 0,45 µm LCR und dem nur für wässrige Proben einsetzbaren 0,45 µm HA konnte kein Unterschied festgestellt werden, sodass der preiswertere Letztere ausgewählt wurde. Nach Filtration durch diesen Filter wurde die Abhängigkeit der DLS-Ergebnisse von der Polymerkonzentration untersucht. Es wurden Lösungen zwischen 0,05 und 1,5 g/L Xanthangehalt vermessen. Die niedrigste Konzentration lieferte zu geringe Streuintensitäten. Ausreichende Countrates wurden ab 0,1 g/L erreicht. Für die weiteren Messungen wurde eine Xanthankonzentration von 0,5 g/L festgelegt. Abbildung 18 zeigt die unter diesen Bedingungen über den CONTIN-Algorithmus erhaltenen Relaxationszeitenverteilungen $H(\ln \tau)$ der Messungen im Streuwinkel von 90° für alle vier Xanthane.

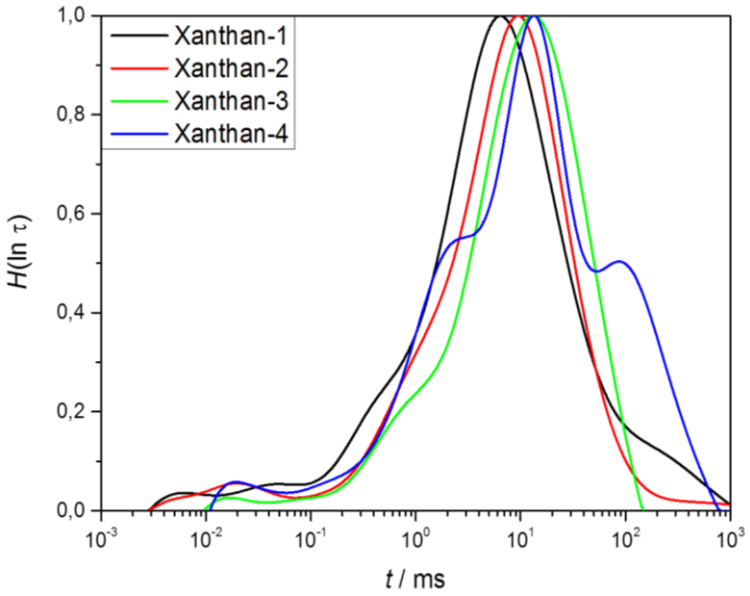

Abbildung 18: Über den CONTIN-Algorithmus bestimmte Relaxationszeitenverteilungen *H*(ln τ) der vier Xanthane in Wasser. Messung bei einem Streuwinkel von 90°, Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

Die Relaxationszeiten sind sehr breit verteilt und zeigen Hauptmaxima bei etwa 5 bis 10 ms, was gemäß der Stokes-Einstein-Gleichung (Gleichung 17) hydrodynamischen Radien von ca. 350 bis 750 nm entspricht. Die Verteilungen reichen auch bei den anderen Streuwinkeln in Bereiche hinein, die weit außerhalb der in der Lichtstreuung zugänglichen Größenordnung liegen und bis auf einige Mikrometer ansteigen. Signale unterhalb von einigen Nanometern (Relaxationszeiten kleiner als 0,1 ms) stellen genau wie die Signale über 100 ms Artefakte dar oder sind zumindest nicht repräsentativ für die Proben. Über einen Kumulanten-Fit der Autokorrelationsfunktionen können die PDI-Werte (Breite der Verteilung) bei einem Streuwinkel von 90° bestimmt werden. Sie liegen bei allen Proben zwischen 0,5 und 0,6 und bestätigen die sehr breite Verteilung. Statische Lichtstreuung zur Bestimmung von Molmassen oder Trägheitsradien ist unter diesen Bedingungen nicht aussagekräftig durchzuführen.

Die Kurven zeigen, dass alle Xanthane in rein wässriger Lösung eine starke Aggregationstendenz haben. Es bilden sich stark streuende Partikel aus mehreren Einzelmolekülen, die eine weitere Auswertung sehr erschweren. Da diese Aggregate aufgrund ihrer Größe selbst in sehr geringen Konzentrationen die Streuintensität extrem erhöhen, lässt sich keine Aussage treffen, ob oder wie viele Einzelmoleküle neben den Aggregaten in der Lösung vorliegen. So ist eine Extrapolation der aus den Relaxationszeiten berechneten Diffusionskoeffizienten auf $q \rightarrow 0$ und damit die Bestimmung eines aussagekräftigen hydrodynamischen Radius nicht möglich. Die Aggregate treten auch nach dem Filtrieren auf. Es kann davon ausgegangen werden, dass sich die Aggregate entweder durch den Druckanstieg beim Filtrieren auflösen und in der Küvette neu bilden, oder dass das Entfernen der Aggregate analog einer Gleichgewichtsreaktion zum Nachliefern dieser aus Einzelmolekülen führt.

Temperaturabhängige Messungen aller Xanthane in Wasser wurden in Konzentrationen von 0,5 und 1,0 g/L durchgeführt, um den Einfluss der Temperatur auf die Aggregation zu untersuchen. Unabhängig von der Konzentration konnten keine Änderungen des Aggregationsverhaltens der Xanthane im Bereich zwischen 20 und 60 °C festgestellt werden.

4.7. Lichtstreuung in Lösung verschiedener Salze

Durch Salzzugabe zu der wässrigen Xanthanlösung soll eine Abschirmung der geladenen Gruppen erreicht werden. Dadurch wird gemäß dem Polyelektrolyteffekt (siehe Kapitel 2.2) die Viskosität erniedrigt und flexibleres Verhalten beobachtet. Aggregate sollen aufgebrochen und Messungen von Einzelmolekülen ermöglicht werden. Das Lösen der Xanthane direkt in der Salzlösung war nur für sehr niedrige Salzkonzentrationen möglich. Bei Konzentrationen von über 0,01 mol/L waren die Proben auch nach mehreren Tagen bei erhöhter Temperatur nicht vollständig löslich. Ein ähnliches Verhalten wurde auch von Berth *et al*. beobachtet.[26] Die Proben wurden daher erst in Wasser gelöst und anschließend durch Zugabe einer 2 molaren Salzlösung auf die gewünschte Polymer- und Salzkonzentration verdünnt.

4.7.1. Bestimmung der hydrodynamischen Radien und PDIs in verschiedenen Salzlösungen durch dynamische Lichtstreuung

DLS-Messungen wurden in vier verschiedenen Salzlösungen zu jeweils 0,1 mol/L durchgeführt. Die Polymerkonzentration wurde mit 0,5 g/L beibehalten, genauso der Filter 0,45 µm HA. Neben Natriumchlorid (NaCl) wurden Natriumnitrat ($NaNO_3$) und Kaliumchlorid (KCl) verwendet, um den Einfluss verschiedener Anionen und Kationen zu untersuchen, sowie Calciumchlorid ($CaCl_2$) zur Analyse der Eigenschaften bei zweiwertigen Salzen. Beispielhaft sind in Abbildung 19 die Autokorrelationsfunktionen $C(q,t)$ der Messungen im Streuwinkel von 90° von Xanthan-1 in den verschiedenen Lösungsmitteln gezeigt.

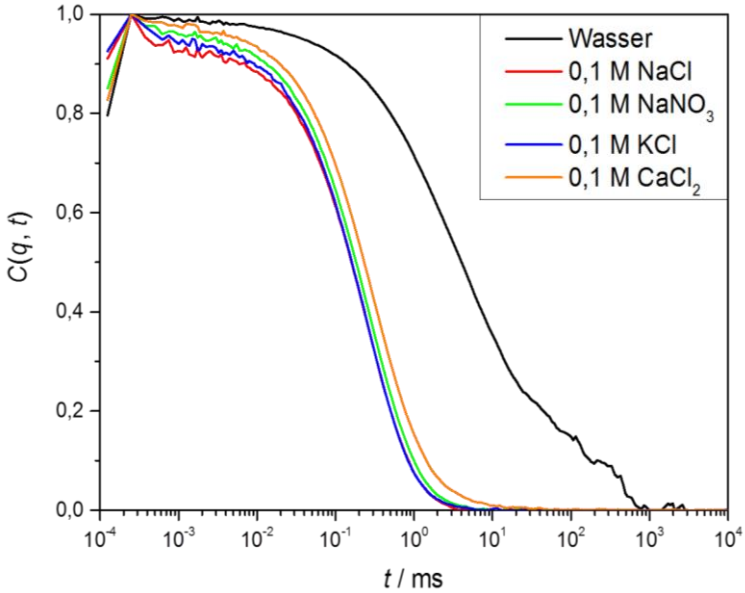

Abbildung 19: Normierte Autokorrelationsfunktionen *C*(*q*, *t*) von Xanthan-1 in verschiedenen Lösungsmitteln. Messung bei einem Streuwinkel von 90°, Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

Gut zu erkennen ist die erst bei größeren Relaxationszeiten flacher abfallende Funktion der rein wässrigen Lösung, die in starkem Rauschen ausläuft. Dies ist ein typischer Verlauf beim Vorliegen von Aggregaten. Die Funktionen in Salzlösung fallen schneller ab, was für deutlich kleinere Teilchen spricht. Die resultierenden Relaxationszeitenverteilungen sind in Abbildung 20 aufgetragen.

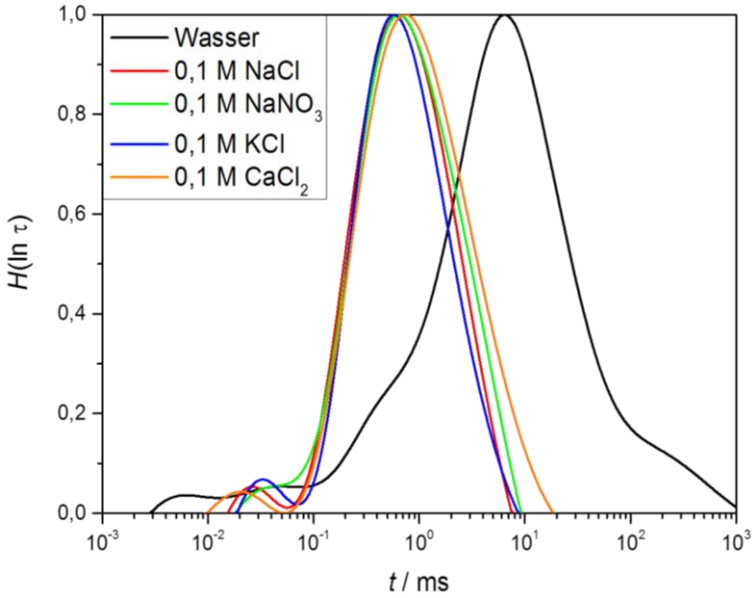

Abbildung 20: Über den CONTIN-Algorithmus bestimmte Relaxationszeitenverteilungen *H*(ln τ) von Xanthan-1 in verschiedenen Lösungsmitteln. Messung bei einem Streuwinkel von 90°, Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

Auch hier sind die zu kleineren Relaxationszeiten und damit kleineren Radien verschobenen Kurven in Salzlösung zu sehen. Die Funktionen sind weiterhin breit verteilt, jedoch schmaler als die in Wasser. Nebenmaxima oder Schultern treten nicht auf, einzig zwischen 0,01 und 0,1 ms (ca. 0,7–8 nm) sind Signale zu sehen, welche reproduzierbar auch bei den anderen Xanthanen auftreten. Hierbei handelt es sich wie oben bereits erwähnt entweder um Artefakte oder tatsächlich um kleine Moleküle. Diese müssten in sehr hoher Konzentration vorliegen, um überhaupt detektiert werden zu können, da die Streuintensität größerer Teilchen überproportional ansteigt.

Die Relaxationszeiten dieser kleineren und enger verteilten Spezies können nun in Abklingraten umgerechnet werden. Daraus ergeben sich für jeden Winkel die Diffusionskoeffizienten (siehe Gleichung 16, Theorie), die – wie in Abbildung 21 beispielhaft für Xanthan-1 in KCl-Lösung gezeigt – auf $q^2 \rightarrow 0$ extrapoliert werden und in den hydrodynamischen Radius umgerechnet werden können (Gleichung 18). Es ergeben sich die in Tabelle 2 aufgelisteten Werte.

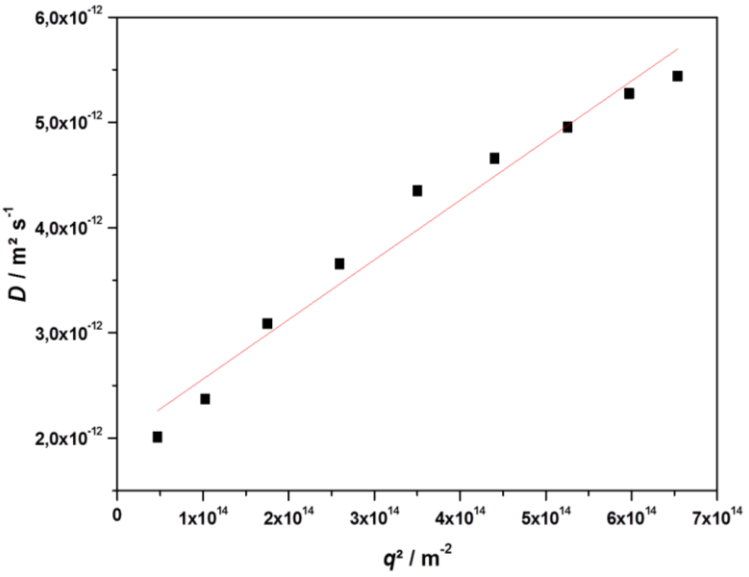

Abbildung 21: Auftragung der q^2-abhängigen Selbstdiffusionskoeffizienten *D* von Xanthan-1 in 0,1 M KCl-Lösung mit der Fitgeraden zur Extrapolation auf den Diffusionskoeffizienten bei $q^2 \rightarrow 0$.

Tabelle 2: Extrapolierte hydrodynamische Radien R_h der vier Xanthane in verschiedenen Salzlösungen.

	R_h / nm			
	0,1 M NaCl	**0,1 M $NaNO_3$**	**0,1 M KCl**	**0,1 M $CaCl_2$**
Xanthan-1	116 ± 8	150 ± 40	116 ± 8	198 ± 30
Xanthan-2	108 ± 7	109 ± 10	113 ± 16	213 ± 34
Xanthan-3	63 ± 1	64 ± 1	58 ± 4	85 ± 11
Xanthan-4	135 ± 10	126 ± 4	121 ± 11	146 ± 23

Für alle Xanthane zeigt sich, dass die Radien in NaCl-, $NaNO_3$- und KCl-Lösung innerhalb des Fehlerbereichs übereinstimmen. Ein Unterschied zwischen verschiedenen einwertigen Salzen kann also nicht gefunden werden. Calcium als zweiwertiges Kation führt jedoch bei allen Xanthanen zu weit größeren Radien. Im Vergleich fällt auf, dass Xanthan-3 um etwa die Hälfte kleinere Radien liefert als die anderen Xanthane. Xanthan-4 scheint bei den einwertigen Salzen in geringem Maße größer zu sein als Xanthan-1 und -2, in Calciumlösung jedoch deutlich kleiner.

Allgemein sind die Radien im Vergleich zu anderen Polymeren in guten Lösungsmitteln sehr hoch. Polystyrol (PS) als lineares Polymer mit einem Molekulargewicht von $1 \cdot 10^6$ g/mol weist in Tetrahydrofuran (THF) erfahrungsgemäß einen hydrodynamischen Radius von etwa 25 nm auf. Bei den Xanthanen handelt es sich demnach entweder um Komplexe aus mehreren Molekülen oder um sehr expandierte und eher unflexible Moleküle mit einer großen Hydrathülle, wie es für Polyelektrolyte in wässriger Lösung zu erwarten ist. PS liegt in THF knäuelartig vor, was für Xanthane aufgrund der Polyelektrolytstruktur bezweifelt werden kann. Stellt sich die Form eher als unflexibel oder gar helikal dar, lässt der berechnete hydrodynamische Radius auch nur eine grobe Abschätzung über die Größe zu, da er sich auf eine zum Knäuel äquivalente Form bezieht.

Die PDIs der 90°-Messungen (Tabelle 3) liegen in Wasser mit Werten zwischen 0,510 und 0,537 für alle Xanthane sehr hoch. In Salzlösung ist eine Abnahme festzustellen, auch wenn die absoluten Werte immer noch eine sehr breite Verteilung zeigen. Die PDIs in den einwertigen Salzlösungen liegen etwas niedriger als in $CaCl_2$-Lösung. Zwischen Xanthan-1, -2 und -4 sind kaum Unterschiede zu erkennen, die PDIs für Xanthan-3 sind in allen Lösungsmitteln etwas niedriger.

Tabelle 3: Polydispersitäten (PDI) der Messungen bei einem Streuwinkel von 90° aus einem Kumulanten-Fit für alle vier Xanthane in Wasser und den verschiedenen Salzlösungen.

	PDI				
	Wasser	**0,1 M NaCl**	**0,1 M $NaNO_3$**	**0,1 M KCl**	**0,1 M $CaCl_2$**
Xanthan-1	0,523 ± 0,011	0,444 ± 0,008	0,462 ± 0,008	0,437 ± 0,006	0,488 ± 0,013
Xanthan-2	0,537 ± 0,011	0,443 ± 0,005	0,442 ± 0,007	0,444 ± 0,003	0,474 ± 0,011
Xanthan-3	0,510 ± 0,010	0,378 ± 0,008	0,380 ± 0,008	0,385 ± 0,002	0,414 ± 0,020
Xanthan-4	0,520 ± 0,010	0,453 ± 0,007	0,452 ± 0,008	0,451 ± 0,007	0,465 ± 0,024

Anhand der ermittelten Radien und PDIs sowie der Form der Relaxationszeitenverteilungen lässt sich bestätigen, dass es in Salzlösung nicht zur Aggregation zu sehr großen Partikeln kommt, zumindest nicht in größerem Maße wie in rein wässriger Lösung. So scheinen die Kationen die negativ geladenen Carboxygruppen in den Polymerketten abzuschirmen und das Aufbrechen der Aggregate zu ermöglichen. Nicht auszuschließen ist, dass weiterhin kleinere Aggregate – zu denen auch beispielsweise Helices aus zwei oder mehr Einzelmolekülen zählen – vorliegen. Die ermittelten Werte, auch die in den folgenden Kapiteln, beziehen sich somit immer auf diese durch Salzzugabe erhaltenen, kleinstmöglichen Einheiten, die in Lösung vorliegen, auch wenn es im eigentlichen Wortsinn möglicherweise keine Einzelmoleküle sind.

4.7.2. Bestimmung der apparenten Molekulargewichte über statische Lichtstreuung

Statische Lichtstreumessungen (SLS) in rein wässriger Lösung sind aufgrund der sehr breiten Größenverteilung und der Aggregation nicht aussagekräftig auszuwerten. In Salzlösung hingegen sind Messungen möglich, die Rückschlüsse auf die Form, Flexibilität, Größe und Molmasse der Xanthane zulassen. Die breite Verteilung ermöglicht zwar nur relativ ungenaue Werte mit einem großen Fehlerbereich. Zum Vergleich der einzelnen Proben in den verschiedenen Lösungsmitteln sind sie jedoch geeignet.

Zur Ermittlung der Molekulargewichte der einzelnen Proben nach dem Zimm-Verfahren gemäß Gleichung (14) wird eine Konzentrationsreihe mit verschiedenen Xanthankonzentrationen benötigt. Als Lösungsmittel wurde 0,1 M $NaNO_3$-Lösung gewählt, da darin auch die GPC-Messungen durchgeführt wurden. Zunächst müssen die Brechungsindexinkremente bestimmt werden, da die Streuintensität proportional zu deren Quadrat ist (siehe Gleichung 8). Darüber hinaus wurden die Brechungsindexinkremente auch in Wasser bestimmt.

4.7.2.1. Messung der Brechungsindexinkremente

Für alle Xanthane wurden Reihen mit Polymerkonzentrationen zwischen 0,1 und 1,9 g/L in Wasser und 0,1 molarer $NaNO_3$-Lösung hergestellt. Die im Michelson-Interferometer gemessenen Werte der Phasenverschiebung sind proportional zum Brechungsindex d*n*. Durch Auftragung gegen die Konzentration ergibt sich das Brechungsindexinkrement d*n*/d*c* aus der Fitgeraden (in Abbildung 22 beispielhaft für Xanthan-1 in Wasser gezeigt). Die ermittelten Werte sind in Tabelle 4 aufgelistet.

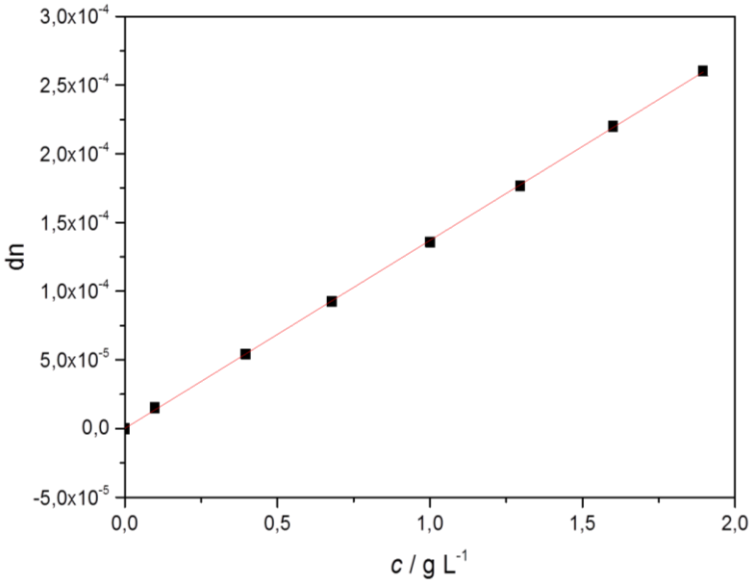

Abbildung 22: Änderung des Brechungsindex d*n* in Abhängigkeit von der Konzentration *c* zur Ermittlung des Brechungsindexinkrements d*n*/d*c* für Xanthan-1 in Wasser.

Tabelle 4: Brechungsindexinkremente in Wasser und 0,1 M $NaNO_3$-Lösung der verschiedenen Xanthane.

	d*n* d*c*$^{-1}$ / mL g^{-1}	
	Wasser	**0,1 M $NaNO_3$**
Xanthan-1	0,1404	0,1368
Xanthan-2	0,1430	0,1380
Xanthan-3	0,1359	0,1385
Xanthan-4	0,1335	0,1349

Die Werte liegen alle im ähnlichen Bereich, ein Trend in Wasser oder Salzlösung ist nicht festzustellen. Im Vergleich zu den Literaturwerten von 0,144 mL/g[17, 25] und 0,1420 mL/g[27] sind die meisten der hier ermittelten Werte etwas niedriger, aber in der gleichen, für Kohlenhydrate zu erwartenden, Größenordnung.

4.7.2.2. Bestimmung des apparenten Molekulargewichtes

SLS-Messungen wurden für die Xanthane in Konzentrationen zwischen 0,1 und 1,9 g/L in 0,1 M $NaNO_3$-Lösung durchgeführt. Der Brechungsindex des Lösungsmittels, die tatsächliche Konzentration sowie das jeweilige Brechungsindexinkrement wurden angegeben und die jeweils erhaltenen Kurven in einer Zimm-Auftragung zusammengefasst. Die Auswertung ist beispielhaft für Xanthan-4 im Folgenden gezeigt und erfolgte für die weiteren Xanthane analog. Zur Extrapolation der gemessenen winkelabhängigen Intensitäten auf $q^2 \rightarrow 0$ wurden die Punkte mit einer Fitgeraden angenähert (Abbildung 23).

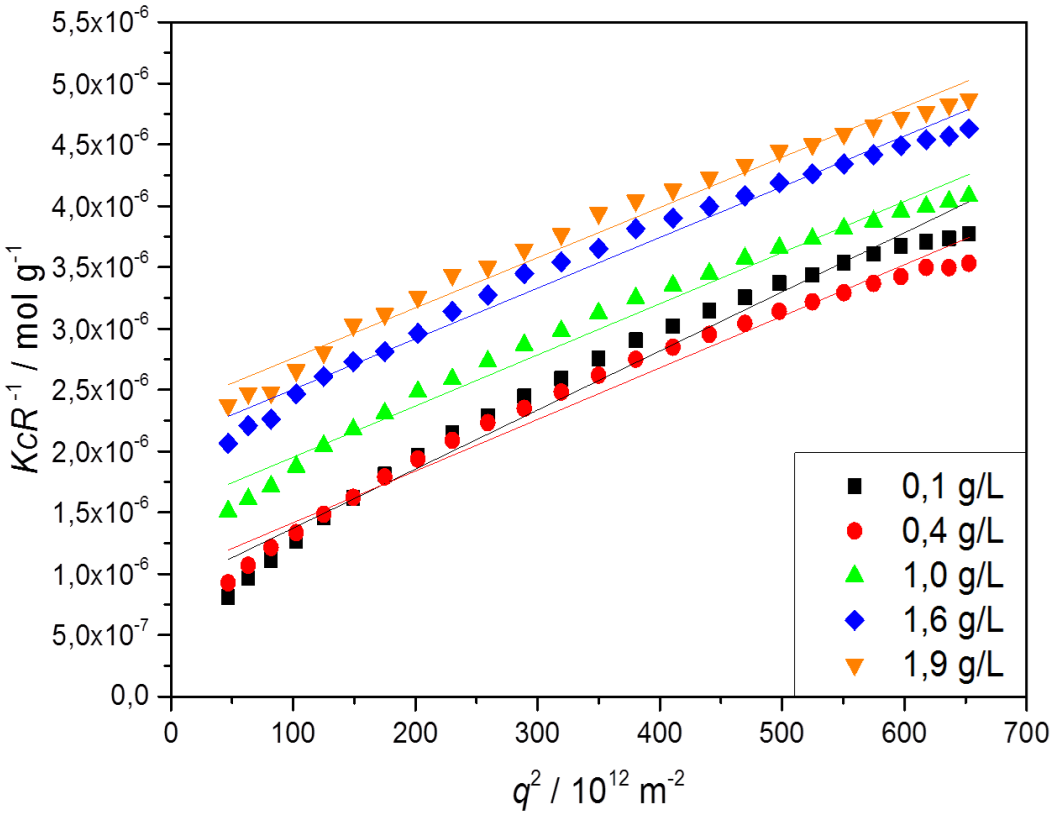

Abbildung 23: Zimm-Auftragung von Xanthan-4 für verschiedene Polymerkonzentrationen in 0,1 M $NaNO_3$ mit den jeweiligen Fitgeraden zur Extrapolation der Streuintensitäten auf q^2 = 0. Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

In Abbildung 23 ist zu erkennen, dass mit zunehmender Xanthankonzentration die Kurven zu höheren Streuintensitäten verschoben sind. Der Ordinatenabschnitt der Fitgeraden, als Kc/R_0 bezeichnet, entspricht dem Kehrwert des apparenten Molekulargewichtes beim Winkel von $q \rightarrow 0$ gemäß Gleichung (10) für die jeweilige Konzentration. Mit steigender Polymerkonzentration sinkt also das apparente Molekulargewicht. Die Extrapolation dieser Werte auf $c \rightarrow 0$ ist in Abbildung 24 a) gezeigt. Der Kehrwert des *y*-Achsenabschnitts entspricht nun dem Gewichtsmittel des Molekulargewichtes für $q \rightarrow 0$ und $c \rightarrow 0$. Die Ergebnisse sind für alle Xanthane in Tabelle 5 aufgeführt.

Anhand Gleichung (14) ist zu sehen, dass aus der Steigung der Fitgeraden der Trägheitsradius R_g der Proben zu berechnen ist. Alle in Abbildung 23 gezeigten Kurven sowie die Kurven der anderen Xanthane weisen eine zu großen Winkeln flacher werdende Steigung auf. Dies ist auf die breite Größen- und Molmassenverteilung der Proben zurückzuführen. Die große Steigung deutet auf das

Vorliegen von größeren Spezies hin, die vor allem bei kleinen Winkeln die Streuintensität beeinflussen. Die flachere Steigung bei größerem q^2 resultiert aus dem Einfluss kleinerer Teilchen, die eher bei größeren Winkeln streuen.[45] Für eng verteilte, monodisperse Proben wäre eine gleich bleibende Steigung über den gesamten q-Bereich zu erwarten. Eine Einbeziehung aller Winkel in die Fitgerade führt zu einer Mittelung über die gesamte Breite der Verteilung und zu einem relativ großen Fehlerbereich sowohl in der Molmasse als auch dem Trägheitsradius. Die Auftragung der Radien gegen die Konzentration (Abbildung 24 b) zeigt kleinere Radien mit zunehmender Xanthankonzentration. Auch hier kann eine Extrapolation auf $c \rightarrow 0$ durchgeführt werden, die Ergebnisse sind ebenfalls in Tabelle 5 gezeigt.

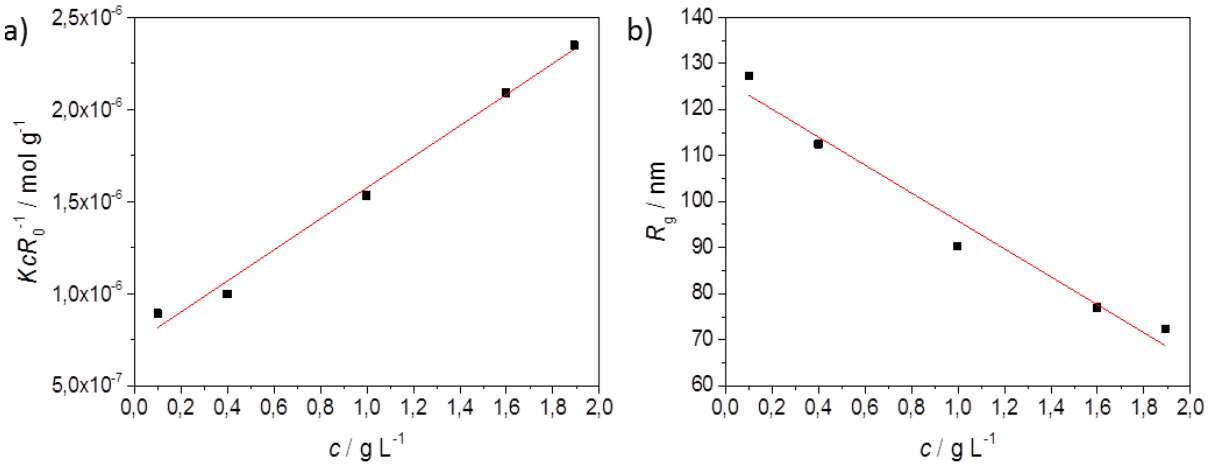

Abbildung 24: a) Auftragung der auf $q^2 \rightarrow 0$ extrapolierten Werte der Streuintensität bei verschiedenen Konzentrationen aus Abbildung 23 mit der Fitgeraden zur Extrapolation auf $c \rightarrow 0$. b) Auftragung der aus den Steigungen der Fitgeraden aus Abbildung 23 berechneten Trägheitsradien R_g mit der Fitgeraden zur Extrapolation auf $c \rightarrow 0$.

Tabelle 5: Auf $q \rightarrow 0$ und $c \rightarrow 0$ extrapolierte apparente Molekulargewichte M_w und Trägheitsradien R_g aus den Statikmessungen für alle Xanthane in 0,1 M $NaNO_3$-Lösung.

	M_w / g mol^{-1}	R_g / nm
Xanthan-1	$1{,}35 \cdot 10^6$	128
Xanthan-2	$1{,}68 \cdot 10^6$	147
Xanthan-3	$1{,}08 \cdot 10^6$	103
Xanthan-4	$1{,}37 \cdot 10^6$	126

Die Ergebnisse sind aufgrund der breiten Verteilung fehlerbehaftet und geben nur ungefähre Werte an. Die Radien und Molmassen sind konsistent, je größer die Molmasse, desto größer der Radius. Xanthan-3 zeigt eine Molmasse von knapp über 1 Mio. g/mol mit Radien von ca. 100 nm, Xanthan-1 und -4 scheinen gleich groß zu sein und zeigen etwas höhere Werte als Xanthan-3, Xanthan-2 weist ca. 50% größere Molmassen und Radien als Xanthan-3 und somit die höchsten Werte auf. Im Vergleich zu den GPC-Untersuchungen zeigen sich gute Übereinstimmungen. Dort wurden Molekulargewichte von über 1,2 Mio. g/mol geschlussfolgert. Die hier ermittelten Werte liegen in der erwarteten Größenordnung. Trotz der Extrapolation auf $q \rightarrow 0$ und $c \rightarrow 0$ werden die Molekulargewichte als apparent bezeichnet. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass anstelle von Einzelmolekülen eventuell vorliegende Aggregate oder Komplexe aus mehreren Einzelketten vermessen wurden.

4.7.3. Bestimmung der Trägheitsradien in verschiedenen Salzlösungen über statische Lichtstreuung

Analog zu den oben gezeigten Statikmessungen zur Bestimmung der Molmassen und Trägheitsradien in 0,1 molarer $NaNO_3$-Lösung wurden weitere SLS-Messungen durchgeführt, um bei einer festen Polymerkonzentration von 0,5 g/L Vergleiche der Radien zwischen verschiedenen 0,1 molaren Salzlösungen zu erhalten. Die Zimm-Auftragungen der Streuintensitäten gegen q^2 sind in Abbildung 25 für die einzelnen Salze und jedes der vier Xanthane gezeigt.

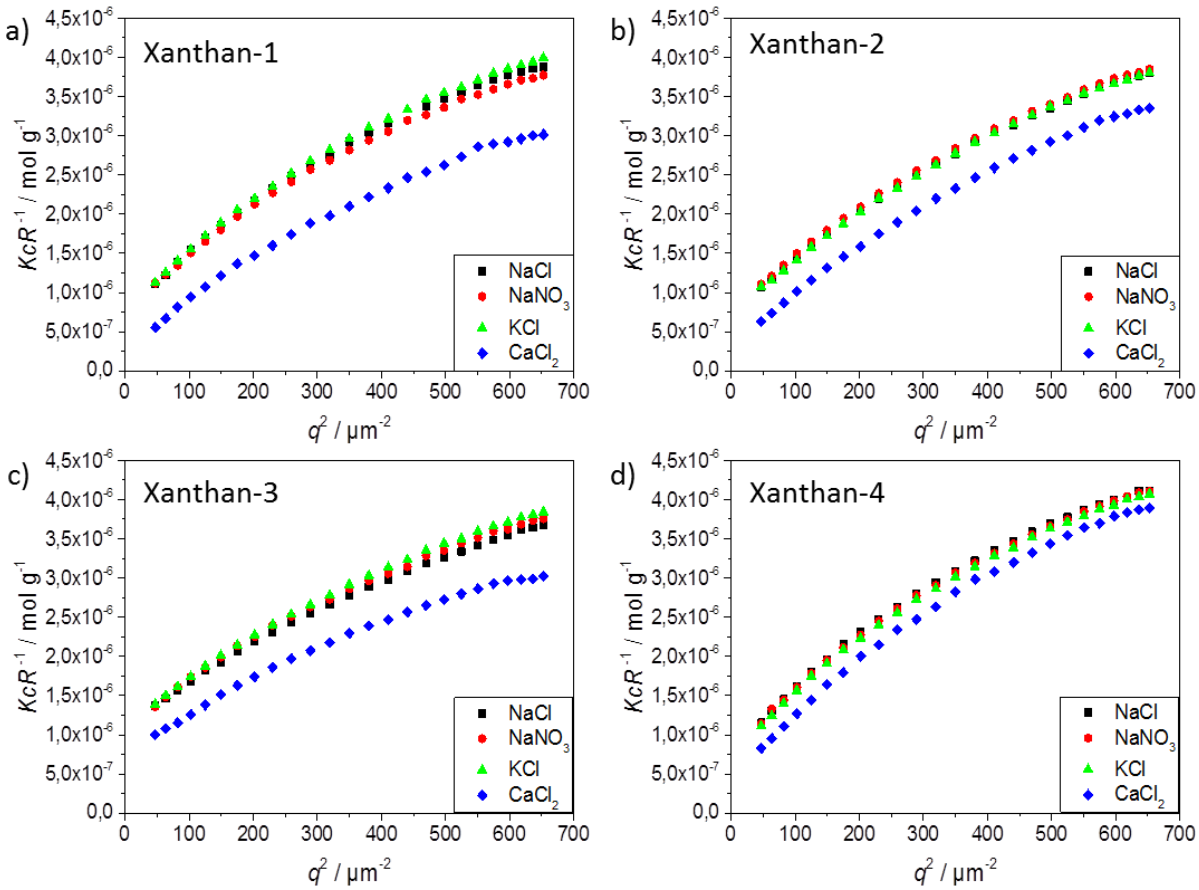

Abbildung 25: Zimm-Auftragungen für a) Xanthan-1, b) Xanthan-2, c) Xanthan-3 und d) Xanthan-4, jeweils in 0,1 molarer Lösung verschiedener Salze. Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

In den Zimm-Auftragungen ist bei allen Xanthanen der gleiche Trend zu erkennen. Die einwertigen Salze NaCl, $NaNO_3$ und KCl weisen kaum Unterschiede auf, sowohl die Intensitäten als auch die Steigungen sind sehr ähnlich. Einzig das zweiwertige Salz $CaCl_2$ zeigt geringere Streuintensitäten. Der flacher werdende Verlauf der Kurven ist, wie oben bereits erwähnt, auf die hohe Polydispersität der Proben zurückzuführen. Im Unterschied zu der Auswertung im vorigen Kapitel wird zur Berechnung der Trägheitsradien hier nur die Anfangssteigung der ersten Winkel verwendet. Bei polydispersen Proben ist dies üblich, da die Steigung weniger stark von der breiten Verteilung abhängt. Zu beachten ist, dass beide Möglichkeiten der Auswertung, über den gesamten oder aber nur über den Anfangsbereich der Kurven, fehlerbehaftet sind und die tatsächlichen Radien abweichen können.

Tabelle 6 zeigt die gemittelten Ergebnisse aus zwei unabhängigen Messungen. Die angegebenen Fehlerbereiche entsprechen hier nur der Standardabweichung bei der Mittelwertbildung und können nicht genauer bestimmt werden.

Tabelle 6: Trägheitsradien R_g, ermittelt aus den Anfangssteigungen der Fitgeraden aus den Zimm-Auftragungen aus Abbildung 25 für die vier verschiedenen Xanthane, jeweils in verschiedenen Salzlösungen.

	R_g / nm			
	0,1 M NaCl	**0,1 M $NaNO_3$**	**0,1 M KCl**	**0,1 M $CaCl_2$**
Xanthan-1	172 ± 1	176 ± 30	161 ± 6	251 ± 13
Xanthan-2	158 ± 6	159 ± 1	159 ± 4	239 ± 4
Xanthan-3	109 ± 16	126 ± 6	124 ± 6	139 ± 1
Xanthan-4	167 ± 4	166 ± 5	170 ± 5	232 ± 6

Bei den erhaltenen Trägheitsradien zeigt sich das gleiche Bild wie bei den zuvor bestimmten hydrodynamischen Radien. Die Werte der einwertigen Salze sind sehr ähnlich, in $CaCl_2$-Lösung steigen die Radien deutlich an. Xanthan-3 weist auch hier insgesamt geringere Radien auf. Die Zunahme beim Calciumsalz ist nicht so deutlich wie bei den anderen Xanthanen. Zur besseren Vergleichbarkeit sind die Werte in Abbildung 26 gegenübergestellt. Zu beachten ist die abweichende Skalierung bei Xanthan-3. Im Vergleich zu den hydrodynamischen Radien liegen die Trägheitsradien bei allen Xanthanen und allen Salzen etwas höher.

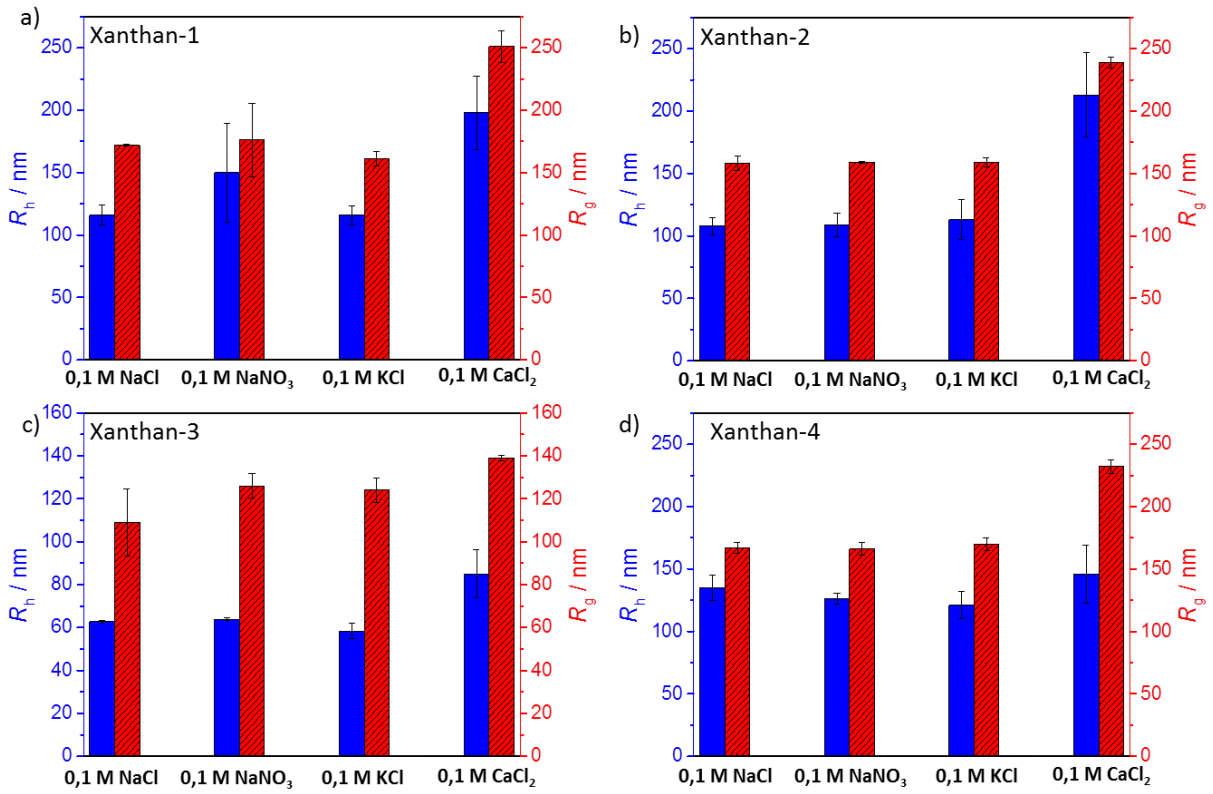

Abbildung 26: Vergleich der hydrodynamischen Radien (blau) und Trägheitsradien (rot schraffiert) aus Tabelle 2 und Tabelle 6 von a) Xanthan-1, b) Xanthan-2, c) Xanthan-3 und d) Xanthan-4 in verschiedenen Salzlösungen.

4.7.4. Berechnung der Strukturparameter ρ

Der Strukturparameter ρ entspricht dem Quotienten aus Trägheits- und hydrodynamischem Radius (Gleichung 20). Die aus den in Tabelle 2 und Tabelle 6 aufgelisteten Radien berechneten Strukturparameter sind für alle Xanthane und alle Salze in Tabelle 7 aufgelistet.

Tabelle 7: Strukturparameter ρ für alle Xanthane und alle Salze.

	ρ			
	0,1 M NaCl	**0,1 M $NaNO_3$**	**0,1 M KCl**	**0,1 M $CaCl_2$**
Xanthan-1	1,48	1,17	1,39	1,27
Xanthan-2	1,46	1,46	1,41	1,12
Xanthan-3	1,74	1,97	2,12	1,64
Xanthan-4	1,24	1,32	1,40	1,59

Alle Werte liegen im Bereich zwischen 1,17 und 2,12. Der Rückschluss auf eine genaue Form ist aufgrund der großen Fehlerbereiche beider Radien nicht möglich, auch wenn diese Werte grob denen eines Knäuels (ρ = 1,5) bzw. denen eines Ellipsoides (ρ = 0,775–4) entsprechen. Ein Vergleich untereinander zeigt keine eindeutige Abhängigkeit von der Wertigkeit des Salzes. Xanthan-1, -2 und -4 zeigen ähnliche Werte, nur Xanthan-3 liefert für alle Salze größere Strukturparameter als die anderen Xanthane. Dies deutet auf einen Unterschied in der Form in Lösung hin. Genauer beschreiben lässt sich dieser anhand der Werte jedoch nicht.

4.7.5. Analyse der Kettensteifheit der Xanthane in verschiedenen Salzlösungen mithilfe von Holtzer-Auftragungen

Die Auftragung der aus den Statikmessungen erhaltenen Intensitäten in der Form qR/Kc gegen q (Holtzer-Plot) ermöglicht Aussagen über die Kettensteifheit der untersuchten Polymere (siehe schematische Darstellung für verschiedene Kettenformen in Abbildung 6). Die resultierenden Graphen der unterschiedlichen Xanthanproben sind in Abbildung 27 bis Abbildung 30 für die einwertigen Salze gezeigt, in Abbildung 31 für die vier Xanthane in $CaCl_2$-Lösung. Letztere wurden getrennt von den einwertigen Salzen aufgetragen, da sich die Skalierung unterscheidet.

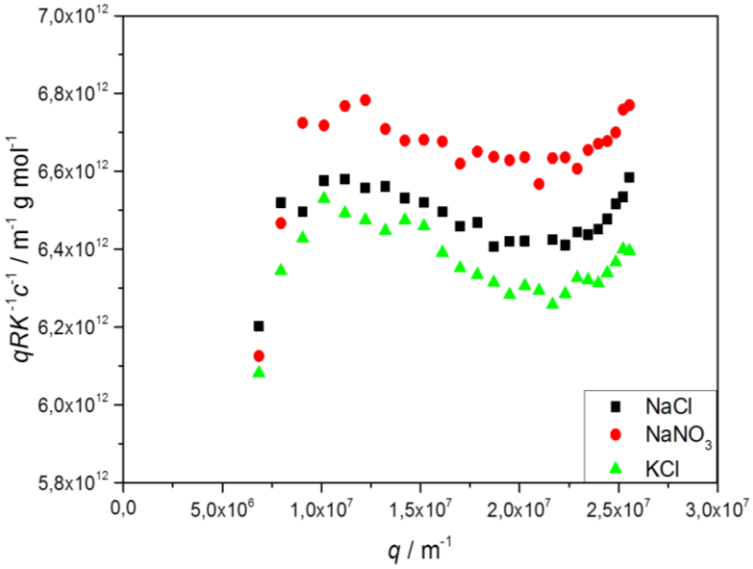

Abbildung 27: Holtzer-Auftragung von Xanthan-1 in verschiedenen 0,1 M Salzlösungen.

Der Holtzer-Plot für Xanthan-1 (Abbildung 27) zeigt keinen unterschiedlichen Verlauf zwischen den einzelnen einwertigen Salzen. Der Anstieg bei kleinen Winkeln führt zu einem Maximum, ab welchem die Kurven wieder etwas abfallen bis ein lokales Minimum erreicht ist. Knäuelartige Strukturen weisen, wie in Abbildung 6 gezeigt, einen starken und konstanten Abfall der Werte nach dem Maximum auf. Ein solcher Verlauf kann für Xanthan-1 nicht bestätigt werden. Wurmartige, semiflexible Strukturen sollen nach dem Maximum zu einem konstanten, hohen *qR*/*Kc* führen und nicht mehr so stark abfallen wie knäuelartige Systeme. Ein solches Verhalten wird hier vermutet, auch wenn das entsprechende konstante Plateau der Werte hier nicht zu erkennen ist. Dies kann mit dem erneut ansteigenden Verlauf der Kurven bei großen Winkeln begründet werden. Dieser Anstieg ist vermutlich auf die hohe Polydispersität der Proben zurückzuführen. Er hat keinen Einfluss auf die Auswertung, überdeckt jedoch das erwartete Plateau. Für Xanthan-1 wird also semiflexibles Verhalten geschlussfolgert.

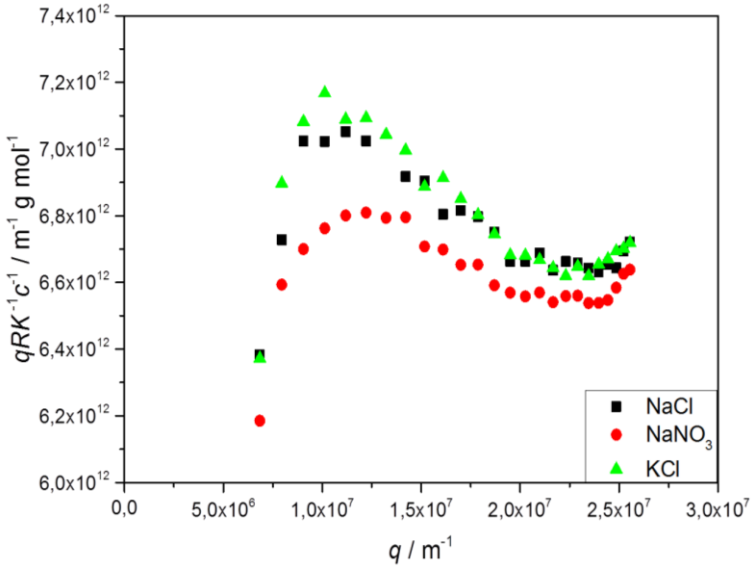

Abbildung 28: Holtzer-Auftragung von Xanthan-2 in verschiedenen 0,1 M Salzlösungen.

Die Auftragung für Xanthan-2 (Abbildung 28) zeigt einen ähnlichen Verlauf wie für Xanthan-1, das Maximum ist allerdings noch stärker definiert. Ein Unterschied zwischen den verschiedenen einwertigen Salzen kann auch hier nicht gefunden werden. Bei den nach dem Maximum stärker abfallenden Kurven kann ein leicht flexibleres Verhalten als bei Xanthan-1 gemutmaßt werden, auch wenn der Unterschied nur sehr gering ist. Genauso ist hier ein Einfluss der Polydispersität bei großen Streuwinkeln zu erkennen.

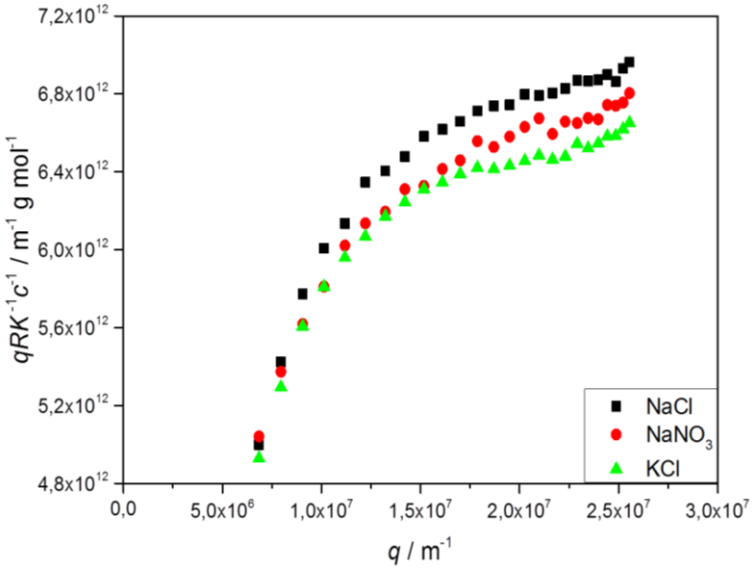

Abbildung 29: Holtzer-Auftragung von Xanthan-3 in verschiedenen 0,1 M Salzlösungen.

Die Holtzer-Auftragung von Xanthan-3 (Abbildung 29) unterscheidet sich stark von der von Xanthan-1 und -2. Hier ist kein Maximum zu erkennen, sondern ein stetiger, zu großen Winkeln flacher werdender Anstieg. Dieses Verhalten entspricht dem einer starren, unflexiblen Struktur. Auch hier sind keine Unterschiede zwischen den einzelnen einwertigen Salzen zu erkennen.

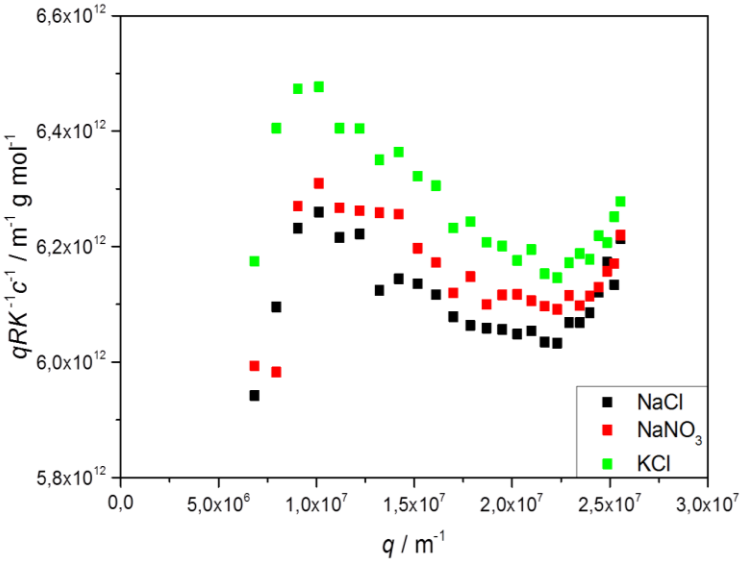

Abbildung 30: Holtzer-Auftragung von Xanthan-4 in verschiedenen 0,1 M Salzlösungen.

Xanthan-4 (Abbildung 30) weist in einwertiger Salzlosung das gleiche Verhalten auf wie Xanthan-1 und -2. Das ausgeprägte Maximum ähnelt dem von Xanthan-2. Hier wird dementsprechend auch auf ein semiflexibles Verhalten geschlossen.

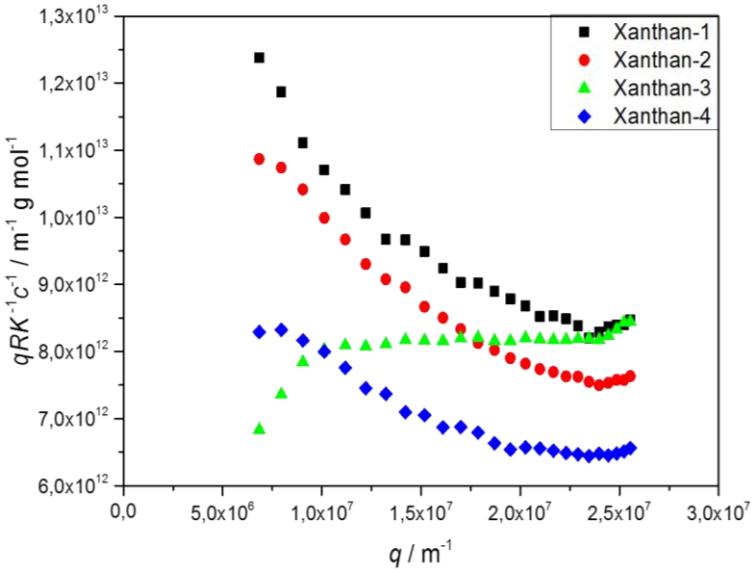

Abbildung 31: Holtzer-Auftragung von Xanthan-1 bis -4 in 0,1 M $CaCl_2$-Lösung.

Die Auftragung der vier Xanthane in $CaCl_2$-Lösung (Abbildung 31) zeigt Unterschiede zu denen der einwertigen Salze. Für Xanthan-1, -2 und -4 ist ein starker Abfall der Kurven zu erkennen, bei Xanthan-4 kann bei kleinen Winkeln ein Maximum vermutet werden. Dieser Verlauf entspricht einem – wenn überhaupt – nur leicht flexibleren Verhalten als in den einwertigen Salzlösungen. Das Abflachen der Kurven bei größeren *q*-Werten kann vermutlich auch hier auf die Polydispersität zurückgeführt werden. Die Verschiebung der Kurven in einen kleineren *q*-Bereich kann mit der zunehmenden Größe der Polymere in $CaCl_2$-Lösung erklärt werden. So bietet ein Maximum im Holtzer-Plot ebenso eine Möglichkeit, den Trägheitsradius dieses Teilchens abzuschätzen. Der *q*-Wert des Maximums entspricht dem Kehrwert des Trägheitsradius. Größere Radien führen also zu einer Verschiebung der Kurven zu kleineren Winkeln, was hier zu sehen ist. Auf diese Methode der Radienbestimmung wurde hier jedoch verzichtet, da die Auswertung über die Zimm-Auftragung genauere Ergebnisse verspricht. Die Kurve von Xanthan-3 weicht stark von denen der anderen Xanthane ab, sie entspricht in ihrem Verlauf den Kurven der einwertigen Salze und somit einer sehr steifen Struktur ähnlich zu der stäbchenförmiger Polymere.

4.7.6. Zusammenfassung und Erklärung des Verhaltens in verschiedenen Salzlösungen

Die bisherigen Statik- und Dynamikmessungen in verschiedenen Salzlösungen zeigen das Vorliegen von sehr großen Polymeren mit breit verteilten Molekulargewichten von über 1 Mio. g/mol. Zu beachten ist, dass die Bestimmung der Molmassen und Radien aufgrund der Polydispersität stark fehlerbehaftet ist. Es stellt sich die Frage, ob die Molekulargewichte und die mittels Lichtstreuung bestimmten Radien der Proben Einzelmolekülen entsprechen oder Aggregaten aus mehreren Ketten, wie oftmals in der Literatur als Doppelhelices beschrieben. Es ist hier nicht möglich, eine eindeutige

Antwort darauf zu geben. Vermutet wird jedoch das Vorliegen von Einzelmolekülen. So liegen die Molekulargewichte in dem für einzelne Polymere erwarteten Bereich und sind konsistent zu den mittels GPC-Untersuchungen abgeschätzten Werten. Würden diese Werte Assoziationen aus zwei oder mehr Ketten entsprechen, lägen die Molekulargewichte von Einzelmolekülen nur im Bereich von einigen Hunderttausend g/mol. Die Fragmentierung mittels Ultraschall müsste dementsprechend niedrigere Werte liefern als die gemessenen Molekulargewichte um 100.000–200.000 g/mol.

Die hydrodynamischen Radien von Xanthan-1, -2 und -4 liegen in ähnlicher Größenordnung von etwas über 100 nm, die Trägheitsradien um bis zu zwei Drittel höher. Xanthan-3 weist die geringste Molmasse der vier Proben auf, sowie Radien, die deutlich unterhalb derer der anderen Proben liegen.

Die Auswertung der Holtzer-Auftragungen zeigt semiflexibles Verhalten für Xanthan-1, -2 und -4. Xanthan-3 lässt ein deutlich unflexibleres Verhalten erkennen. Im Vergleich zu den einwertigen Salzen NaCl, $NaNO_3$ und KCl führen die Messungen in $CaCl_2$-Lösung zu weitaus größeren hydrodynamischen und Trägheitsradien. Ein Unterschied in der Kettensteifheit ist anhand dieser Messungen jedoch nicht eindeutig nachzuweisen. Der Einfluss von Calcium scheint bei Xanthan-3 geringer zu sein als bei den anderen Xanthanen, da sich die Radien im Vergleich zu den einwertigen Salzlösungen weniger stark erhöhen.

Die Zunahme der Radien in $CaCl_2$-Lösung lässt eine Verbrückung mehrerer Ketten über die Ca^{2+}-Ionen vermuten. Durch die zweifache Ladung könnten mehrere Moleküle über die Komplexierung der Carboxygruppen assoziieren, sodass hier möglicherweise Aggregate aus mehreren Einzelsträngen zu messen sind. Gleichzeitig könnten nach dem gleichen Mechanismus auch intramolekulare Verbrückungen entstehen, sodass die resultierenden Komplexe insgesamt eine höhere Dichte aufweisen müssten. Eine Verbrückung müsste über höhere apparente Molekulargewichte nachzuweisen sein. Aus Zeitgründen entfiel die Ermittlung der apparenten Molekulargewichte in $CaCl_2$-Lösung in dieser Masterarbeit jedoch. Zur Bestätigung der Überlegungen wäre dies sinnvoll. Der geringere Einfluss von Calcium bei Xanthan-3 kann mit der geringeren Pyruvatsubstitution erklärt werden, die sich aus den Zetapotential- und NMR-Messungen ergibt. Sind weniger geladene Gruppen vorhanden, sinkt auch die Anzahl möglicher Verbrückungspunkte, die Aggregationstendenz wird geringer und die Radien steigen weniger stark an als bei den anderen Xanthanen.

Die bisherigen Analysen zeigen, dass in rein wässriger Lösung Aggregate aus mehreren Molekülen vorliegen. Salzzugabe führt gemäß dem Polyelektrolyteffekt zu einer Abschirmung der negativ geladenen Gruppen, welche für die Aggregation verantwortlich zu sein scheinen. Dabei spielt es keine Rolle, welches einwertige Kation verwendet wird, genauso wenig welches Anion vorliegt. Die Abschirmung mit Kationen führt zur Auflösung der Aggregate und eine geringere Viskosität ist die Folge. Das steife oder semiflexible Verhalten der vier Proben deutet darauf hin, dass tatsächlich wurm- oder stäbchenförmige Strukturen vorliegen wie in der Literatur eingangs beschrieben. Allerdings kann keine Aussage über eventuelle Helices aus einem oder mehreren Einzelmolekülen getätigt werden.

Aus den NMR- und Zetapotential-Messungen kann geschlussfolgert werden, dass Xanthan-2 nur sehr wenige Acetatgruppen trägt. Die Oberflächenladung, gleichbedeutend mit dem Pyruvatgehalt, ist hingegen bei Xanthan-3 niedriger als bei den anderen Proben. Da Xanthan-2 kaum Unterschiede in Größe, Molmasse und Verhalten in $CaCl_2$-Lösung im Vergleich zu Xanthan-1 und -4 zeigt, kann ein

Einfluss der fehlenden Acetatgruppen auf die Sekundärstruktur weitestgehend ausgeschlossen werden. Auch das von Coviello *et al*.[16] beschriebene flexiblere Verhalten acetatfreier Xanthane kann hier nicht bestätigt werden. Das abweichende Verhalten von Xanthan-3 lässt die Vermutung zu, dass der geringere Pyruvatgehalt zu den Unterschieden führt. Dies erscheint nachvollziehbar, da die ungeladenen Acetatgruppen weniger inter- oder intramolekulare Wechselwirkung zeigen sollten als die geladenen Pyruvatsubstituenten. Der geringere Anteil an Pyruvatgruppen lässt ein weniger stark ausgeprägtes Verhalten entsprechend dem Polyelektrolyteffekt erwarten. Zu vermuten wäre eine Verringerung der Abstoßung bei geringerer Ladung. Dies würde zu flexiblerem Verhalten der Ketten führen. Experimentell zu beobachten ist jedoch eine Zunahme der Kettensteifheit, was auch den Aussagen von Coviello *et al*.[16] entspricht.

Für dieses Verhalten kann hier keine endgültige Erklärung gegeben werden. Nur Spekulationen über die Ursache sind möglich. Wie oben bereits angemerkt, wird bei den vorliegenden Spezies von Einzelmolekülen ausgegangen. Je nach Ladung der Ketten wird sich die inter- und intramolekulare Wechselwirkung ändern. Eine Folge wäre die Stabilisierung und Favorisierung einer jeweils anderen Struktur, die eine abweichende Kettensteifheit aufweisen könnte. Möglicherweise liegen Xanthan-1, -2 und -4 als Einzelhelices vor. Diese zeigen große Radien und semiflexibles Verhalten. Denkbar wäre, dass der geringere Pyruvatgehalt bei Xanthan-3 eine Anordnung in einer Doppelhelix begünstigt. Wird davon ausgegangen, dass sich die einzelnen Ketten falten und intramolekulare Doppelhelices bilden, kann dies als Erklärung für die kleineren Radien dienen. Auch die geringere Flexibilität wäre nachvollziehbar, da die Doppelhelix durch die dichtere Struktur steifer ist als eine Einzelhelix. Das Molekulargewicht sollte nicht beeinflusst werden, was den relativ geringen Unterschied der Werte zwischen Xanthan-3 und den anderen Proben erklärt. Eine Schulter zu kleinerem hydrodynamischem Volumen konnte auch in dem GPC-Elugramm nachgewiesen werden (siehe Abbildung 8) und unterstützt diese Theorie. Die geringere Viskosität von Xanthan-3-Lösungen kann nicht eindeutig mit dem beobachteten Verhalten in Verbindung gebracht werden. So wäre es einerseits denkbar, dass steifere Moleküle durch die geringere Beweglichkeit die Viskosität erhöhen, was hier nicht gefunden werden kann. Andererseits könnte sich die Viskosität jedoch erniedrigen, falls sich steifere Polymere beispielsweise lamellar anordnen oder weniger Verschlaufungen als flexible Ketten bilden.

4.8. Lichtstreuung bei verschiedenen Salzkonzentrationen

Die oben beschriebenen Messungen zur Ermittlung der Größe und des Verhaltens in Lösung der vier Xanthanproben erfolgten ausschließlich in 0,1 molarer Salzlösung. In diesem Kapitel soll der Einfluss abweichender Salzkonzentrationen auf die Radien und die Kettensteifheit untersucht werden. Aufgrund des Umfangs der Messungen erfolgten diese Untersuchungen nur an Xanthan-1 mit allen vier Salzen, da diese Probe den bisherigen Ergebnissen zufolge keine besonderen Eigenschaften im Vergleich zu den anderen Xanthanen aufweist. Einzig das viel unflexiblere Xanthan-3 wurde zusätzlich bei unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen analysiert.

4.8.1. Bestimmung der hydrodynamischen Radien von Xanthan-1 bei verschiedenen Salzkonzentrationen

Dynamische Lichtstreumessungen (DLS) wurden an Xanthan-1 in NaCl-, $NaNO_3$-, KCl- und $CaCl_2$-Lösung bei Polymerkonzentrationen von 0,5 g/L und Salzkonzentrationen zwischen 0,005 und 1,00 mol/L durchgeführt. Beispielhaft sind in Abbildung 32 die über den CONTIN-Algorithmus erhaltenen Relaxationszeitenverteilungen der Messungen im Streuwinkel von 90° für NaCl gezeigt.

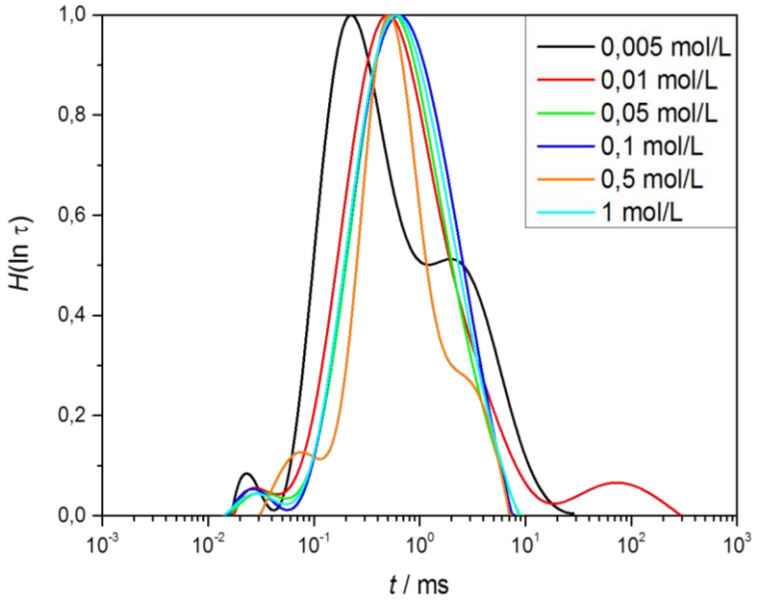

Abbildung 32: Über den CONTIN-Algorithmus bestimmte Relaxationszeitenverteilungen *H*(ln *τ*) von Xanthan-1 in NaCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen. Messung bei einem Streuwinkel von 90°, Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

Die Kurve der geringsten Salzkonzentration (0,005 mol/L) zeigt ein Hauptmaximum bei geringen Relaxationszeiten als die restlichen Kurven. Außerdem ist ein Nebenmaximum bei höheren Zeiten um 3 ms zu sehen. Daran lässt sich erkennen, dass die Salzkonzentration vermutlich nicht ausreicht, um alle geladenen Gruppen der Polymerkette abzuschirmen und die Aggregate komplett aufzubrechen. Alle anderen Salzkonzentrationen liefern Maxima bei sehr ähnlichen Relaxationszeiten um 0,6 ms und zeigen eine ähnliche Form und Verteilungsbreite. Das kleine Nebenmaximum bei sehr hohen Relaxationszeiten zwischen 20 und 300 ms der 0,01 mol/L-Messung kann einer Verunreinigung

entsprechen und liegt außerhalb des Lichtstreubereichs. Bei kleineren Winkeln dieser Konzentration zeigen sich aber auch hier breitere Verteilungen ähnlich wie in der Verteilung für 0,005 mol/L. Diese lassen noch immer auf teilweise Aggregation schließen. Gleiches Verhalten zeigt sich auch jeweils für die anderen Salze. Um Aggregationseffekte zu umgehen wurde bei der Bestimmung der extrapolierten hydrodynamischen Radien daher auf die geringste Salzkonzentration verzichtet. Die resultierenden Werte sind in Tabelle 8 aufgelistet.

Tabelle 8: Extrapolierte hydrodynamische Radien R_h von Xanthan-1 in Salzlösungen verschiedener Konzentrationen.

c_{Salz} / mol L^{-1}	R_h / nm			
	NaCl	**$NaNO_3$**	**KCl**	**$CaCl_2$**
0,01	92 ± 9	89 ± 9	91 ± 9	120 ± 20
0,05	99 ± 10	97 ± 10	108 ± 11	147 ± 15
0,1	116 ± 8	150 ± 40	116 ± 8	198 ± 30
0,5	121 ± 12	178 ± 18	133 ± 13	229 ± 23
1	156 ± 16	191 ± 19	127 ± 13	222 ± 22

Für alle Salze zeigt sich eine Zunahme der Radien mit steigender Salzkonzentration. Sind bei niedrigem Salzgehalt die Unterschiede zwischen den drei einwertigen Salzen noch minimal, so werden sie größer, je höher die Salzkonzentration ansteigt. Zu beachten ist allerdings, dass die gezeigten Werte (außer bei 0,1 mol/L, siehe Tabelle 2) keine Mittelwerte darstellen, da nur eine einzige Messung erfolgte. Der experimentelle Fehler wird bei diesen Berechnungen pauschal mit 10% angenommen. Die Radien in $CaCl_2$-Lösung sind bei jeder Salzkonzentration größer als bei den anderen Salzen und damit konsistent zu den bisherigen Ergebnissen bei 0,1 mol/L.

4.8.2. Bestimmung der Trägheitsradien von Xanthan-1 bei verschiedenen Salzkonzentrationen

Bei den verschiedenen Salzkonzentrationen erfolgten Statikmessungen, aus deren Anfangssteigungen in den Zimm-Auftragungen (Abbildung 33) die Trägheitsradien (Tabelle 9) berechnet wurden.

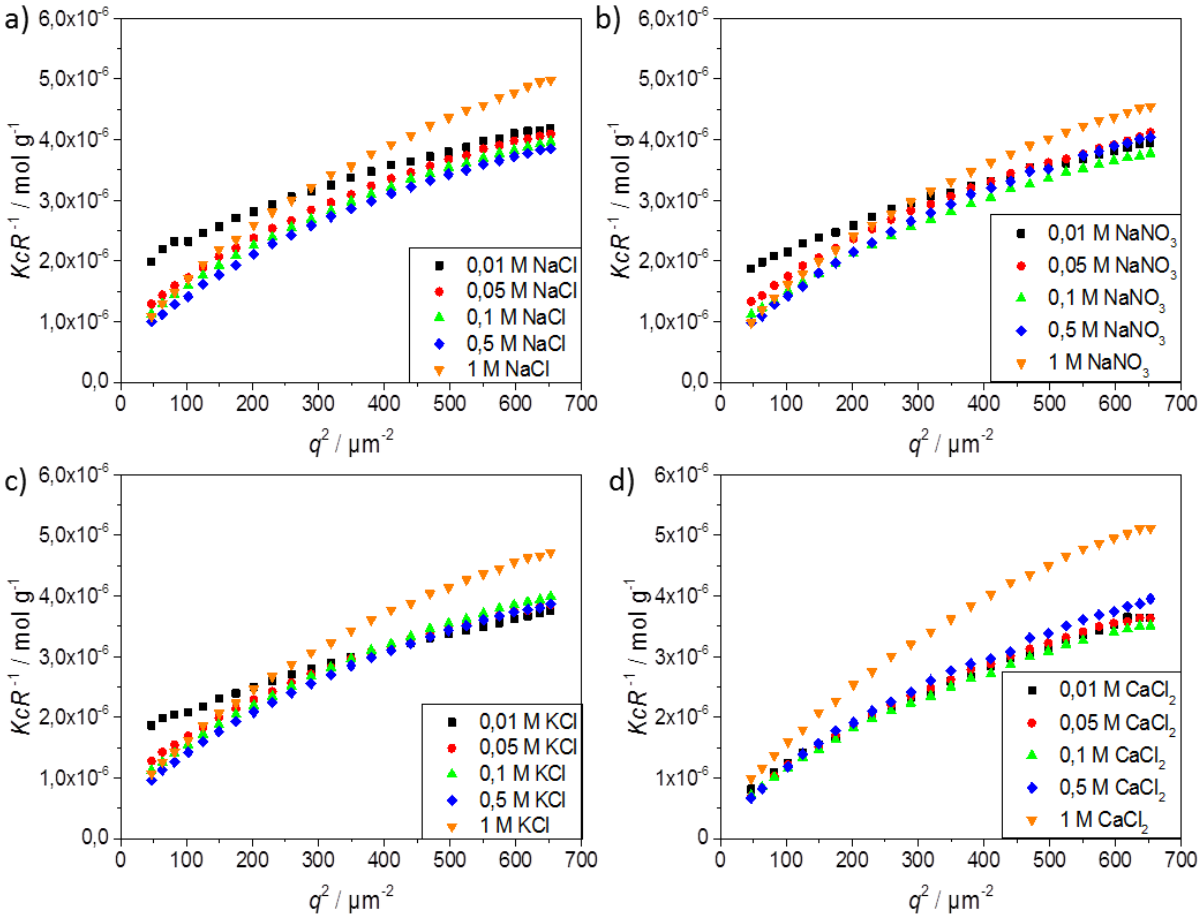

Abbildung 33: Zimm-Auftragungen für Xanthan-1 in a) NaCl-, b) $NaNO_3$-, c) KCl- und d) $CaCl_2$-Lösung bei verschiedenen Salzkonzentrationen. Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

In den Zimm-Auftragungen ist erneut die flacher werdende Steigung zu erkennen. Auffällig sind bei den drei einwertigen Salzen die Kurven bei 0,01 mol/L Salzgehalt. Diese weisen eine eher konstante Steigung auf als die Kurven höherer Konzentrationen. Ein solches Verhalten würde für eine engere Größenverteilung der Probe sprechen, wie es beispielsweise für Proben mit geringerer Aggregation zu erwarten ist. Die genauere Diskussion der Ursache wird in der Zusammenfassung in Kapitel 4.8.6 durchgeführt. Die mittleren Salzkonzentrationen zwischen 0,05 und 0,5 mol/l weisen kaum Unterschiede auf und zeigen den angesprochenen, flacher werdenden Verlauf. Die Kurve bei 1 mol/L steigt steiler an und erreicht höhere Intensitäten bei großen Winkeln. Eine genaue Erklärung für dieses Phänomen kann hier nicht gegeben werden. In den Kurven der $CaCl_2$-Lösungen zeigen alle Konzentrationen bis 0,5 mol/L ein gleiches Bild, die Kurve bei der höchsten Salzkonzentration zeigt allerdings auch den auffälligen Anstieg bei größerem q^2.

Tabelle 9: Trägheitsradien R_g, ermittelt aus den Anfangssteigungen der Fitgeraden aus den Zimm-Auftragungen in Abbildung 33 für Xanthan-1 in Salzlösungen verschiedener Konzentrationen.

c_{Salz} / mol L^{-1}	R_g / nm			
	NaCl	**$NaNO_3$**	**KCl**	**$CaCl_2$**
0,01	95 ± 10	94 ± 9	87 ± 9	177 ± 18
0,05	153 ± 15	148 ± 15	142 ± 14	255 ± 26
0,1	172 ± 17	176 ± 30	161 ± 16	251 ± 25
0,5	189 ± 19	193 ± 19	193 ± 19	285 ± 29
1	212 ± 21	214 ± 21	214 ± 21	239 ± 24

In gleicher Weise wie die hydrodynamischen steigen auch die Trägheitsradien bei zunehmendem Salzgehalt der Lösungen an. Innerhalb des Fehlerbereichs stimmen hier auch die Werte bei hohen Konzentrationen der drei einwertigen Salze überein. Die Werte bei $CaCl_2$ liegen vor allem bei geringen Salzkonzentrationen sehr hoch, steigen allerdings nur vergleichsweise gering an. Der Verlauf beider Radien ist in Abbildung 34 zusammengefasst.

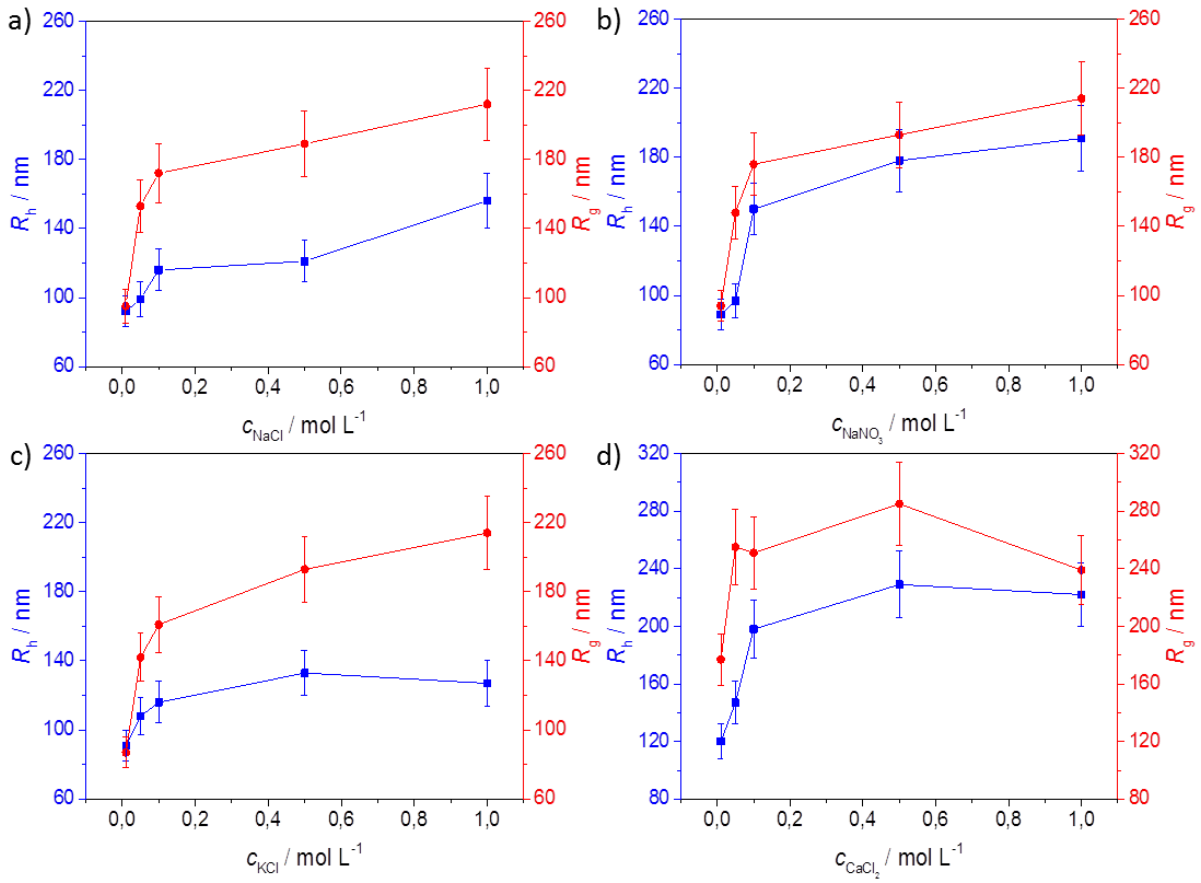

Abbildung 34: Verlauf der hydrodynamischen Radien (blaue Quadrate) und Trägheitsradien (rote Kreise) für Xanthan-1 in a) NaCl-, b) $NaNO_3$-, c) KCl- und d) $CaCl_2$-Lösung bei verschiedenen Salzkonzentrationen.

Der Verlauf der Radien zeigt, dass es bei allen Salzen zu einem starken Anstieg bereits bei geringen Salzkonzentrationen kommt. Die Radien scheinen mit steigendem Salzgehalt ein Plateau zu erreichen, zumindest ist der Anstieg ab ca. 0,1 mol/L bedeutend flacher.

4.8.3. Berechnung der Strukturparameter ρ

Die aus den beiden Radien berechneten Strukturparameter sind in Tabelle 10 gezeigt.

Tabelle 10: Strukturparameter ρ für Xanthan-1 in Salzlösungen verschiedener Konzentrationen.

c_{Salz} / mol L^{-1}	ρ			
	0,1 M NaCl	**0,1 M $NaNO_3$**	**0,1 M KCl**	**0,1 M $CaCl_2$**
0,01	1,03	0,95	1,06	1,48
0,05	1,54	1,31	1,53	1,73
0,1	1,48	1,39	1,17	1,27
0,5	1,56	1,45	1,08	1,24
1	1,36	1,69	1,12	1,08

Bei den Strukturparametern ist kein eindeutiger Trend erkennbar. Auffällig ist nur der geringere Wert jeweils bei der niedrigsten Salzkonzentration. Dies suggeriert eine Formänderung, die möglicherweise bei sich ändernder Aggregation erfolgt. Der weitere Verlauf ist nicht stetig, auch ein Unterschied zwischen Calcium und den anderen Kationen ist nicht festzustellen. Vermutlich gehen die nicht stetigen Werte aus den Fehlern bei der Berechnung der Radien hervor. Sie deuten daher nicht auf eine weitere Formänderung ab einer Salzkonzentration von 0,05 mol/L hin. In Kapitel 4.8.6 wird genauer auf die Diskussion der Werte eingegangen. Die Werte liegen im gleichen Größenbereich wie die aus Tabelle 7 für die Messungen bei konstantem Salzgehalt.

4.8.4. Analyse der Kettensteifheit von Xanthan-1 bei verschiedenen Salzkonzentrationen mithilfe von Holtzer-Auftragungen

In Abbildung 35 bis Abbildung 37 sind die Holtzer-Auftragungen aus den Statikmessungen von Xanthan-1 bei den verschiedenen Salzkonzentrationen zu sehen.

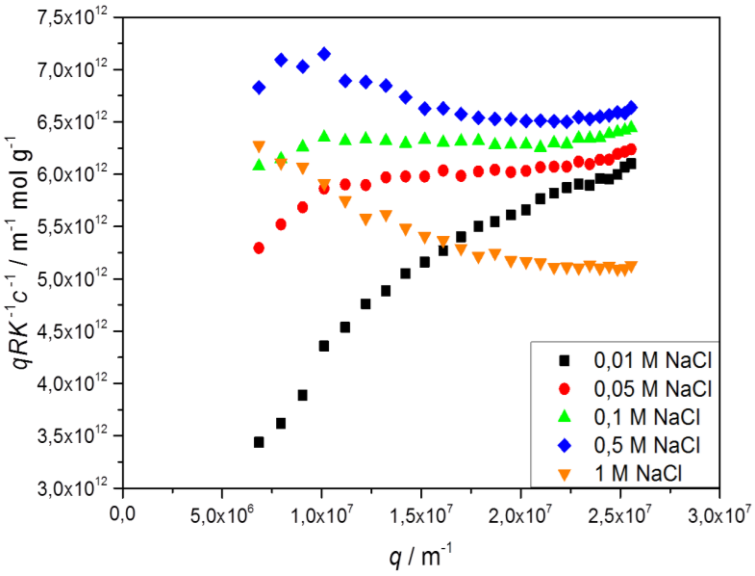

Abbildung 35: Holtzer-Auftragung von Xanthan-1 in NaCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen.

Abbildung 35 zeigt die Holtzer-Auftragung von Xanthan-1 in NaCl-Lösung. Die stetige Steigung der Kurve mit der geringsten Salzkonzentration (0,01 mol/L) spricht für sehr steifes Verhalten der Ketten. Mit zunehmendem Salzgehalt flacht die Kurve immer weiter ab, bis sie ab 0,1 mol/L schließlich ein Maximum erkennen lässt. Bei dieser Kurve handelt es sich um die Gleiche, welche bereits in Abbildung 27 gezeigt ist. Aufgrund des größeren Skalierungsbereiches auf der Ordinate ist das Maximum hier allerdings nur schwer zu erkennen. Bei 1 mol/L Salzkonzentration ist das Maximum nicht mehr zu erkennen. Hier fällt die Kurve stetig ab. Wie oben bereits erwähnt, verschiebt sich das Maximum der Kurven mit zunehmender Größe der Teilchen zu kleineren *q*-Werten. Im vorherigen Kapitel wurde gezeigt, dass die Radien mit steigender Salzkonzentration zunehmen, sodass die Verschiebung hier nachvollziehbar ist.

Die Auswertung der Holtzer-Plots zeigt eine immer geringer werdende Kettensteifheit bei zunehmendem Salzgehalt. Die Polymere, deren Kurven ein Maximum aufweisen oder schon darüber hinausgehen, können als semiflexibel bezeichnet werden. Dies trifft auf die Proben bei einem Salzgehalt ab 0,1 mol/L zu. Die Polymere mit steigenden Kurven zeigen unflexibles Verhalten, was bei einem niedrigeren Salzgehalt der Fall ist. Das gleiche Verhalten wie für NaCl kann auch für die anderen einwertigen Salze $NaNO_3$ und KCl gefunden werden (Abbildung 36). Auch hier ist also kein Unterschied zwischen den einwertigen Salzen zu erkennen.

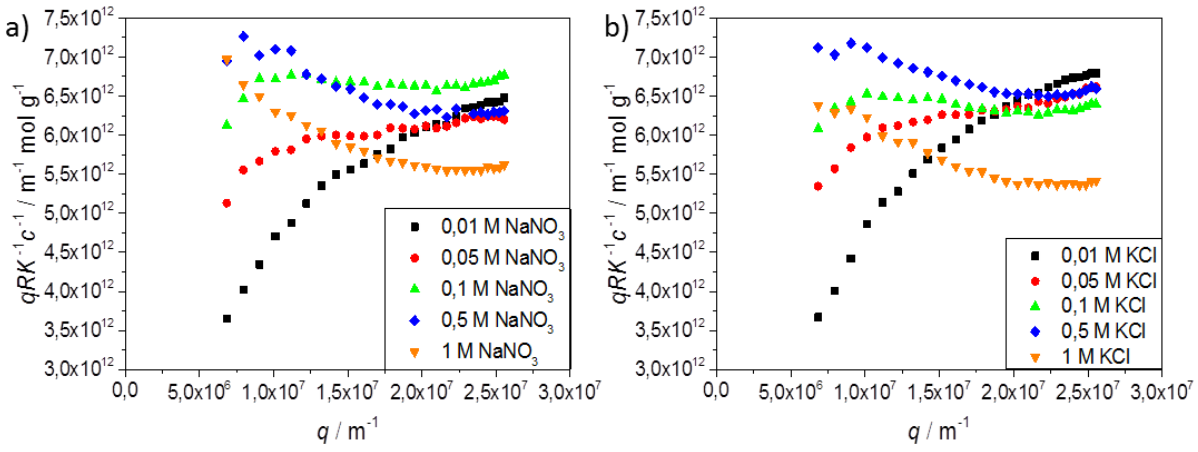

Abbildung 36: Holtzer-Auftragungen von Xanthan-1 in a) $NaNO_3$- und b) KCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen.

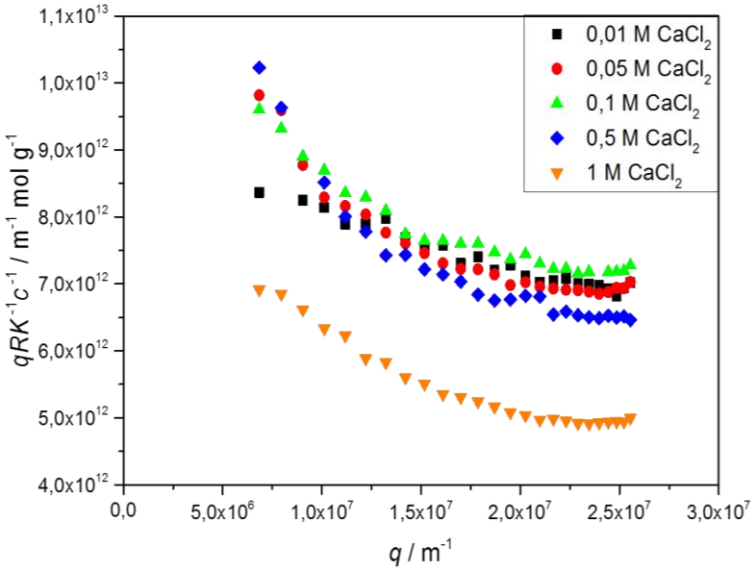

Abbildung 37: Holtzer-Auftragung von Xanthan-1 in CaCl2-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen.

Im Vergleich zu den Holtzer-Auftragungen der einwertigen Salzlösungen zeigt die Auftragung von Xanthan-1 in $CaCl_2$-Lösung ein abweichendes Bild (Abbildung 37). Hier ist unabhängig von der Salzkonzentration ein semiflexibles Verhalten zu erkennen. Die Kurve bei 0,01 mol/L zeigt noch die Ausläufer eines Maximums, bei den anderen Konzentrationen ist dieses nur bei kleinerem *q* zu vermuten. Diese Verschiebung zu kleineren *q*-Werten konnte aufgrund der größeren Radien in $CaCl_2$-Lösung erwartet werden.

4.8.5. Bestimmung der Radien und Analyse der Kettensteifheit von Xanthan-3 bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen

Wie in Kapitel 4.7 beschrieben zeigt Xanthan-3 ein deutliches Abweichen von den anderen Xanthanen. Sowohl die Größe als auch die Form und Flexibilität in Lösung unterschieden sich. So weist es erheblich kleinere Radien auf und zeigt in allen Salzlösungen unflexibles Verhalten. Aus diesem Grund wurde auch an Xanthan-3 der Einfluss der verschiedenen Salzkonzentrationen

untersucht. In Abbildung 38 und Tabelle 11 sind die Ergebnisse der einzelnen DLS- und SLS-Messungen zusammengefasst.

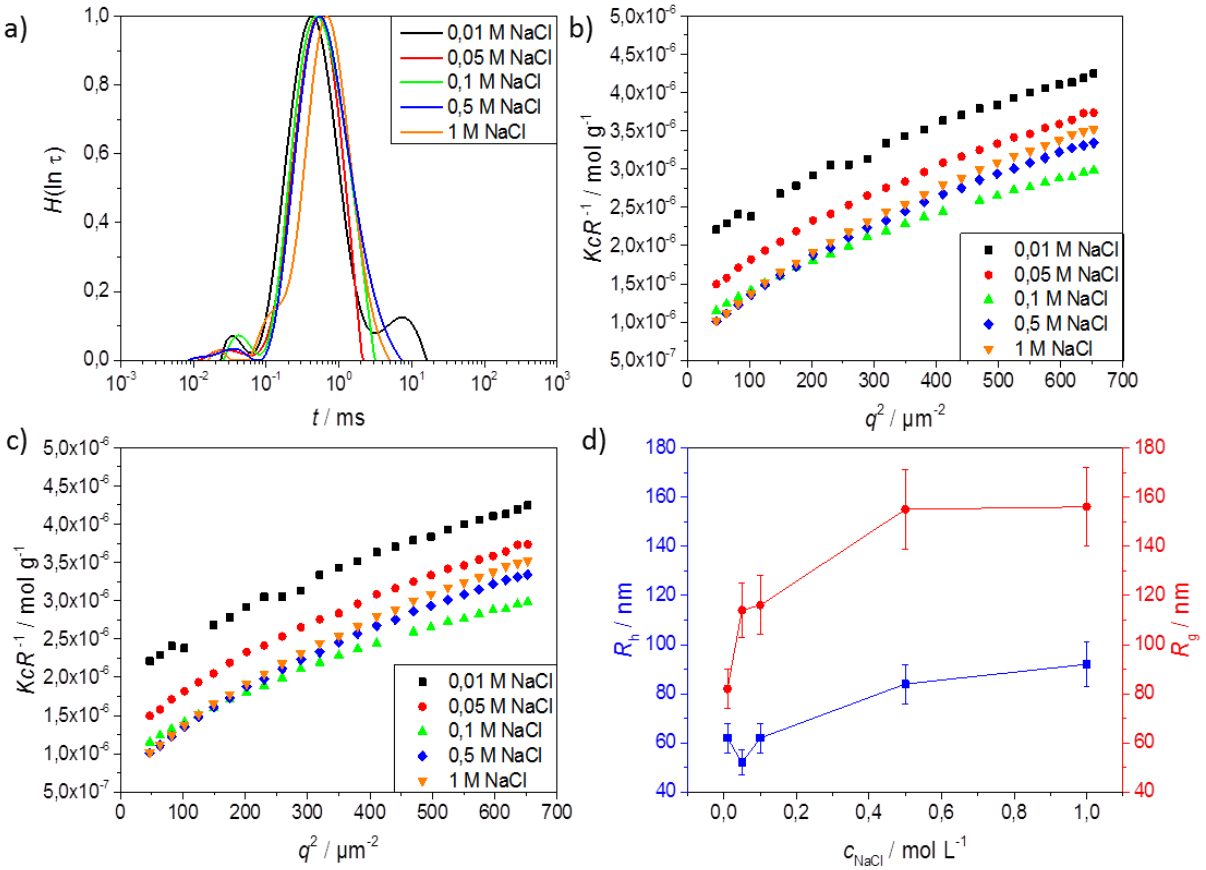

Abbildung 38: a) Über den CONTIN-Algorithmus bestimmte Relaxationszeitenverteilungen *H*(ln τ) von Xanthan-3 in NaCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen. Messung bei einem Streuwinkel von 90°, Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C. b) Zimm-Auftragung für Xanthan-3 in NaCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen. Gleiche Bedingungen wie in a). c) Holtzer-Auftragung von Xanthan-3 in NaCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen. d) Verlauf der hydrodynamischen Radien (blaue Quadrate) und Trägheitsradien (rote Kreise) für Xanthan-3 in NaCl-Lösung bei verschiedenen Salzkonzentrationen.

Tabelle 11: Extrapolierte hydrodynamische und Trägheitsradien sowie Strukturparameter von Xanthan-3 in NaCl-Lösung verschiedener Salzkonzentrationen.

c_{NaCl} / mol L^{-1}	R_h / nm	R_g / nm	ρ
0,01	62 ± 6	82 ± 8	1,32
0,05	52 ± 5	114 ± 11	2,19
0,1	62 ± 6	116 ± 12	1,87
0,5	84 ± 8	155 ± 16	1,84
1	92 ± 9	156 ± 16	1,70

Die dynamischen Lichtstreumessungen liefern ähnliche Ergebnisse wie für Xanthan-1. Bei der geringsten Salzkonzentration zeigt sich bei kleinen Winkeln eine breitere Verteilung hin zu großen Relaxationszeiten (Abbildung 38 a), weshalb auf das Vorhandensein von Aggregaten geschlossen wird. Bei den größeren Winkeln sowie höheren Salzkonzentrationen ist davon nichts mehr zu sehen.

Der allgemeine Trend stimmt mit dem von Xanthan-1 überein. Die hydrodynamischen Radien steigen von niedrigem zu hohem Salzgehalt an.

Die aus den Statikmessungen erhaltenen Zimm-Auftragungen (Abbildung 38 b) zeigen nur geringe Unterschiede für die einzelnen Konzentrationen. Auch hier steigen im Allgemeinen die Anfangssteigungen der Fitgeraden und somit die Trägheitsradien bei höherem Salzgehalt an. Zu auffälligen Abweichungen in den Kurven der höchsten oder niedrigsten Salzkonzentration wie in den Lösungen der einwertigen Salze von Xanthan-1 (Abbildung 33 a–c) kommt es hier aber nicht. Auch hier liegen die Werte der Trägheitsradien über denen der hydrodynamischen Radien. Eine geringer werdende Zunahme der Radien bei Erhöhung des Salzgehaltes wie bei Xanthan-1 ist vor allem bei den Trägheitsradien auch hier zu sehen (Abbildung 38 d). Beide Radien liegen bei allen Konzentrationen niedriger als die entsprechenden Werte von Xanthan-1.

Auch die berechneten Strukturparameter zeigen einen ähnlichen Trend wie die von Xanthan-1 in Tabelle 10. Ein großer Anstieg ist von 0,01 auf 0,05 mol/L zu erkennen. Die Werte sinken leicht von 0,05 auf 1 mol/L. Bei allen Konzentrationen sind sie etwas höher als die entsprechenden Werte von Xanthan-1, wie auch schon zuvor bei 0,1 mol/L bemerkt (siehe Kapitel 4.7.4). Die großen Fehlerbereiche lassen jedoch keine weiteren Aussagen auf Form oder Sekundärstruktur allein aus diesen Werten zu.

Die Holtzer-Auftragung in Abbildung 38 c) zeigt für die drei niedrigsten Konzentrationen eine stetige Steigung und damit unflexibles Verhalten. Bei 0,5 mol/L, vor allem aber bei 1 mol/L, deutet der Verlauf mit einem Plateau bzw. schwach ausgeprägten Maximum auf eine etwas geringere Kettensteifheit hin. Möglicherweise zeugt die Abnahme der Strukturparameter bei steigendem Salzgehalt tatsächlich von einer zunehmenden Flexibilität der Ketten, wie sie in der Holtzer-Auftragung zu erkennen ist. Im Vergleich zu Xanthan-1 liegen hier aber immer noch deutlich steifere Strukturen vor.

4.8.6. Zusammenfassung und Erklärung des Verhaltens bei verschiedenen Salzkonzentrationen

Die Analysen von Xanthan-1 und -3 zeigen, dass die Salzkonzentration großen Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse hat. Neben den Radien ändert sich auch die Flexibilität der Ketten. Zu erkennen ist, dass eine gewisse Salzmenge vorhanden sein muss, um die Aggregationstendenz der Moleküle in reinem Wasser zu unterdrücken. So zeigen sich bei dynamischen Lichtstreumessungen in 0,005 molarer Salzlösung bei allen Winkeln noch große Aggregate. Diese Salzkonzentration entspricht in grober Näherung etwa 7 Kationen pro Carboxygruppen. Bei dieser Berechnung wird von einer Molmasse von 1000 g/mol pro Wiederholungseinheit mit einer durchschnittlichen Ladung von 1,5 ausgegangen. Hinzugezählt werden müssen hier noch die durchschnittlich 1,5 Kationen, die bereits als Gegenionen der Carboxygruppen vorliegen. Diese Anzahl an Kationen reicht anscheinend nicht aus, um alle negativen Ladungen genügend abzuschirmen. Bei 0,01 molaren Lösungen können Aggregate nur noch bei kleineren Winkeln festgestellt werden. Nahezu aggregatfreie Proben werden dementsprechend erst bei Salzkonzentrationen von über 0,01 mol/L erhalten. Bei einer weiteren Steigerung der Salzmenge auf bis zu 1 mol/L (entspricht ca. 1400 Kationen pro Carboxygruppe) kann

kein verändertes Löslichkeitsverhalten wie etwa ein Ausfallen der Ketten durch Aussalzen beobachtet werden. Dies gilt sowohl für einwertige Salze als auch für $CaCl_2$.

Die aus den statischen Lichtstreumessungen erhaltenen Holtzer-Auftragungen lassen Rückschlüsse auf die Kettensteifheit zu. Dem Polyelektrolyteffekt entsprechend wäre eine Zunahme der Flexibilität bei steigendem Salzgehalt zu erwarten. Die bessere Abschirmung der negativen Ladungen sollte zu größerer Kettenbeweglichkeit bis hin zum Verknäulen führen. Tatsächlich wird dieses Verhalten bei beiden untersuchten Proben gefunden. In einwertiger Salzlösung zeigt sich für Xanthan-1 eine deutliche Zunahme der Kettenflexibilität bei steigendem Salzgehalt. Xanthan-3 zeigt in NaCl-Lösung das gleiche Bild, jedoch schwächer und erst bei höherem Salzanteil. Erst ab 0,5 mol/L kann hier von einem semiflexiblen Verhalten gesprochen werden. Eine Änderung der Kettensteifheit in $CaCl_2$-Lösung kann für Xanthan-1 allerdings nicht gefunden werden. Auch bei sehr niedrigen Salzkonzentrationen verhalten sich die Ketten hier semiflexibel. Vermutlich reicht die Abschirmung bei zweiwertigen Salzen schon in sehr geringen Konzentrationen aus, um die Abstoßung der geladenen Gruppen soweit zu minimieren, dass sich die Ketten semiflexibel verhalten. Eine Messung bei noch geringerer Calciumkonzentration könnte dies eventuell unterstützen. Diese wurde jedoch nicht durchgeführt, da auch bei 0,01 mol/L schon Aggregation zu erkennen war, welche den zu beobachteten Effekt überdecken könnte.

Für die beiden untersuchten Xanthanproben und alle vier Salze zeigt sich, dass sowohl die hydrodynamischen, als auch die Trägheitsradien mit zunehmendem Salzgehalt ansteigen. Ein analoges Verhalten wurde von Hacche *et al.*[17] gefunden. Dies bedeutet eine Expansion der Ketten mit zunehmender Abschirmung der geladenen Gruppen. Dieses Verhalten ist für Polyelektrolyte unüblich. Zu erwarten wäre eine Abnahme der Radien bei verbesserter Abschirmung. Eine Verringerung der Ausdehnung würde dann auch möglicherweise zum Aussalzen und Ausfallen der Ketten ab einer bestimmten Salzkonzentration führen. Zu beobachten ist dieses Verhalten hier aber nicht.

In den Zimm-Auftragungen der einwertigen Salze ist zu erkennen, dass die Kurve bei dem geringsten Salzgehalt von 0,01 mol/L eine relativ konstante Steigung aufweist. Dies lässt auf die im Vergleich zu den höheren Konzentrationen geringste Polydispersität schließen. Ein konstanter Anstieg ist eher bei eng verteilten Proben zu erwarten. Aus den bisher erhaltenen Ergebnissen lässt sich eine Vermutung zu den Ursachen ableiten. So kommt es gemäß dem Polyelektrolyteffekt bei Salzzugabe zu wässrigen Xanthanlösungen zu einer Auflösung der Aggregate. Dies konnte bei allen Salzkonzentrationen von über 0,01 mol/L beobachtet werden. Bei diesem Wert sind die ermittelten Radien am niedrigsten. Möglicherweise liegen die Polymere hier – wie in Kapitel 4.7.6 geschlussfolgert – als Einzelmoleküle vor. Bei steigender Salzkonzentration steigen die Radien an. Dies könnte auf eine beginnende Assoziation mehrerer Moleküle hindeuten, wie auch in der Literatur beschrieben.[17] Je höher der Salzgehalt steigt, desto mehr intermolekulare Aggregate formen sich oder desto mehr Einzelmoleküle lagern sich an bestehende Aggregate an. Dies könnte neben den steigenden Radien auch erklären, warum der Kurvenverlauf in den Zimm-Auftragungen bei steigendem Salzgehalt flacher, die Proben also anscheinend polydisperser werden. Ein Plateau in den Radien wird bei einer bestimmten Sättigung mit Salz vermutet, ab welcher die Aggregate nicht weiter wachsen bzw. sich keine neuen Anlagerungen mehr bilden. Zur Bekräftigung dieses Vorschlages müssten Molmassenbestimmungen bei abweichenden Salzgehalten durchgeführt werden. In dieser Masterarbeit wurde aus Zeitgründen darauf verzichtet. Bei Calcium liegen auch bei geringen Salzkonzentrationen verbrückte Polymere vor, sodass die Radien schon dort höher liegen, aber nicht

mehr so stark ansteigen wie in den einwertigen Salzlösungen. Auch die geringe Änderung in der Kettensteifheit unterstützt diese Vermutung.

Da diese Assoziation schon bei 0,05 mol/L Salzgehalt beginnt, bei 0,01 mol/L allerdings noch Aggregate wie in rein wässriger Lösung zu beobachten sind, muss hier von einem sehr engen Fenster ausgegangen werden, in dem tatsächlich Einzelmoleküle vorliegen. Die Zunahme des Strukturparameters zwischen diesen beiden Salzkonzentrationen würde der vermehrten Umformung von Einzelmolekülen in Aggregate entsprechen. Bei anderen Polyelektrolyten wie beispielsweise Polystyrolsulfonat ist erfahrungsgemäß ein weiterer Bereich zu erwarten, in dem Einzelmoleküle vorliegen sollen. Dort ist jedoch eine bedeutend höhere Ladung pro Masse vorhanden als bei Xanthanen. Letztere weisen nur ein bis zwei Carboxygruppen pro Wiederholungseinheit mit Molekulargewichten von ca. 1000 g/mol auf, während Polystyrolsulfonat eine geladene Gruppe auf einem Fünftel der Molmasse besitzt. Eine kleine Änderung der Salzkonzentration hat hier dementsprechend einen deutlich größeren Effekt auf die inter- und intramolekularen Wechselwirkungen.

Wie oben erwähnt, wurde das Vorliegen der Xanthanketten in Kapitel 4.7 bei Konzentrationen einwertiger Kationen von 0,1 mol/L schon als monomolekular gewertet. Der hier beschriebene Erklärungsversuch erfordert nun eine Revision dieser Einschätzung. Zu vermuten ist nun eher ein Vorliegen von einzelnen Ketten und Aggregaten nebeneinander mit sinkendem Anteil an Einzelmolekülen bei steigendem Salzgehalt. Damit lässt sich auch nicht klar sagen, ob die Änderung der Kettensteifheit nur in der verbesserten Abschirmung begründet liegt, oder ob die vermutete Assoziation der Ketten auch dafür verantwortlich ist. Möglicherweise kommen hier mehrere Effekte zusammen, deren genaue Erkennung hier nicht möglich ist. Eine Molmassenbestimmung bei unterschiedlichen Salzkonzentrationen könnte die Theorie überprüfen.

Wie im Theorieteil (Kapitel 2.1.1) beschrieben, soll laut Literatur eine höhere Ionenstärke zur Stabilisierung der Doppelhelix im Vergleich zur Einzelhelix führen. Es scheint jedoch der beobachteten Zunahme der Flexibilität zu widersprechen, da für Doppelhelices naturgemäß steiferes Verhalten zu erwarten ist als für einzelne Ketten. Eine abschließende Erklärung der Beobachtungen kann anhand der durchgeführten Messungen nicht gegeben werden.

4.9. Untersuchung der pH-Abhängigkeit

Xanthane lassen sich industriell in einem weiten pH-Bereich verwenden, da sie auch in moderat saurer oder basischer Lösung stabil sind. In diesem Kapitel soll nun geprüft werden, wie sich das Verhalten in Lösung bei verschiedenen pH-Werten verändert. Der Einfluss der Protonierung oder Deprotonierung der Carboxygruppen auf die Flexibilität und die Größe der Ketten wird untersucht.

4.9.1. Probenpräparation und Messung des Zetapotentials

Zunächst wurden Xanthanlösungen in saurer und basischer Pufferlösung bei pH-Werten von ca. 3,5 bzw. 9,5 untersucht. Messungen des Zetapotentials ergaben jedoch bei beiden Lösungen nur geringe Änderungen im Vergleich zu den neutralen Proben. Bei den vorherigen Messungen (Kapitel 4.5) konnte an den negativen Zetapotentialen abgelesen werden, dass die Kohlenhydrate schon bei neutralem pH-Wert deprotoniert vorliegen. Eine weitere Erhöhung des pH-Wertes bringt also nur noch geringe Änderungen des Zetapotentials mit sich. Der geringe Unterschied bei saurer Umgebung ist vermutlich auf die nicht ausreichende Säurestärke in der Lösung zurückzuführen. Als Vergleich können die Säurekonstanten von Brenztraubensäure (pK_S = 2,49), aus denen die Pyruvatgruppen hervorgehen, und Glucuronsäure (pK_S = 3,18) dienen. Diese pH-Werte müssen zur vollständigen Protonierung der Carboxygruppen unterschritten werden. Es zeigt sich, dass ein gemessener pH-Wert von 3,5 noch nicht ausreicht. Ein weiteres Problem für die nachfolgenden Analysen stellte der hohe Gehalt der Pufferlösungen an zusätzlichen Salzen dar. Wie in Kapitel 0 gezeigt, hängt die Größe und Flexibilität der Ketten stark von der vorliegenden Salzkonzentration ab. Hier musste also eine andere Methode gefunden werden, die pH-Abhängigkeit bei bekannten und reproduzierbaren Bedingungen zu untersuchen.

Die Lichtstreumessungen bei hohem pH-Wert fanden nun in 0,1 molarer Natriumhydroxid- (NaOH-) Lösung statt. Somit ist der Kationengehalt auf ein bekanntes und konstantes Maß festgesetzt und die Messwerte aus den Lichtstreuuntersuchungen sind vergleichbar mit denen aus Kapitel 4.7. Die von den Messungen in NaCl-Lösung abweichenden Anionen sollten keinen Einfluss auf das Ergebnis haben. Erhalten wurden so pH-Werte zwischen 12 und 13. Für den sauren Bereich wurden die Lösungen analog zu den üblichen Messungen in Wasser gelöst und mit konzentrierter NaCl-Lösung auf 0,5 g/L Polymerkonzentration und 0,1 mol/L Salzgehalt verdünnt. Anschließend wurde mit 1 M HCl-Lösung der pH-Wert auf etwa 2 eingestellt. Auch hier bleibt die Kationenkonzentration (unabhängig von den zugegebenen Protonen) konstant, nur kommt es zu einer vernachlässigbaren Verdünnung der Probe durch die Zugabe der Säure. Die höhere Anionenkonzentration sollte auch hier keine Rolle spielen. Die nachfolgenden Lichtstreumessungen wurden an diesen Proben durchgeführt.

Von der Messung des Zetapotentials der so angefertigten Lösungen musste jedoch abgesehen werden. Die hohe Salzkonzentration führte zu einer zu großen Leitfähigkeit, sodass die Messungen entweder nicht durchgeführt werden konnten oder die Ergebnisse nicht reproduzierbar waren. Für die Messung des Zetapotentials wurde hier also nur der pH-Wert durch Zugabe von HCl- bzw. NaOH-Lösung auf den gewünschten Wert eingestellt und auf eine genau definierte Salzkonzentration

verzichtet. Auch wurde analog zu den Messungen in Kapitel 4.5 die Xanthankonzentration (unter Vernachlässigung der Verdünnung durch Zugabe von Saure bzw. Lauge) auf 1,9 g/L festgesetzt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 39 aufgetragen.

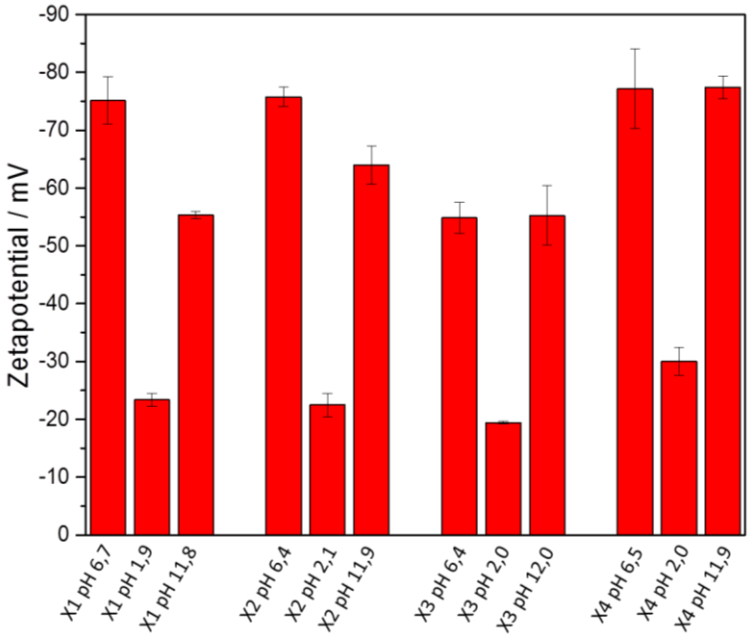

Abbildung 39: Zetapotential der vier Xanthanproben bei neutralem pH-Wert (Messung in 1 mM KCl-Lösung), bei niedrigem pH-Wert (Messung in Wasser, angesäuert mit HCl) und bei hohem pH-Wert (Messung in Wasser nach Zugabe von NaOH).

Alle vier Xanthane zeigen ein ähnliches Verhalten gegenüber dem Zetapotential. Die Unterschiede zwischen den neutralen und basischen Lösungen sind nur gering. Wie oben erwähnt, sind hier ähnliche Werte zu erwarten, da die Ladung der Ketten sich bei Zugabe einer Base nicht ändern sollte. Die Abweichungen kommen vermutlich durch experimentelle Fehler zustande. Die Fehlerbereiche kennzeichnen auch hier nur die Standardabweichung aus drei Messungen derselben Probe. Die eingestellten pH-Werte der angesäuerten Proben liegen unterhalb der pK_S-Werte beider Vergleichssäuren (siehe oben), hier wird also eine Protonierung der Carboxygruppen und eine Abnahme der negative Ladung erwartet. Die Messwerte liegen tatsächlich sehr viel höher (weniger negativ) als bei neutralem pH-Wert, sodass hier von erfolgter Protonierung ausgegangen werden kann.

4.9.2. Bestimmung der hydrodynamischen und Trägheitsradien bei verschiedenen pH-Werten

In Abbildung 40 sind die über den CONTIN-Algorithmus bestimmten Relaxationszeitenverteilungen im Streuwinkel von 90° für alle vier Xanthanproben bei neutralem, basischem und saurem pH-Wert gezeigt.

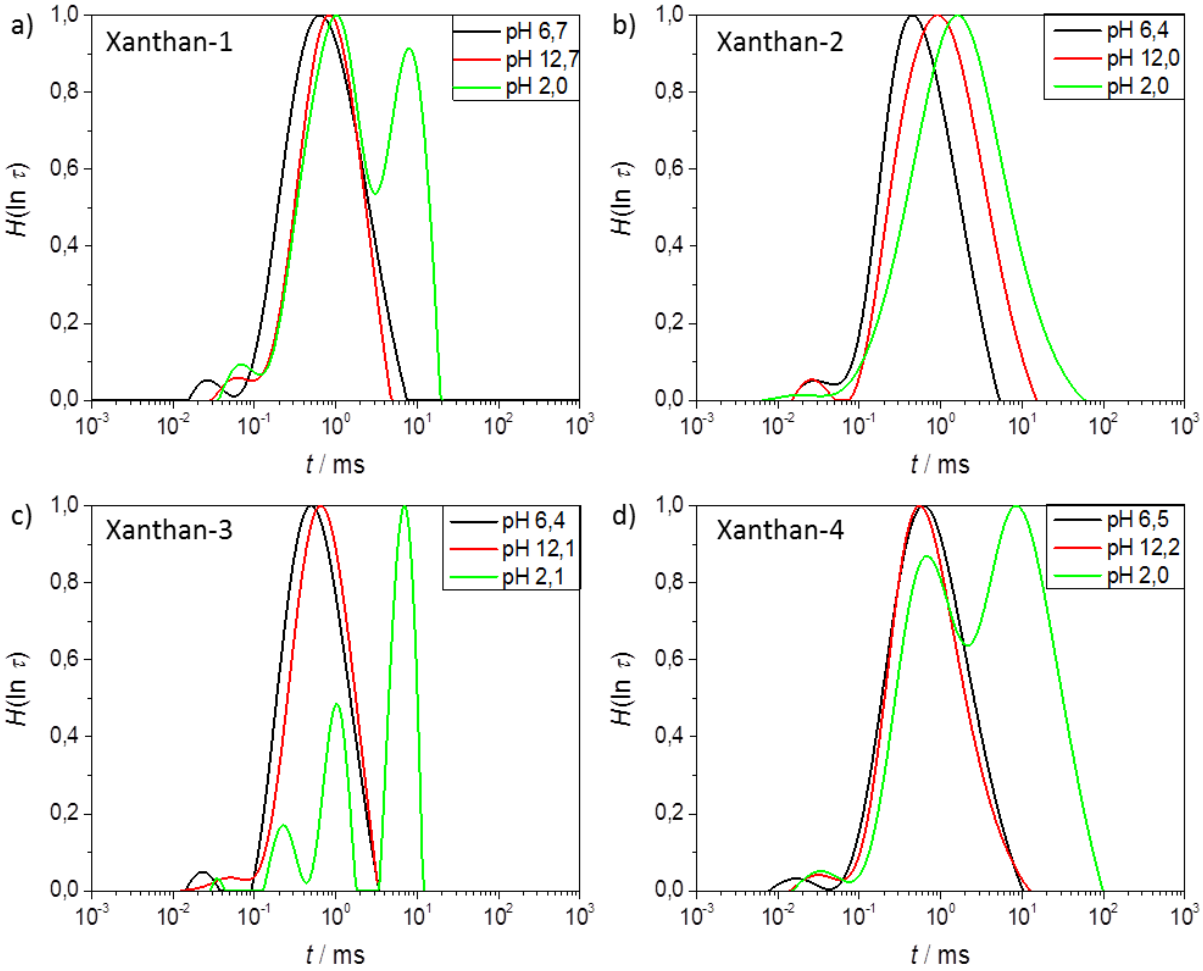

Abbildung 40: Über den CONTIN-Algorithmus bestimmte Relaxationszeitenverteilungen *H*(ln τ) von a) Xanthan-1, b) Xanthan-2, c) Xanthan-3 und d) Xanthan-4 bei unterschiedlichen pH-Werten: Messung bei neutralem pH in 0,1 M NaCl-Lösung, bei hohem pH-Wert in 0,1 M NaOH-Lösung und bei niedrigem pH-Wert in mit HCl angesäuerter 0,1 M NaCl-Lösung. Messung bei einem Streuwinkel von 90°, Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

Die DLS-Messungen aller vier Xanthanproben bei niedrigem pH-Wert um 2 zeigen – ähnlich wie in rein wässriger Lösung – sehr breite Relaxationszeitenverteilungen und Aggregationserscheinungen. Die Bestimmung hydrodynamischer Radien über eine winkelabhängige Extrapolation ist aus diesem Grund nicht aussagekräftig durchzuführen, daher wird darauf verzichtet. Die Verteilungen bei hohem pH-Wert um 12 ähneln denen bei neuralem pH-Wert.

Die Aggregation im Sauren verhindert auch die aussagekräftige Auswertung von SLS-Messungen. Diese wurden daher nur in basischer Lösung durchgeführt. Die resultierenden Zimm-Auftragungen aller vier Xanthane bei hohen pH-Werten sind im Vergleich zu denen in neutraler Lösung (siehe auch Abbildung 25) in Abbildung 41 gezeigt.

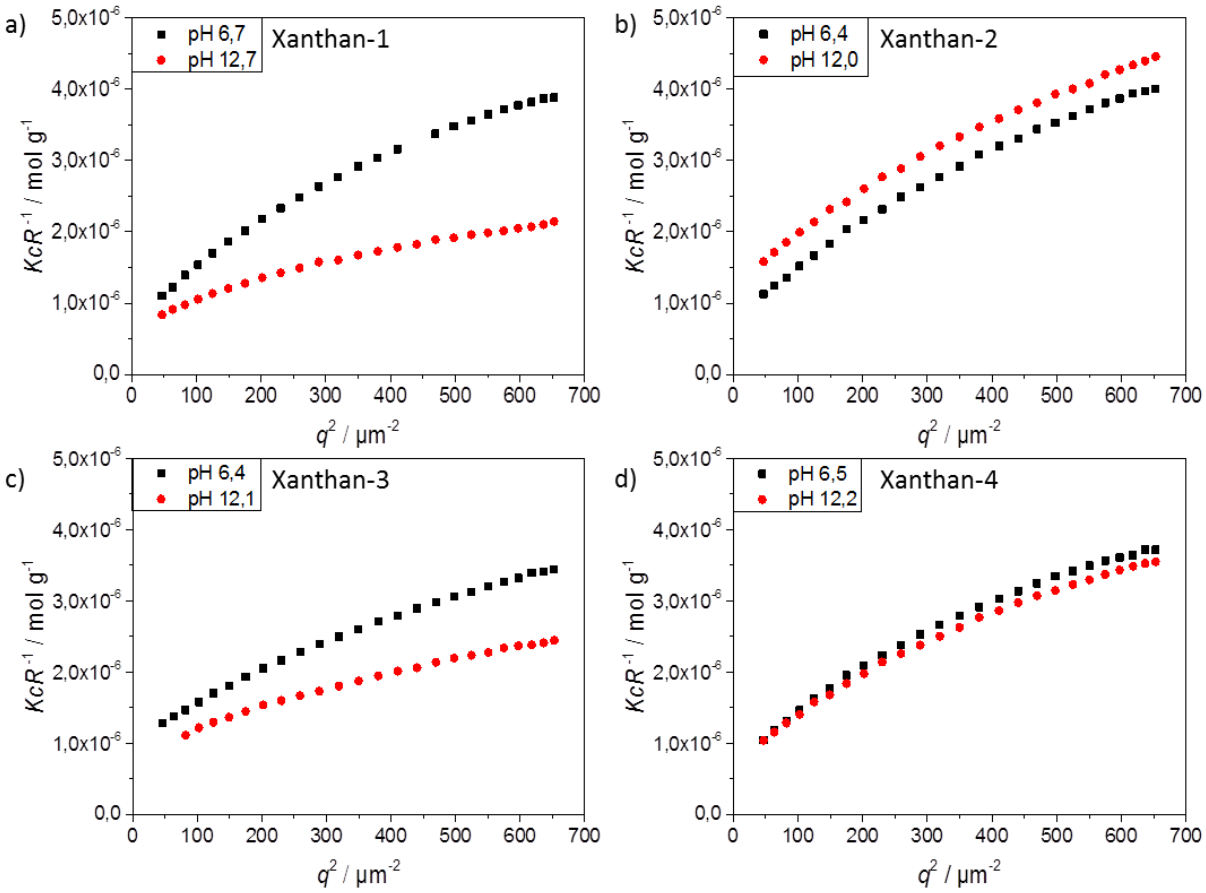

Abbildung 41: Zimm-Auftragungen von a) Xanthan-1, b) Xanthan-2, c) Xanthan-3 und d) Xanthan-4 bei unterschiedlichen pH-Werten: Messung bei neutralem pH-Wert in 0,1 M NaCl-Lösung und bei hohem pH-Wert in 0,1 M NaOH-Lösung. Polymerkonzentration 0,5 g/L, Filter: 0,45 µm HA, 20 °C.

Teilweise weicht der Verlauf der Kurven bei hohem pH-Wert von dem in neutraler Lösung ab. Vor allem bei Xanthan-1, aber auch bei Xanthan-3 ist eine flachere Steigung zu erkennen. Die aus der Anfangssteigung der Kurven ermittelten Trägheitsradien sind zusammen mit den hydrodynamischen Radien bei neutralem und hohem pH-Wert in Abbildung 42 gegenübergestellt.

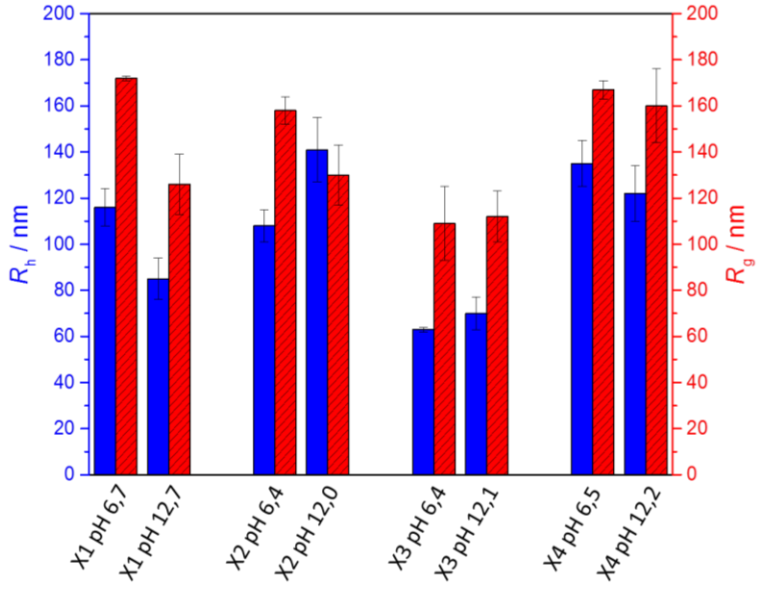

Abbildung 42: Hydrodynamische Radien (blau) und Trägheitsradien (rot schraffiert) der vier Xanthanproben bei verschiedenen pH-Werten in 0,1 molarer Salzlösung.

Zu erkennen ist bei Xanthan-3 und -4, dass sowohl die hydrodynamischen als auch die Trägheitsradien in neutraler und basischer Umgebung innerhalb des Fehlerbereichs übereinstimmen. Hier kann also kein Unterschied in der Größe gefunden werden. Xanthan-2 zeigt in basischer Lösung leicht höhere hydrodynamische und leicht niedrigere Trägheitsradien. Bei Xanthan-1 sind beide Radien bei erhöhtem pH-Wert deutlich kleiner. Eine Wiederholungsmessung bestätigt diesen Trend. Es kann dennoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Abweichungen nur aufgrund von Messfehlern zustande kommen.

4.9.3. Analyse der Kettensteifheit der vier Xanthane bei verschiedenen pH-Werten mithilfe von Holtzer-Auftragungen

Die Analyse der Kettensteifheit erfolgt wie in den vorherigen Kapiteln über die Auswertung der aus der statischen Lichtstreuung zugänglichen Holtzer-Auftragungen. Diese sind in Abbildung 43 für alle vier Xanthane bei neutralem und erhöhtem pH-Wert gezeigt.

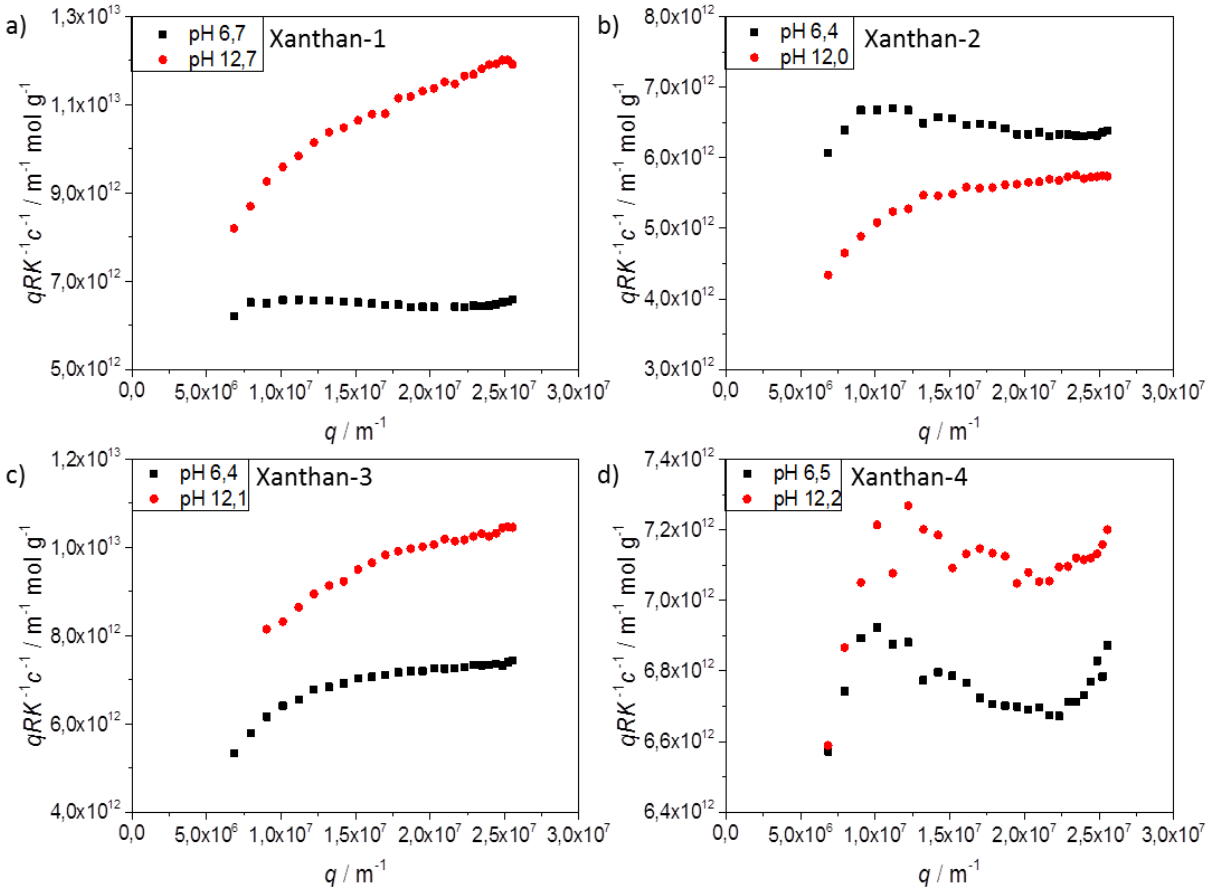

Abbildung 43: Holtzer-Auftragungen von a) Xanthan-1, b) Xanthan-2, c) Xanthan-3 und d) Xanthan-4 bei unterschiedlichen pH-Werten: Messung bei neutralem pH-Wert in 0,1 M NaCl-Lösung und bei hohem pH-Wert in 0,1 M NaOH-Lösung.

In den Holtzer-Auftragungen ist der gleiche Trend zu erkennen wie an den Radien. Xanthan-3 und -4 zeigen in basischer und in neutraler Lösung einen sehr ähnlichen Verlauf. Die stetige Steigung beider Kurven von Xanthan-3 deutet auf steifes Verhalten in Lösung unabhängig vom pH-Wert hin. Der Verlauf der Kurven bei Xanthan-4 zeigt semiflexibles Verhalten in beiden pH-Bereichen. Der Anstieg der Kurven bei hohen Winkeln kann erneut mit der Polydispersität begründet werden. Xanthan-1 und -2 zeigen, genau wie die gemessenen Radien, abweichendes Verhalten bei hohem pH-Wert. Beide Xanthane weisen eine stetige Steigung bei pH 12,7 bzw. 12,0 auf, was auf ein steifes Verhalten analog Xanthan-3 schließen lässt. Das semiflexible Verhalten der beiden Proben bei neutralem pH-Wert ist nicht mehr zu erkennen.

4.9.4. Zusammenfassung und Erklärung des Verhaltens bei unterschiedlichem pH-Wert

Der Einfluss des pH-Wertes auf Größe und Kettensteifheit der Xanthane wurde mittels Lichtstreuung untersucht. Basische Proben mit pH-Werten um 12 und saure Proben mit pH-Werten um 2 wurden mit den neutralen, nicht pH-eingestellten Proben verglichen. Zu erwarten ist ähnliches Verhalten im basischen Bereich, da die Carboxygruppen schon bei neutralem pH-Wert deprotoniert vorliegen. Ein saurer pH-Wert hingegen sollte zur Protonierung und sich ändernden Eigenschaften führen. Werden pK_S-Werte der carboxyfunktionalisierten Polymere mit dem pH-Wert unterschritten, kann eine starke Aggregationstendenz in der dynamischen Lichtstreuung beobachtet werden. An den sauren Lösungen ist es dadurch nicht möglich, aussagekräftige statische Lichtstreuung durchzuführen, geschweige denn hydrodynamische oder Trägheitsradien zu ermitteln. Die Aggregation ist vermutlich Folge der sich ausbildenden Wasserstoffbrücken zwischen den einzelnen Säuregruppen. Bei höherer Polymerkonzentration wäre so auch Vernetzung oder ein Ausfallen der Probe denkbar.

Die weitere Analytik musste sich auf den Vergleich der basischen mit den neutralen Proben beschränken. Die Radien liegen jeweils im ähnlichen Bereich, Xanthan-1 und -2 weisen allerdings geringe Unterschiede auf. Abweichungen dieser beiden Proben können auch in den Holtzer-Auftragungen gefunden werden. Bei Xanthan-1 sind beide Radien etwas niedriger als bei neutralem pH-Wert. Eine starke Versteifung der Ketten im Basischen ist zu beobachten. Xanthan-2 weist dort einen leicht höheren hydrodynamischen, aber einen geringeren Trägheitsradius als im Neutralen auf. Auch hier nimmt die Kettensteifheit deutlich zu. Die Radien und die Kettensteifheit von Xanthan-3 und -4 scheinen unabhängig von dem pH-Wert, zumindest in dem untersuchten Bereich, zu sein. Da das abweichende Verhalten von Xanthan-1 und -2 der Erwartung widerspricht, wurden die Messungen dieser beiden Proben mit neu angesetzten Lösungen wiederholt. Dabei konnten die Ergebnisse reproduziert werden. Messfehler können zwar nicht ausgeschlossen werden, sind vor allem bei der Analyse der Kettensteifheit jedoch unwahrscheinlich.

Eine zufriedenstellende Erklärung für dieses Verhalten kann hier nicht gegeben werden. Die bisherigen Ergebnisse zeigen ein sehr ähnliches Verhalten für Xanthan-1, -2 und -4. So ist es nicht ergründbar, warum Unterschiede in der pH-Abhängigkeit innerhalb dieser Proben auftreten. Die unterschiedliche Pyruvatsubstitution hat scheinbar keinen Einfluss auf das Ergebnis, da sich Xanthan-3 nicht anders verhält als die anderen Proben. Auch der Acetatgehalt spielt anscheinend keine Rolle, da das nahezu acetatfreie Xanthan-2 nicht als einzige Probe ein abweichendes Verhalten zeigt. Eine eventuelle Spaltung der Ketale sollte, wenn überhaupt, nur säurekatalysiert erfolgen. Eine Abspaltung der Acetatgruppe wäre theoretisch sowohl im sauren als auch im basischen Milieu denkbar. Dies lässt sich mittels Lichtstreuung jedoch nicht nachweisen. Beobachtet werden konnten eventuelle Spaltungen im Sauren auch aufgrund der intermolekularen Assoziation nicht. Möglicherweise überdeckt dieser Prozess die Spaltung der funktionellen Gruppen. Die hier durchgeführten Lichtstreumessungen lassen also keine weiteren Aussagen über die Stabilität der Ketten oder der funktionellen Gruppen zu. Somit kann die Säuren- oder Basenstabilität auch nicht zur Erklärung des beobachteten Verhaltens bei hohem und niedrigem pH-Wert beitragen.

5. Zusammenfassung und Ausblick

In Tabelle 12 sind die wichtigsten der im Rahmen dieser Masterarbeit erhaltenen Ergebnisse aller vier Xanthane gegenübergestellt.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Ergebnisse zum Vergleich der vier Xanthane.

	Xanthan-1	**Xanthan-2**	**Xanthan-3**	**Xanthan-4**
M_w / g mol^{-1}	$1{,}35 \cdot 10^6$	$1{,}68 \cdot 10^6$	$1{,}08 \cdot 10^6$	$1{,}37 \cdot 10^6$
R_h (0,1 M Na^+ / K^+)	ca. 115 nm	ca. 110 nm	ca. 60 nm	ca. 125 nm
R_g (0,1 M Na^+ / K^+)	ca. 170 nm	ca. 160 nm	ca. 120 nm	ca. 170 nm
Kettensteifheit (0,1 M Na^+ / K^+)	semiflexibel	semiflexibel	steif	semiflexibel
Ca^{2+}	großer Einfluss → deutlich größere Radien	großer Einfluss → deutlich größere Radien	kleiner Einfluss → wenig größere Radien	großer Einfluss → deutlich größere Radien
Acetatgehalt	mittel	sehr niedrig	mittel	mittel
negative Ladung / Pyruvatgehalt	mittel	mittel	etwas niedriger	mittel
Verhalten bei niedrigerer Salzkonzentration	R_h, R_g sinken; Kette wird steifer	keine Daten, vermutlich analog Xanthan-1	R_h, R_g sinken; keine Änderung der Flexibilität erkennbar	keine Daten, vermutlich analog Xanthan-1
Verhalten bei höherer Salzkonzentration	R_h, R_g steigen; Kette wird flexibler	keine Daten, vermutlich analog Xanthan-1	R_h, R_g steigen; Kette minimal flexibler	keine Daten, vermutlich analog Xanthan-1
Verhalten bei pH 2	breite Verteilung, Aggregation	breite Verteilung, Aggregation	breite Verteilung, Aggregation	breite Verteilung, Aggregation
Verhalten bei pH 12	R_h, R_g etwas kleiner, Kette wird steifer	geringe Änderung von R_h, R_g, Kette wird steifer	keine Änderung von R_h, R_g und der Kettensteifheit	keine Änderung von R_h, R_g und der Kettensteifheit

In der vorliegenden Masterarbeit wurden vier Xanthane hinsichtlich ihrer Struktur und ihres Verhaltens in Lösung untersucht. NMR-Analysen wurden durchgeführt, um Unterschiede in der Primärstruktur zwischen den einzelnen Proben zu analysieren. Dabei wurde gezeigt, dass Xanthan-2 weitestgehend acetatfrei ist und Xanthan-3 einen niedrigeren Pyruvatanteil aufweist. Der niedrigere Pyruvatgehalt sollte bei neutralem pH-Wert in einer weniger starken negativen Ladung resultieren, was über Zetapotential-Messungen bestätigt wurde. Die Unterschiede in der Pyruvatsubstitution und damit in der Ladung der Ketten stellten sich bei der Auswertung der nachfolgenden Lichtstreuuntersuchungen als essentiell heraus. Der Acetatgehalt der Xanthane scheint im Gegensatz dazu keinen Einfluss auf das Verhalten in Lösung zu haben. Die acetatfreie Probe zeigt keinerlei Auffälligkeiten, die darauf hindeuten könnten. In reinem Wasser kam es wie für anionische Polyelektrolyte zu erwarten zu starker intermolekularer Aggregation. Aussagekräftige Ergebnisse aus der Lichtstreuung konnten daher nur in salzhaltiger Lösung erzielt werden.

Bei den Untersuchungen stellte sich heraus, dass die hydrodynamischen und Trägheitsradien sowohl von der Art des Salzes abhängen, als auch von der Salzkonzentration. Gleiches gilt auch für die Flexibilität der Xanthanketten in Lösung. Werden die Ergebnisse aus den einzelnen Messungen zusammengetragen, lassen sich mögliche Sekundärstrukturen in Salzlösung vorschlagen. So wird vermutet, dass Einzelmoleküle nur bei sehr geringer Salzkonzentration vorliegen und es bei steigendem Salzgehalt zu intermolekularer Assoziation kommt. Dabei erfolgt der Übergang vom Auflösen der Aggregate in reinem Wasser durch Salzzugabe bis zum Beginn der Assoziation durch Vernetzung über die Kationen anscheinend sehr schnell. Zweiwertige Salze zeigen bei allen Salzkonzentrationen Verbrückungen über die Carboxygruppen mehrerer Ketten. Messungen der apparenten Molekulargewichte bei verschiedenen Salzgehalten könnten diese Theorie in Zukunft noch bekräftigen.

Über die konkrete Form der Polymere in Lösung können ebenfalls nur Vermutungen geäußert werden. Die Sekundärstruktur scheint von der Kettenladung abhängig zu sein. Schon geringe Unterschiede im Pyruvatgehalt reichen demnach aus, um zu einer drastischen Formänderung zu führen. Die vorliegenden Ergebnisse lassen den Schluss zu, die höher pyruvatsubstituierten Proben als semiflexible Einzelhelix und die Xanthane mit geringerem Pyruvatgehalt als steife intramolekulare, also gefaltete, Doppelhelix zu bezeichnen.

Die vorliegende Masterarbeit sollte nicht nur zeigen, durch Untersuchung der Primärstruktur die Sekundärstruktur deuten zu können. Umgekehrt soll es auch ermöglicht werden, aus dem Verhalten in Lösung Rückschlüsse auf die Unterschiede auf molekularer Ebene zu ziehen. Werden die makroskopisch messbaren Daten mit den Untersuchungen aus der Lichtstreuung kombiniert, sind Schlussfolgerungen auf die Primärstruktur möglich. Xanthanproben, die eine große Kettensteifheit und trotz ähnlichen Molekulargewichten geringere Radien aufweisen, können als weniger pyruvatsubstituiert angesehen werden. Dies äußert sich auch in einer geringeren Viskosität, was bei Messungen der Jungbunzlauer Ladenburg GmbH festgestellt werden konnte. Aussagen alleine aus Lichtstreumessungen lassen sich über die Acetatsubstitution hingegen nicht treffen. Deren Einfluss auf die Struktur ist hier nicht zu erkennen, da sich keine signifikanten Ladungsänderungen einstellen. Zu vermuten wäre eine veränderte Säurestabilität des acetatfreien Xanthans, da es in dem Fall nicht zu einer zusätzlichen Abspaltung der Acetatgruppen über die Zeit kommen sollte. Allerdings kann dies mit Lichtstreumessungen allein nicht verifiziert werden.

Weiterführend zu überprüfen wäre, inwiefern sich die hier vorgeschlagenen Strukturen mit den Ergebnissen aus anderen Messungen in Einklang bringen lassen. Mikroskopische Untersuchungen könnten die Theorie möglicherweise unterstützen oder widerlegen. TEM- oder SEM- Aufnahmen könnten eventuell neben der Form auch Aussagen über Länge oder Durchmesser dieser wahrscheinlich stäbchenförmigen Moleküle ermöglichen. Allerdings müssen die Proben im Normalfall dazu getrocknet werden, sodass die Form in Lösung offen bleibt. Die Bildung von Salzkristallen kann auch die Analyse in salzhaltiger Lösung erschweren. Um diese Probleme zu umgehen, würde sich *cryo*-TEM anbieten, bei der die Struktur in Lösung fixiert wird. Auch Flüssig-AFM wäre eine alternative bildgebende Methode. Ergebnisse aus Viskositäts- oder Rheologieuntersuchungen könnten weiterhin mit den hier präsentierten Ergebnissen verglichen und in den Zusammenhang gestellt werden. Zur Überprüfung der Theorie, dass die Eigenschaften der Xanthane vom Pyruvatgehalt abhängen, wäre es wünschenswert, weitere, vor allem auch komplett pyruvatfreie Proben zu analysieren. Darüber hinaus könnten weiterführende Studien interessant werden, die sich mit dem Verhalten von Xanthanen in Kombination mit anderen Substanzen beschäftigen.

Abkürzungsverzeichnis

A_2	zweiter Virialkoeffizient
AFM	Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy)
c	Konzentration
$C(q,t)$, $C(q,\tau)$	Amplitudenautokorrelationsfunktion
d	Durchmesser
D, D_s	Selbstdiffusionskoeffizient
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMS	Dimethylsulfon
$\mathrm{d}n/\mathrm{d}c$	Brechungsindexinkrement
DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
$\vec{E}$	Elektrischer Feldvektor
$G(q,t)$, $G(q,\tau)$	Intensitätsautokorrelationsfunktion
GPC	Gelpermeationschromatographie
GPC-MALS	Gelpermeationschromatographie-Multi Angle Light Scattering
$H(\ln \tau)$	Relaxationszeitenverteilung
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
I	Streuintensität
$\vec{k}$	Wellenvektor
K	Kontrastfaktor
$\vec{m}$	Elektrisches Dipolmoment
M	Molekulargewicht
M_n	Zahlenmittel des Molekulargewichts
M_w	Gewichtsmittel des Molekulargewichts
n	Brechungsindex
N	Anzahl der Teilchen im Detektionsvolumen

NMR	Kernmagnetische Resonanzspektroskopie (Nuclear Magnetic Resonance)
$P(q)$	Partikelformfaktor
PDI	Polydispersitätsindex
PS	Polystyrol
q	Streuvektor
$R(q)$	Rayleigh-Verhältnis
R_g	z-gemittelter Trägheitsradius
$\langle 1/R_h \rangle_z^{-1}$, R_h	z-gemittelter hydrodynamischer Radius
SEM	Rasterelektronenmikroskopie (Scanning Electron Microscopy)
SLS	Statische Lichtstreuung
t	Zeit
T	Temperatur
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
THF	Tetrahydrofuran
U_e	elektrophoretische Mobilität
V	Streuvolumen
X	Xanthan
α	Polarisierbarkeit
δ	Chemische Verschiebung
ε	Dielektrische Permittivität
η	Viskosität
θ	Streuwinkel
λ	Wellenlänge
ν	Frequenz
ρ	Strukturparameter
τ	Relaxationszeit
Γ	Relaxationsrate
ζ	Zetapotential

Quellenverzeichnis

1. Sandford, P. A.; Laskin, A., *Extracellular Microbial Polysaccharides*. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: 1977; Vol. 45, p 340.

2. Jeanes, A.; Pittsley, J. E.; Senti, F. R., Polysaccharide B-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation. *Journal of Applied Polymer Science* **1961,** *5* (17), 519-526.

3. Rinaudo, M.; Milas, M., Polyelectroyte behavior of a bacterial polysaccharide from Xanthomonas campestris: Comparison with carboxymethylcellulose. *Biopolymers* **1978,** *17* (11), 2663-2678.

4. Lambert, F.; Rinaudo, M., On the thermal stability of xanthan gum. *Polymer* **1985,** *26* (10), 1549-1553.

5. Kierulf, C.; Sutherland, I. W., Thermal stability of xanthan preparations. *Carbohydrate Polymers* **1988,** *9* (3), 185-194.

6. Kennedy, J. F.; Bradshaw, I. J., Production, properties and applications of xanthan. *Prog Ind Microbiol* **1984,** *19*, 319-371.

7. García-Ochoa, F.; Santos, V. E.; Casas, J. A.; Gómez, E., Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances* **2000,** *18* (7), 549-579.

8. Becker, A.; Katzen, F.; Pühler, A.; Ielpi, L., Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Applied Microbiology and Biotechnology* **1998,** *50* (2), 145-152.

9. Jansson, P.-e.; Kenne, L.; Lindberg, B., Structure of the extracellular polysaccharide from xanthomonas campestris. *Carbohydrate Research* **1975,** *45* (1), 275-282.

10. Melton, L. D.; Mindt, L.; Rees, D. A., Covalent structure of the extracellular polysaccharide from Xanthomonas campestris: evidence from partial hydrolysis studies. *Carbohydrate Research* **1976,** *46* (2), 245-257.

11. Cadmus, M. C.; Knutson, C. A.; Lagoda, A. A.; Pittsley, J. E.; Burton, K. A., Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. *Biotechnology and Bioengineering* **1978,** *20* (7), 1003-1014.

12. Cadmus, M. C.; Rogovin, S. P.; Burton, K. A.; Pittsley, J. E.; Knutson, C. A.; Jeanes, A., Colonial variation in Xanthomonas campestris NRRL B-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain. *Canadian Journal of Microbiology* **1976,** *22* (7), 942-948.

13. Sutherland, I. W., Xanthomonas polysaccharides — Improved methods for their comparison. *Carbohydrate Polymers* **1981,** *1* (2), 107-115.

14. Sandford, P. A.; Watson, P. R.; Knutson, C. A., Separation of xanthan gums of differing pyruvate content by fractional precipitation with alcohol. *Carbohydrate Research* **1978,** *63*, 253-256.

15. Paoletti, S.; Cesàro, A.; Delben, F., Thermally induced conformational transition of xanthan polyelectrolyte. *Carbohydrate Research* **1983,** *123* (1), 173-178.

16. Coviello, T.; Kajiwara, K.; Burchard, W.; Dentini, M.; Crescenzi, V., Solution properties of xanthan. 1. Dynamic and static light scattering from native and modified xanthans in dilute solutions. *Macromolecules* **1986,** *19* (11), 2826-2831.

17. Hacche, L. S.; Washington, G. E.; Brant, D. A., Light-scattering investigation of the temperature-driven conformation change in xanthan. *Macromolecules* **1987,** *20* (9), 2179-2187.

18. Rochefort, W. E.; Middleman, S., Rheology of Xanthan Gum: Salt, Temperature, and Strain Effects in Oscillatory and Steady Shear Experiments. *Journal of Rheology* **1987,** *31* (4), 331-369.

19. Morris, E. R.; Rees, D. A.; Young, G.; Walkinshaw, M. D.; Darke, A., 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* **1977,** *110* (1), 1-16.

20. Southwick, J. G.; McDonnell, M. E.; Jamieson, A. M.; Blackwell, J., Solution Studies of Xanthan Gum Employing Quasielastic Light Scattering. *Macromolecules* **1979,** *12* (2), 305-311.

21. Moorhouse, R.; Walkinshaw, M. D.; Arnott, S., Xanthan Gum—Molecular Conformation and Interactions. In *Extracellular Microbial Polysaccharides*, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: 1977; Vol. 45, pp 90-102.

22. Okuyama, K.; Arnott, S.; Moorhouse, R.; Walkinshaw, M. D.; Atkins, E. D. T.; Wolf-Ullish, C. H., Fiber Diffraction Studies of Bacterial Polysaccharides. In *Fiber Diffraction Methods*, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: 1980; Vol. 141, pp 411-427.

23. Stokke, B. T.; Elgsaeter, A.; Smidsrod, O., Electron microscopic study of single-and double-stranded xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules* **1986,** *8* (4), 217-225.

24. Sato, T.; Norisuye, T.; Fujita, H., Double-stranded helix of xanthan in dilute-solution - evidence from light-scattering. *Polymer Journal* **1984,** *16* (4), 341-350.

25. Paradossi, G.; Brant, D. A., Light scattering study of a series of xanthan fractions in aqueous solution. *Macromolecules* **1982,** *15* (3), 874-879.

26. Berth, G.; Dautzenberg, H.; Christensen, B. E.; Harding, S. E.; Rother, G.; Smidsrød, O., Static Light Scattering Studies on Xanthan in Aqueous Solutions. *Macromolecules* **1996,** *29* (10), 3491-3498.

27. Gamini, A.; Mandel, M., Physicochemical properties of aqueous xanthan solutions: Static light scattering. *Biopolymers* **1994,** *34* (6), 783-797.

28. Milas, M.; Reed, W. F.; Printz, S., Conformations and flexibility of native and re-natured xanthan in aqueous solutions. *International Journal of Biological Macromolecules* **1996,** *18* (3), 211-221.

29. Sato, T.; Norisuye, T.; Fujita, H., Double-stranded helix of xanthan: dimensional and hydrodynamic properties in 0.1 M aqueous sodium chloride. *Macromolecules* **1984,** *17* (12), 2696-2700.

30. Milas, M.; Rinaudo, M., Properties of xanthan gum in aqueous solutions: Role of the conformational transition. *Carbohydrate Research* **1986,** *158*, 191-204.

31. Southwick, J. G.; Jamieson, A. M.; Blackwell, J., Quasi-elastic light scattering studies of semidilute xanthan solutions. *Macromolecules* **1981,** *14* (6), 1728-1732.

32. Meyer, E. L.; Fuller, G. G.; Clark, R. C.; Kulicke, W., Investigation of xanthan gum solution behavior under shear flow using rheooptical techniques. *Macromolecules* **1993,** *26* (3), 504-511.

33. Jamieson, A. M.; Southwick, J. G.; Blackwell, J., Dynamical behavior of xanthan polysaccharide in solution. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* **1982,** *20* (9), 1513-1524.

34. Cao, Z.; Zhang, G., Insight into dynamics of polyelectrolyte chains in salt-free solutions by laser light scattering and analytical ultracentrifugation. *Polymer* **2014,** *55* (26), 6789-6794.

35. Holzwarth, G., Conformation of the extracellular polysaccharide of Xanthomonas campestris. *Biochemistry* **1976,** *15* (19), 4333-4339.

36. Kitamura, S.; Takeo, K.; Kuge, T.; Stokke, B. T., Thermally induced conformational transition of double-stranded xanthan in aqueous salt solutions. *Biopolymers* **1991,** *31* (11), 1243-1255.

37. Smith, I. H.; Symes, K. C.; Lawson, C. J.; Morris, E. R., Influence of the pyruvate content of xanthan on macromolecular association in solution. *International Journal of Biological Macromolecules* **1981,** *3* (2), 129-134.

38. Holzwarth, G.; Ogletree, J., Pyruvate-free xanthan. *Carbohydrate Research* **1979,** *76* (1), 277-280.

39. Dentini, M.; Crescenzi, V.; Blasi, D., Conformational properties of xanthan derivatives in dilute aqueous solution. *International Journal of Biological Macromolecules* **1984,** *6* (2), 93-98.

40. Lambert, F.; Milas, M.; Rinaudo, M., Gel permeation chromatography of the xanthan gum using a light scattering detector. *Polymer Bulletin* **1982,** *7* (4), 185-189.

41. Milas, M.; Rinaudo, M.; Tinland, B., Comparative depolymerization of xanthan gum by ultrasonic and enzymic treatments. Rheological and structural properties. *Carbohydrate Polymers* **1986,** *6* (2), 95-107.

42. Rinaudo, M.; Milas, M.; Lambert, F.; Vincendon, M., Proton and carbon-13 NMR investigation of xanthan gum. *Macromolecules* **1983,** *16* (5), 816-819.

43. Kulicke, W.-M.; Otto, M.; Baar, A., Improved NMR characterization of high-molecular-weight polymers and polyelectrolytes through the use of preliminary ultrasonic degradation. *Die Makromolekulare Chemie* **1993,** *194* (3), 751-765.

44. Koetz, J.; Kosmella, S., *Polyelectrolytes and Nanoparticles*. Springer: Berlin, 2007.

45. Kratochvil, P., *Classical light scattering from polymer solutions*. Elsevier: Amsterdam, 1987.

46. Schärtl, W., *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions*. Springer: Berlin, 2007.

47. Zimm, B. H., The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions. *The Journal of Chemical Physics* **1948,** *16* (12), 1093-1099.

48. Holtzer, A., Interpretation of the angular distribution of the light scattered by a polydisperse system of rods. *Journal of Polymer Science* **1955,** *17* (85), 432-434.

49. Provencher, S. W., Inverse problems in polymer characterization: Direct analysis of polydispersity with photon correlation spectroscopy. *Die Makromolekulare Chemie* **1979,** *180* (1), 201-209.

50. Provencher, S. W., A constrained regularization method for inverting data represented by linear algebraic or integral equations. *Computer Physics Communications* **1982,** *27* (3), 213-227.

51. Provencher, S. W., CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations. *Computer Physics Communications* **1982,** *27* (3), 229-242.

52. Günther, H., *NMR Spectroscopy*. 3 ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2013.

53. Günzler, H.; Gremlich, H.-U., *IR-Spektroskopie - Eine Einführung*. 4 ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2003.

54. Mori, S. B., Howard G., *Size Exclusion Chromatography*. Springer: Berlin, 2010.

55. Hunter, R. J., *Zeta Potential in Colloid Science - Principles and Applications*. 1 ed.; Academic Press: London, 1988.

56. Thurmond, C. D., Control of dust in solution for turbidimetry. *Journal of Polymer Science* **1952,** *8* (6), 607-609.

57. Becker, A.; Köhler, W.; Müller, B., A Scanning Michelson Interferometer for the Measurement of the Concentration and Temperature Derivative of the Refractive Index of Liquids. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1995,** *99* (4), 600-608.