



Universität Hamburg

Fachbereich
Chemie

Institut für Technische und
Makromolekulare Chemie



Prof. Dr.-Ing. W.-M. Kulicke

PROF. KULICKE • INSTITUT für TECHNISCHE UND MAKROMOLEKULARE CHEMIE
UNIVERSITÄT HAMBURG • BUNDESSTRASSE 45 • 20146 HAMBURG

Fon/Anruf: 040-42838-6001/6002
Fon/Fax/Anruf 040-41 83 35

E-Mail: kulicke@chemie.uni-hamburg.de

Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft e.V.

Postfach 200452
53134 Bonn

Datum und Zeichen Ihres Schreibens
date and your reference

Unser Zeichen, unsere Nachricht vom
our reference, our letter dates

Ku/MK

Datum
date

15.06.2004

Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben

Projektleiter: Prof. Dr.-Ing W.-M. Kulicke

Sachbearbeiter: Dr. Matthias Knarr

1. Forschungsthema

B53/5: Aufbau und Erprobung einer Dehnströmapparatur zur Charakterisierung und Zerstörung von Glucangelen.

1.1 Problem und Aufgabenstellung

Bei der Bierherstellung liegt als Produkt der Gärung und Reifung im Tank getrübbtes Bier vor. Um die für den Verkauf benötigte klare Form zu erhalten wird das Unfiltrat durch einen Filtrationsprozess von Kolloiden und suspendierten Festkörpern getrennt. Insbesondere gelartige Kolloidstrukturen, die in der Lagerperiode bei tiefen Temperaturen unerwartet auftreten können, führen dabei zu einer erhöhten Verstopfungsrate der Poren der Filtermasse und setzen damit die Effektivität der Filter stark herab (Bamforth 1994). Die daraus resultierenden niedrigen Filterstandzeiten und

der erhöhte Verbrauch an Filtermaterial wie auch der verringerte Bierausstoß führen zu einer Erhöhung der Produktionskosten des Brauprozesses.

Die wesentlich für die Gelbildung im Unfiltrat des Bieres verantwortlichen Substanzen sind neben geringen Mengen anderer Polysaccharide vor allem die β -Glucane der Braugerste. Das im Endosperm der Braugerste vorhandene $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucan wird während des Maisch- und Brauvorganges nicht vollständig von den endogenen Enzymen der Gerste abgebaut. Die hochmolekularen Anteile des wasserlöslichen $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucans erhöhen dabei zunächst die Viskosität der Würze (Narziß, Reicheneder et al. 1989; Krüger, Wagner et al. 1991) und führen deshalb zu einer Verringerung der Extraktausbeute durch eine Behinderung des Enzymangriffs und einer Verringerung der Abläutergeschwindigkeit. Darüberhinaus kann die Assoziationsfähigkeit des $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucans zu der unerwünschten Bildung des Gels führen, das bei der abschließenden Filtration eine Verstopfung der Filter hervorruft.

Eine allgemeine erhöhte Gelbildungstendenz des $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucans soll durch einen hohen Stammwürzegehalt (Gjertsen 1966), einen hohen Alkoholgehalt (Gjertsen 1966; Martin and Bamforth 1980), niedrige Temperaturen (Wagner, Esser et al. 1988) und Scherkräfte (Letters 1977; Wagner, Esser et al. 1988; Krüger, Wagner et al. 1989), die bei Pump und Separationsvorgänge auftreten, verursacht werden. Durch Ultrafiltrationsexperimente konnten in den Glucangelen relativ hohe Molmassen bestimmt werden (Wagner, Esser et al. 1988). Insbesondere diesen hochmolekularen Anteilen des β -Glucans, der vor allem durch unzureichend Mälzungs und Maischprozess begünstigt werden, wird deshalb eine verstärkte Gelbildungstendenz zugesprochen (Narziß, Reicheneder et al. 1989; Narziß 1992; Esser 1994) während die niedermolekularen Anteile keinen Einfluss auf die Filtrierbarkeit haben sollen (Stewart, Hawthorne et al. 1998). Der Gesamtgehalt an $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucan in Würze und Bier kann demnach nicht direkt mit den Filtrationsproblemen korreliert werden (Krüger, Wagner et al. 1989; Wagner, He et al. 1991; Sudarmana, Goldsmith et al. 1996).

Über den eigentlichen Gelbildungsmechanismus des $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucans ist bislang wenig publiziert worden. Zwar wird in der Literatur die Auffassung vertreten, daß eine Assoziation der Glucanketten über bis zu 15 Einheiten lange celluloseartige β - $(1\rightarrow4)$ -verknüpfte Glucoseeinheiten erfolgt (Letters 1977; Woodward, Fincher et al. 1983; Letters, Byrne et al. 1985; Bamforth 1994), dieser Hypothese wird aber u.a. von Wood et al. und Izawa et al. (Izawa, Kano et al. 1993; Wood, Weisz et al. 1994) widersprochen.

Zu einem genauen Assoziationsmechanismus, der Gelkeimbildung, der Gelbildungskinetik sowie der Abhängigkeit dieser Größen von den molekularen Parametern der Lösung wie Konzentration, Molmasse und chemische Polymerkettenstruktur konnten bislang keine Angaben gefunden werden.

Ziel des Projektes war es deshalb, detaillierte Untersuchungen zum Gelbildungsmechanismus des $(1\rightarrow3)(1\rightarrow4)$ - β -D-Glucans verschiedener Molmassen und verschiedener Nativität und damit unterschiedlicher chemischer Struktur darzulegen, die mit Hilfe polymeranalytischer Untersuchungsmethoden genau charakterisiert werden sollten.

2 Ergebnisse der Untersuchungen

2.1 Scherinduzierte Gelierung

Unter normalen Umständen ist ein Bier stabil gegen eine spontane Gelierung des β -Glucananteils. Berichte über einen gelartigen Niederschlag im fertigen Gebinde sind dementsprechend selten und derartige "spontane" Gele, entstanden nach der finalen Bierfiltration, konnten im Rahmen des Projektes nicht untersucht werden. Durch gezielten Scherkrafteintrag können aber auch die relativ niedrigen β -Glucankonzentrationen des Bieres als Gel abgeschieden werden (Wagner, Esser et al. 1988; Krüger, Wagner et al. 1989). Durch extreme Scherströmfelder kann bis zu 50% des im Bier enthaltenen β -Glucans ausgeleiert werden. Das auf diese Weise aus einem normalen und hinsichtlich der Gelbildungstendenz als unproblematisch angesehenem Bier abgeschiedene β -Glucan zeigt mit 56.000 g/mol eine relativ geringe gewichtsmittlere Molmasse (siehe Tabelle (1)).

Tabelle (1) Zusammenstellung der polymeranalytischen Daten aller untersuchten Proben. Gewichtsmittlere Molmasse M_w , zahlenmittlere Molmasse M_n und Polydispersität M_w/M_n berechnet aus SEC/MALLS/DRI-Daten sowie Staudingerindex $[\eta]$ aus viskosimetrischen Daten.

Code	Herkunft	M_w (10^3 g/mol)	M_n (10^3 g/mol)	M_w/M_n	$[\eta]$ (cm^3/g)
<i>Gerstenglucane</i>					
GG375	aus Gerste isoliert	374	236	1,6	509
GG300	Megazyme	298	206	1,5	458
GG275	Megazyme, St.*	274	179	1,5	444
GG200	Megazyme, St.*	202	140	1,4	333
GG165	Megazyme	166	86	1,9	255
GG140	Megazyme, St.*	140	90	1,6	256
GG100	Megazyme	103	74	1,4	211
GG70	Ultraschall-Abbau GG100	72	47	1,5	172
GG50	Ultraschall-Abbau GG165	43	33	1,3	115
GGBiergel	aus geschertem Bier	56	36	1,6	n.b.
<i>Haferglucane</i>					
HG220	Megazyme	218	152	1,43	335
HG40	Ultraschall-Abbau HG220	40	32	1,25	n.b.
<i>Lichenan</i>					
LN55	Megazyme	55	32	1.72	n.b.

* St. = Standard

n.b. = nicht bestimmt

Eine andere Methode, die das β -Glucan aus der gleichen Bierprobe durch Ausfrieren isolierte (Böhm 1998), ergab eine ähnlich geringe gewichtsmittlere Molmasse, die im Rahmen der Messgenauigkeit der verwendeten Größenausschlußchromatographie (SEC) mit der der scherinduzierten Gelierung übereinstimmt. Direkt aus Gerste nach der Methode von McCleary (McCleary 1988) isolierte β -Glucane wiesen demgegenüber mit 374.000 g/mol eine wesentlich höhere Molmasse auf, die auch den hohen Molmassen der kommerziell erhältlichen, aus Gerste isolierten (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucanen entspricht. Auch in der Literatur wird diesen hochmolekularen Anteilen der (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucane das eigentliche Gelbildungspotential zugesprochen, während niedermolekulare Anteile mit Molmassen unterhalb 100.000 g/mol an der Gelierung nicht beteiligt sein sollen (Stewart, Hawthorne et al. 1998).

Zur Untersuchung des genauen Einflusses der Molmasse auf die scherinduzierte Gelbildung wurde deshalb ein Glucanstandard mit einer gewichtsmittleren Molmasse von 165.000 g/mol gewählt der mit einer Molmassenverteilung von $M_w/M_n = 1.9$ eine relativ breite Verteilung aufweist und dementsprechend das Spektrum der in realem Bier möglicherweise vorkommenden Glucananteile abdeckt. Die Konzentration von $c = 0.0025$ g/g entspricht damit ungefähr dem 5-fachen des durchschnittlich im Bier vorhandenen Glucans, liegt aber nach der Einstein'schen Korrelation von Staudingerindex $[\eta]$ und Raumerfüllung für sphärische Polymerknäule mit konstanter Dichte

$$c_{[\eta]}^* = 2.5 \cdot \frac{1}{[\eta]} \quad (1)$$

noch einen Faktor 5 unterhalb der kritischen Konzentration $c_{[\eta]}^*$ (siehe Tabelle (1)). Unterhalb der kritischen Konzentration liegen die Glucanpolymere räumlich getrennt vor, trotzdem kann aus der so präparierten Lösung das Glucan durch Scherkräfteintrag und einer Lagerperiode von 3 Wochen bei 5 °C nahezu quantitativ (Wiederfindungsrate 95%) ausgeliiert werden (Abbildung 1.). Die niedermolekularen Anteile des Glucans werden demnach vollständig mit in das Gel eingebunden. Ein Abbruch des Versuches vor Abschluss der quantitativen Gelierung nach 7 Tagen und ein Vergleich der Molmassenanteile in dem Gelkörper und dem Überstand durch Fraktionierung über Größenausschlusschromatographie (SEC) ist ebenfalls in der Abbildung 1. dargestellt. Danach enthält der Gelkörper der ersten Gelierphase nur die hochmolekularen Anteile (mit geringen Eluationszeiten), während die niedermolekularen Anteile erst in der Endphase der Gelierung an das Gel assoziiert werden. Eine scherinduzierte Gelierung wird demnach durch die hochmolekularen Anteile hervorgerufen. Eine bereits direkt nach der Scherung einsetzende Trübung läßt dabei auf eine durch die Scherung erzwungene Ausbildung von isolierten kolloidalen Assoziaten mit Größenordnungen im Bereich des sichtbaren Lichtes schließen, die in der Ruhephase der Gelierung als Keime für die Anlagerung der restlichen Glucanmoleküle dienen.

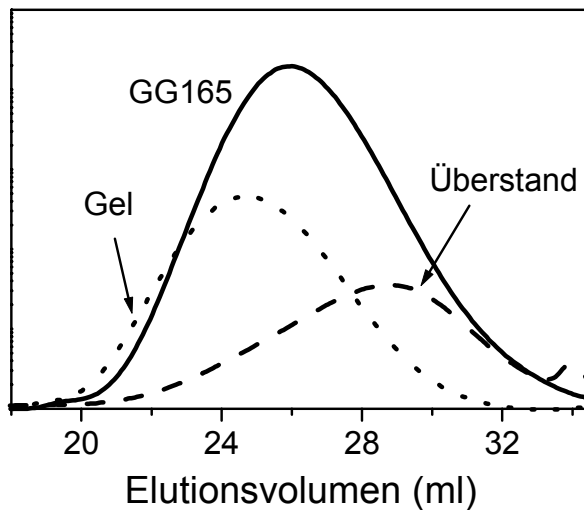


Abbildung 1 Elutionsdiagramme der Größenausschlußchromatographie (DRI-Signale) des Gerstenglucans GG165. Die hohen Molmassen eluieren als erstes. Die durchgezogene Kurve entspricht einer frisch präparierten Lösung. Die gepunktete Linie stellt das Signal eines Glucangels dar, das durch Scherung in einem Homogenisator (90 min) und durch 7 tägige Lagerung bei 4 °C aus einer Lösung von $c = 0.0025$ g/g in 5%iger ethanolischer Lösung ausgiert und anschließend in 85 °C warmen H₂O gelöst wird. Die gestrichelte Linie entspricht dem im Überstand gelösten Glucan der scherinduzierten Gelierung nach der Lagerperiode.

Auch ohne diese erzwungene Gelkeimbildung kann durch die Lagerzeit und die tiefen Temperaturen von 4 °C eine Gelierung hervorgerufen werden (Letters 1977). Allerdings setzt diese Methode eine Wartezeit von mehreren Wochen voraus (Wagner, Esser et al. 1990) und führt auch nur bei problematischen Bieren zu einer Gelbildung. Diese Beobachtungen legen nahe, dass β -Glucanlösungen allgemein in einem instabilen Zustand vorliegen, die Gelbildungskinetik nur sehr verlangsamt ist durch sehr geringe Zahl von möglichen Assoziationskontakten in einer gering konzentrierten Lösung. Unterstützt wird diese Annahme durch die Berichte einer kritischen Konzentration, oberhalb derer eine spontane Gelierung von hochmolekularem β -Glucans aus der Lösung erfolgt (Krüger, Wagner et al. 1989).

2.2 Gelbildungsgeschwindigkeit

Eine spontane Gelierung des β -Glucans aus einer höher konzentrierten Lösung konnte in der Tat beobachtet werden. In Abbildung 2. ist hierzu der frequenzabhängige Verlauf des Verlustmoduls G'' , des Speichermoduls G' und der komplexen Viskosität η^* eines rheologischen Schwingungsexperimentes für eine frisch präparierte und eine 72 h gelagerte β -Glucanlösung dargestellt.

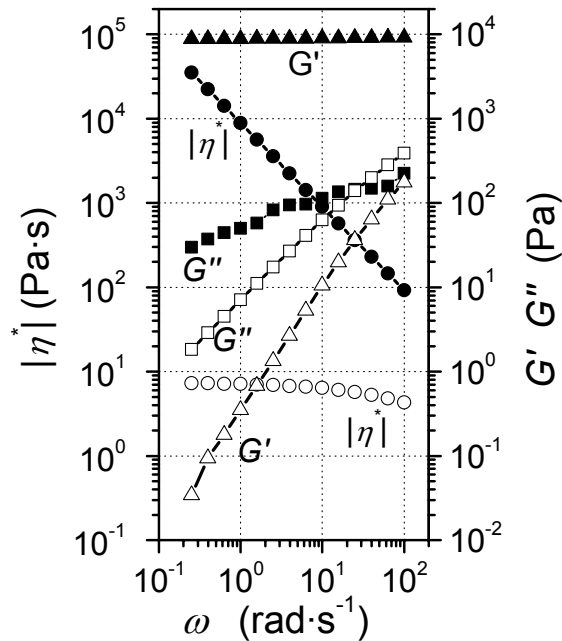


Abbildung 2 Speichermodul G' , Verlustmodul G'' und komplexe Viskosität $|\eta^*|$ als Funktion der Schwingungsfrequenz ω einer frisch präparierten Lösung des Gerstenglucans GG165 ($c = 0.06$ g/g, offene Symbole) und derselben Probe nach 72 h (geschlossene Symbole).

Die Module zeigen den für eine Polymerlösung typischen linearen Anstieg mit der Frequenz, der Speichermodul liegt dabei bei niedrigen Frequenzen unterhalb des Verlustmoduls (Kulicke 1986; Macosko 1994). Demgegenüber zeigt die gleiche Lösung nach 3 Tagen den typischen Verlauf einer vernetzten, gelartigen Struktur mit einem konstanten Speichermodul über eine Dekade oberhalb des Verlustmoduls. Das Schwingungsexperiment stellt dabei, anders als eine Scherung, eine nicht-invasive Detektionstechnik dar, der Gelbildungsmechanismus wird nicht durch das Experiment beeinflusst. Darüberhinaus kann auf diese Weise auch die Struktur eines fließfähigen Mikrogels detektiert werden, bei dem keine globale Vernetzung eintritt, sondern lediglich lokale, sedimentartige Gelkörper, wie sie in den verdünnten Glucanlösungen und im Bier beobachtet werden (Böhm 1998).

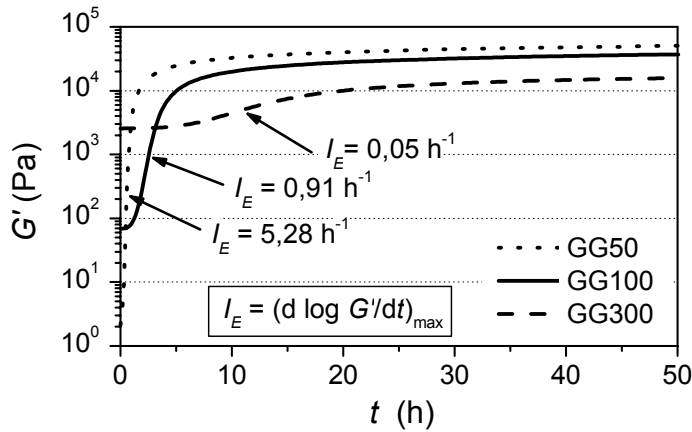


Abbildung 3 Speichermodul G' einer konstanten Oszillationsfrequenz von $\omega = 10 \text{ rad/s}$ und einer konstanten Deformation von $\gamma = 0.01$ als Funktion der Zeit für frisch präparierte wässrige Lösungen von Gerstenglucanen unterschiedlicher Molmasse ($c = 0.1 \text{ g/g}$). Die Pfeile kennzeichnen die Punkte maximaler Steigung, die nach Gleichung (2) zur Berechnung des Elastizitätsinkrementes I_E als Maß für die Geliertgeschwindigkeit herangezogen werden.

Über das Schwingungsexperiment kann die spontane Gelierung von β -Glucanlösungen oberhalb der kritischen Konzentration $c_{[\eta]}^*$ auch kontinuierlich verfolgt werden. Dabei wird der Speichermodul G' als Maß für die elastischen Anteile bei einer konstanten Frequenz ω im zeitlichen Verlauf bestimmt. Wie in Abbildung 3. dargestellt liegt eine spontan gelierende β -Glucanlösung zunächst während einer Induktionsperiode noch als Lösung vor, bevor der makroskopische Geliertprozess einsetzt und der Speichermodul ansteigt. Der Speichermodul nähert sich dann während der vollständigen Vernetzung asymptotisch einem Grenzwert an. Zur Bestimmung einer schwingungsfrequenzunabhängigen Geliertgeschwindigkeit aus diesen Kurven kann das Elastizitätsinkrement I_E verwendet werden, das, wie in Abbildung 3. angedeutet, der maximalen Steigung der Speichermodul-Zeit Kurven entspricht:

$$I_E = \left(\frac{d \log G'}{dt} \right)_{\max} \quad (2)$$

Aus der Selbstähnlichkeit der Kurven in Abbildung 3. für konstante Temperaturen folgt, daß das Elastizitätsinkrement sowohl als Maß für die Geliertgeschwindigkeit als auch für den Gelbildungszeitpunkt angenommen werden kann (Böhm and Kulicke 1999). Die so ermittelten Elastizitätsinkremente I_E sind für eine Reihe von (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucanen verschiedener Molmassen und für Konzentrationsreihen im Bereich der spontanen Gelierung in Abbildung 4. dargestellt.

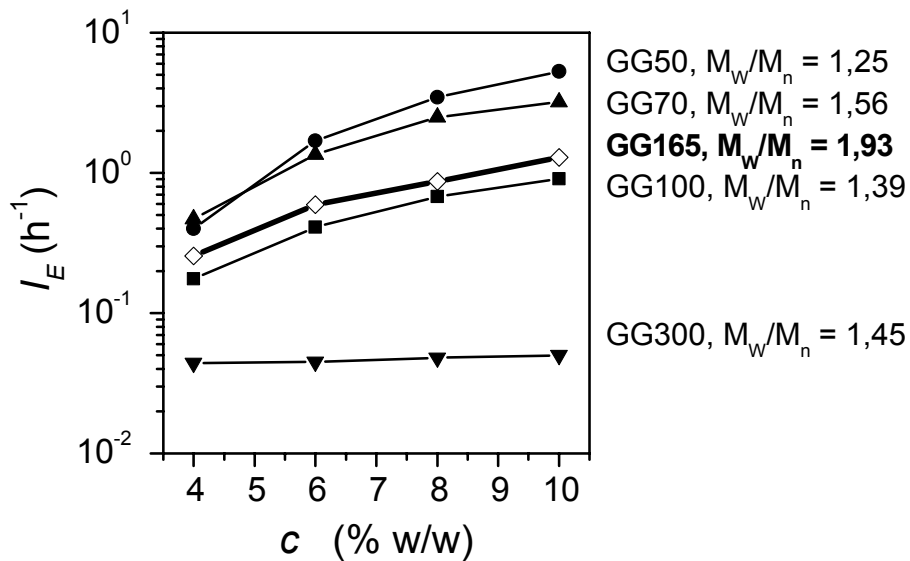


Abbildung 4 Elastizitätsinkremente I_E für unterschiedliche Konzentrationen von Gerstenglucanen unterschiedlicher Molmassen. Zusätzlich sind die Molmassenverteilungsbreiten M_w/M_n für die einzelnen Glucanproben angegeben.

Wie erwartet nimmt die Geliertgeschwindigkeit der spontanen Gelierung mit der Konzentration und damit der absoluten Segmentdichte des β -Glucans in Lösung zu. Allerdings wird eine Zunahme der Geliertgeschwindigkeit mit abnehmender Molmasse beobachtet. Danach zeigen β -Glucane die höchsten spontanen Geliertgeschwindigkeiten bei einer gewichtsmittleren Molmasse, die der hinsichtlich der Geliertendenz als unproblematisch angesehenen Glucane in Bieren entspricht. Eine mögliche Erklärung für die Dominanz der niedermolekularen Flanke bei der Gelierung aus konzentrierter Lösung liegt in der gesteigerten Beweglichkeit der kurzen Polymerketten. Die zur Ausbildung eines festen Assoziationspunktes benötigte Kontaktwahrscheinlichkeit zwischen möglichen Kontaktstellen der Polymerketten wird durch die Beweglichkeit kurzer Kettensegmente erhöht. Auf der anderen Seite kann nur durch genügend lange Ketten eine weitreichende Vernetzung des Glucans erreicht und ein Gelkörper erzeugt werden. Dementsprechend ist in Abbildung 4. für hohe Molmassen von 300 000 g/mol eine geringere Geliertgeschwindigkeit zu beobachten, die allerdings im Vergleich zu den geringeren Molmassen sehr viel weniger von der Konzentration abhängt. Die Geliertgeschwindigkeit der Ausbildung eines Gelkörpers wird in diesem Fall durch die verbrückende Wirkung der langen Ketten bestimmt, die auch bei geringeren Konzentrationen durch die Ausdehnung der Polymerknäule in Lösung gegeben ist. Unterstützt wird diese Interpretation durch die beobachtete hohe Geliertgeschwindigkeit der β -Glucans mit einer gewichtsmittleren Molmasse von 166 000 g/mol. Diese Probe zeigt eine höhere Geliertgeschwindigkeit als die Probe der Molmasse 100 000 g/mol, hat aber eine wesentlich breitere Molmassenverteilung ($M_w/M_n = 1.93$) als die anderen Proben. Die durch die wesentlich größere niedermolekulare Flanke erhöhte

Kontaktwahrscheinlichkeit führt damit zu einer schnelleren Verbrückung der hochmolekularen Anteile und somit zu einer im Vergleich zu den engverteilten Proben erhöhten Geliertgeschwindigkeit und Elastizitätsinkrement I_E .

Die Kontaktwahrscheinlichkeit der Assoziationspunkte kann in spontan gelierenden Lösungen nicht nur durch eine höhere Beweglichkeit durch niedermolekulare Anteile, sondern auch durch Scherkrafteintrag erhöht werden. In Abbildung 5. ist die Kriecherholung der gleichen β -Glucanlösung aus Abbildung 3. mit einer Molmasse von 300 000 g/mol dargestellt, die nun allerdings Zyklen von konstanten Scherungen von 2 min mit einer Schergeschwindigkeit von 2 s^{-1} und Ruhephasen von 10 min unterworfen werden. Bereits nach dem dritten Zyklus und einer Zeit von 60 min ist die Probe vollständig geliert, wie an der 100 %igen Rückdeformation zu erkennen ist (Barnes, Hutton et al. 1989; Macosko 1994). Demgegenüber befindet sich die gleiche Probe ohne Scherkrafteintrag in Abbildung 3. nach 60 min noch in der Induktionsperiode vor Einsetzen der spontanen Gelierung. Die Scherung erhöht dabei nicht alleine die intermolekularen Kontakte pro Zeit, sondern erhöht auch die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Assoziation im Falle eines Kontaktes durch die Erhöhung der Anisotropie der Polymerknäule und eine Orientierung der Kettensegmente in Richtung der Hauptspannungsorientierung (Clasen and Kulicke 2001).

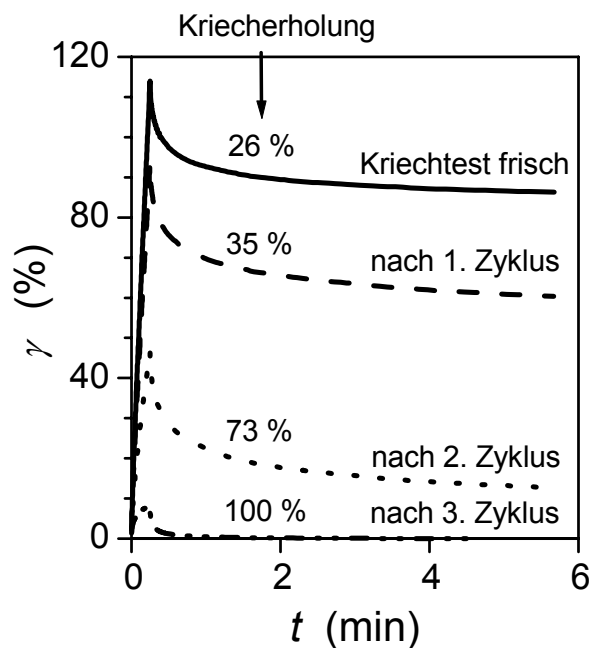


Abbildung 5 Kriechtests mit einer Schubspannungsbelastung von $\sigma = 153 \text{ Pa}$ über 15 s und einer Kriecherholungsphase von 5.5 min an Gerstenglucan GG300 in wässriger Lösung ($c = 0.1 \text{ g/g}$). Ein Zyklus besteht aus einer konstanten Scherung bei einer Schergeschwindigkeit von 2 s^{-1} über 2 min und einer anschließenden Ruhephase von 10 min.

2.3 Gelbildungskinetik

Diese erhöhte Assoziationstendenz durch Streckung und Orientierung von hochmolekularen Glucanen führt wahrscheinlich auch in den verdünnten Glucanlösungen des Bieres zur beobachteten Assoziation und Gelbildung zunächst der hochmolekularen Anteile in Abbildung 1. Die vollständige Gelierung auch der niedermolekularen Anteile des Glucans nach Abbildung 1. erfolgt dann über die hohe Beweglichkeit der niedermolekularen Anteile durch Assoziation an den bereits bestehenden Gelkörpern. Die hohe Beweglichkeit der niedermolekularen Anteile reicht in verdünnter Lösung demnach nicht aus, um vernetzend assoziieren zu können und der hochmolekulare Anteil des Glucans in problematischen Bieren ist zur Gelkeimbildung notwendig. Die Ruhezeit nach der Scherbeanspruchung ist dabei für die Ausbildung einer haltbaren Assoziationskontaktstelle Voraussetzung. Nach Whistler (Whistler 1977) kann eine Assoziation nach erfolgreichem Kontakt nur bestehen bleiben, wenn die Kontaktstellen genügend lange Zeit in relativer Ruhe zur Ausbildung embryonaler Netzpunkte haben. In Übereinstimmung damit zeigt eine Probe des Glucans nach einer Dauerschering von 60 min bei einer Schergeschwindigkeit von 2 s^{-1} keinerlei Gelcharakteristika.

Auf eine Gelierung aus einzelnen embryonalen Gelkeimen deutet auch die Form der Speichermodulkurven in Abbildung 3. hin. Die sigmoidale Form der Kurven weist auf eine Wachstumskinetik ähnlich der Avrami-Gleichung für Kristallwachstumskinetik hin (Elias 2001):

$$x = 1 - \exp(-kt^n) \quad (3)$$

x beschreibt den kristallierten Anteil. Der Avrami-Exponent n hängt dabei vom Keimbildungstyp s ($s = 0$ für eine athermische Keimbildung, $s = 1$ für eine themische) und der Wachstumsdimension r des Keimes ab ($r = 1$ für eindimensionales Wachstum, $r = 2$ für scheibenförmiges und $r = 3$ für kugelförmiges Wachstum des Keimes):

$$n = s + r \quad (4)$$

Ein sigmoidaler Kurvenverlauf ergibt sich für Avrami-Exponenten $n > 1$. Eine generelle Einordnung in die Dimension der Gelkeimbildung ist aus den Modulkurven allein allerdings nicht möglich, da der Anteil der Gelkeime dem Speichermodul nicht direkt proportional ist.

Der vorliegende Keimbildungstyp läßt sich allerdings durch Untersuchung einer frisch präparierten Glucanlösung direkt nach dem Abkühlen bestimmen. Im Falle einer athermischen Keimbildung, wie sie unter anderem für Stärkelösungen diskutiert wird (McIver, R.G. et al. 1968), sollte schon zu Beginn der Induktionsperiode die Gelkeimstruktur vorhanden sein. Zur Untersuchung der β -Glucanlösung vor Beginn der Gelierung kann durch Detektion des Strömungsdichroismus auf eine etwaige Assoziatstruktur zurückgeschlossen werden. Der Strömungsdichroismus entspricht der anisotropen Streuung und damit Absorption von polarisiertem Licht durch Partikel in Größenordnungen oberhalb der Wellenlänge des Lichtes in einem Scherfeld (Fuller 1995; Clasen and Kulicke 2003). Da die einzelnen Glucanmoleküle zu klein sind, um einen

Dichroismus hervorzurufen, ist eine Detektion eines Dichroismus direkt auf das Vorhandensein von Assoziaten bzw. Gelkeimen zurückzuführen.

Ungelöste Bestandteile des β -Glucans als Ursache für einen Dichroismus können für die vorliegenden Proben ausgeschlossen werden, da mit Lichtstreuexperimenten bei den Präparationstemperaturen der Lösungen von 85 °C keine Überstrukturen detektiert werden konnten, eine Abtrennung ungelöster Bestandteile kann dabei ausgeschlossen werden, da die Wiederfindungsrate der Größenausschlußchromatographie bei über 98 % lag (Böhm 1998).

Abbildung 6. zeigt, daß tatsächlich ein Dichroismus für die Glucanlösungen beobachtet werden kann.

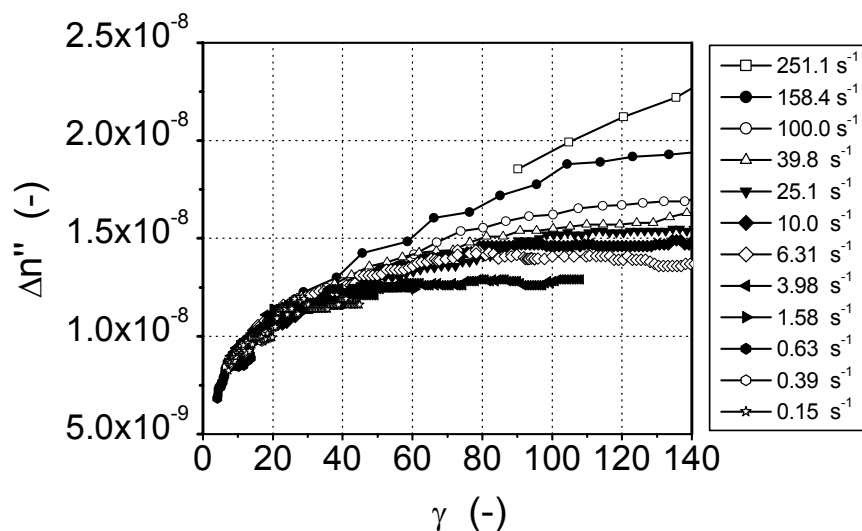


Abbildung 6 Transienter Strömungsdichroismus $\Delta n''$ als Funktion der Deformation γ für Gerstenglucan der Molmasse $M_w = 285\,000$ g/mol und einer Konzentration $c = 0.03$ g/g in wäßriger Lösung. Der transiente Dichroismus ist für verschiedene, konstante Schergeschwindigkeiten $\dot{\gamma}$ dargestellt.

Das transiente Dichroismussignal eines Gerstenglucans einer Molmasse von 285000 g/mol ist für verschiedene Schergeschwindigkeiten als Funktion der Deformation dargestellt. Die äußere Grenzlinie des Gelkeimes wird dabei im Scherfeld mit zunehmender Deformation der Lösung anisotrop verformt, wie aus dem anfänglich zunehmenden Dichroismus ersichtlich ist. Mit zunehmender Verformung des Gelkeimes stellt sich dabei ein Gleichgewicht ein zwischen den angreifenden hydrodynamischen Kräften des Scherfeldes und den innerhalb des assoziierten Gelkeimes herrschenden Kräften, die einer Deformation elastisch entgegenwirken. Nach Vermant et al. (Vermant, Van Puyvelde et al. 1998) zeigt der Verlauf des transienten Dichroismus ohne Überschreiten, daß die Struktur der Gelkeime reversibel deformiert wird, ohne dabei aufzubrechen. Ebenso deutet die Unabhängigkeit des transienten Dichroismus von der Schergeschwindigkeit bei kleinen Deformationen nach Yang et al. auf eine intakte

Struktur über den Deformationsvorgang hin (Yang, Zhang et al. 1998). Die athermisch vorhandenen Gelkeime sind danach scherestabil, zumindest in dem untersuchten Schergeschwindigkeitsbereich bis 400 s^{-1} . Diese Stabilität konnte nach Abbildung 7. über einen weiten Konzentrationsbereich gezeigt werden. Die in diesem Fall dargestellten Dichroismuswerte entsprechen dem Gleichgewichtszustand dem der transiente Dichroismus nach genügend großer Deformation entgegen strebt.

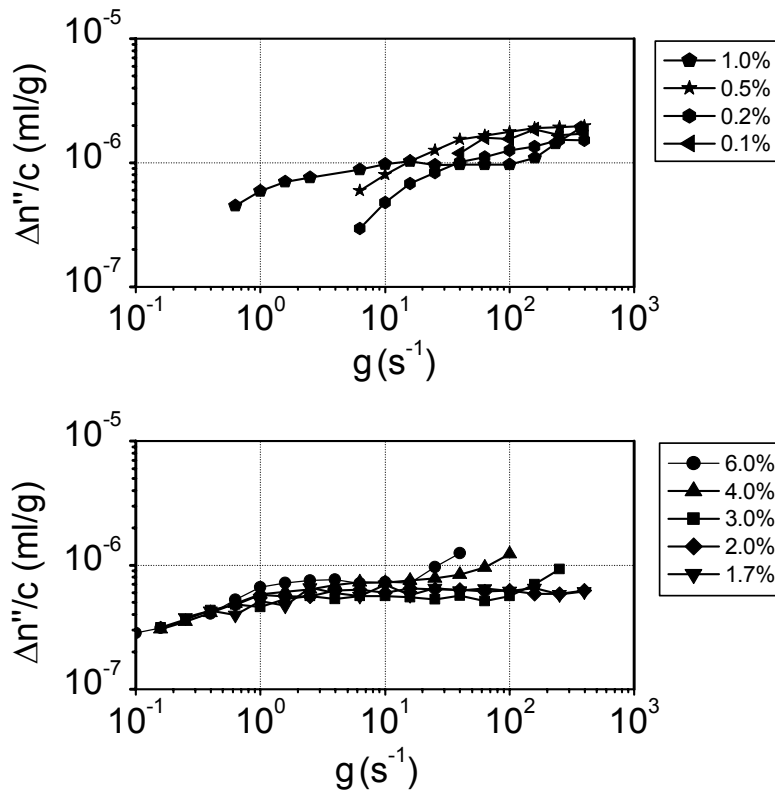


Abbildung 7 Konstanter Strömungsdichroismus $\Delta n''$ des Gleichgewichtszustandes zwischen Deformation des Assoziates durch hydrodynamische Kräfte und der inneren elastischen Spannung des Assoziates für verschiedene Schergeschwindigkeiten g . Abbildung a) beinhaltet Konzentrationen des (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucans unterhalb der kritischen Konzentration der spontanen Gelierung, Abbildung b) Konzentrationen oberhalb der kritischen Konzentration.

Die Werte werden dabei unabhängig von der Vorgeschichte der Scherung erhalten, die Gelkeime brechen bei hohen Schergeschwindigkeiten nicht auf. Auffallend ist, daß der Dichroismus oberhalb einer kritischen Schergeschwindigkeit unabhängig von dieser wird. Die Gelkeime erreichen danach einen Zustand maximaler Deformation, der von der inneren Struktur des Gelkeimes bestimmt wird. Da der Dichroismus ein integrales Signal entlang des Strahlenganges darstellt, wird er in Abbildung 7. über die Glucankonzentration normiert dargestellt, um die unterschiedlichen Plateauwerte der maximalen Deformation vergleichen zu können. Für Konzentrationen im Bereich

unterhalb der spontanen Gelierung ($c < 1\%$) wird dabei ein höherer Plateauwert erreicht, die Gelkeime liegen in verdünnter Lösung unterhalb der kritischen Konzentration mit einer veränderten Struktur vor. Eine direkte Aussage über die Art der Struktur läßt das Dichroismusexperiment nicht zu, allerdings sind auch die Gelkeimstrukturen in verdünnter Lösung stabil gegen Scherkrafteintrag im untersuchten Schergeschwindigkeitsbereich.

Die Beobachtung eines Dichroismus direkt nach Abkühlen einer molekular dispers gelösten Glucanlösung deutet auf eine sehr schnelle Gelkeimbildung hin. Die Gelkeime liegen, anders als in der Avrami-Kristallkinetik einer athermischen Keimbildung, erst unterhalb einer kritischen Temperatur vor. Allerdings kann von einer athermischen Kinetik ausgegangen werden, da die Keimzahl im transienten Dichroismusexperiment unverändert über den Deformationszeitraum und Wiederholungsexperimente auftrat. Im Unterschied zur Kristallkinetik einer Polymerschmelze wird der Gelkeim des Gelierungsprozesses auch von der lokalen chemischen Struktur der Kontaktstellen bestimmt (siehe nachfolgendes Kapitel). Wahrscheinlich treten besonders geeignete Kontaktstellen bei Abkühlung der Glucanlösung sehr schnell zum Gelkeim zusammen, die eigentliche vernetzende Gelierung erfolgt dann auch über weniger geeignete Kontaktstellen entlang der Polymerkette, die an den Gelkeim assoziieren (Clasen 2001). Der Gelierprozess verläuft demnach wahrscheinlich nach einer pseudo-athermischen Kinetik.

Aus einer athermischen Gelkeimbildung muss aber für einen sigmoidalen Kurvenverlauf die Wachstumsdimension des Gelkeimes, anders als z. B. für Stärkelösungen beobachtet (McIver, R.G. et al. 1968), mindestens zweidimensional nach Gleichung (4)) erfolgen.

2.4 Gelbildungsmechanismus

Die Bedeutung der lokalen chemischen Struktur der Kontaktstellen zur erfolgreichen Assoziation und der sich daraus ergebende Assoziationsmechanismus soll im folgenden am Vergleich von (1→3)(1→4)-β-D-Glucanen unterschiedlicher Herkunft dargestellt werden. Zum Vergleich der Geliertgeschwindigkeiten wurden hierzu Proben mit nahezu gleicher zahlenmittlerer Molmasse ausgewählt, da die spontane Gelierung nach den vorangegangenen Ausführungen durch die niedermolekularen Anteile dominiert wird. Ein Vergleich der Geliertgeschwindigkeit über die Elazitätsinkremente nach Tabelle 2) für Glucane isoliert aus Hafer, Lichenan und Gerste zeigt dabei trotz annähernd gleicher gewichtsmittlerer Molmasse für das Lichenanglucan eine annähernd eine Dekade größere Geliertgeschwindigkeit im Vergleich zum Gerstenglucan.

Tabelle 2) Zahlenmittlere Molmassen M_n und die I_E -Werte der zum Vergleich der Geliertgeschwindigkeiten herangezogenen Glucane ($c = 0.01$ g/g).

Probencode	M_n	I_E
	(g/mol)	(h⁻¹)
LN55	32 000	> 50

GG50	38 000	5,3
HG40	32 000	0,86

Das Haferglucan weist demgegenüber eine um einen Faktor 6 kleinere Geliergeschwindigkeit auf. Die Glucane weisen eine annähernd gleiches Verhältnis der glycosidischen (1→3) und (1→4) Bindungen auf, wie aus den C-1 Signalen des ¹³C-NMR Spektrums (Abbildung 8.) ermittelt werden kann (Tabelle (3)).

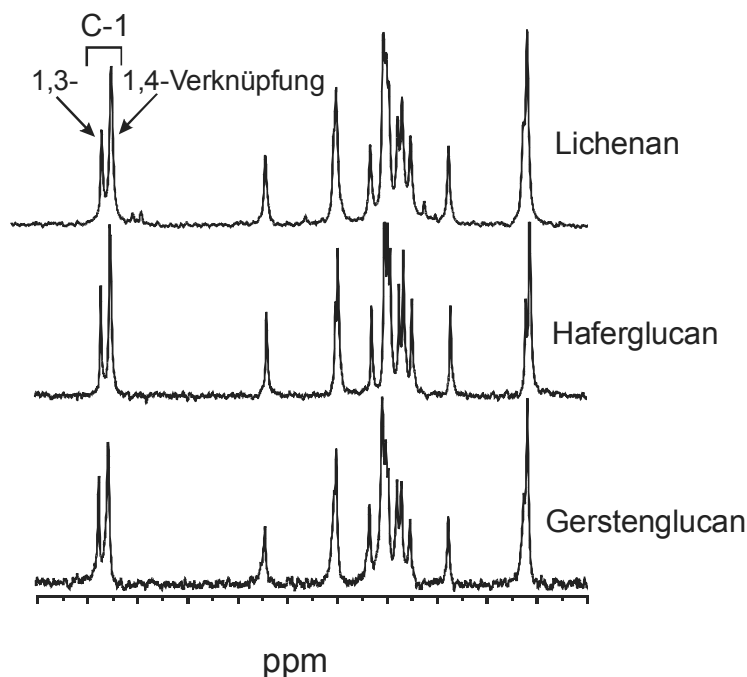


Abbildung 8 Vergleich der ¹³C-NMR-Spektren von Lichenan, Gerstenglucan und Haferglucan in DMSO-d₆ bei 100 °C.

Tabelle ((3)) Verhältnisse der glycosidischen Bindungen (1,3) : (1,4) in Lichenan, Hafer- und Gerstenglucan bestimmt aus den ¹³C-NMR-Spektren in Abbildung 8.

Polysaccharid	Bindungsverhältnis (1,3) : (1,4)
Lichenan	27 : 73
Gerstenglucan	28 : 72
Haferglucan	29 : 70

Als wesentlicher struktureller Unterschied der chemischen Struktur zur Erklärung der unterschiedlichen Geliergeschwindigkeiten kommt das Bindungsverhältnis demnach nicht in Frage. Die Bestimmung der Verteilung der (1→3) und (1→4) Bindungen entlang der Polmerkette erfolgt über eine Oligomerenanalyse der durch Lichenase (E.C. 3.2.1.73) enzymatisch abgebauten Glucane. Die spezifische Spaltung von auf β-(1→3) Bindungen folgende β-(1→4) Bindungen erzeugt Oligomere, deren Bindungszahl denen der reinen β-(1→4) gebundenen, celluloseartigen Blöcke entlang der Kette entspricht (Woodward and Fincher 1982). Die wasserlöslichen Oligomere mit Polymerisationsgraden P < 9 (Woodward, Fincher et al. 1983) können durch

Anionenaustauschchromatographie mit gepulster amperometrischer Detektion in basischem Medium getrennt werden, wie in Abbildung 9. dargestellt ist.

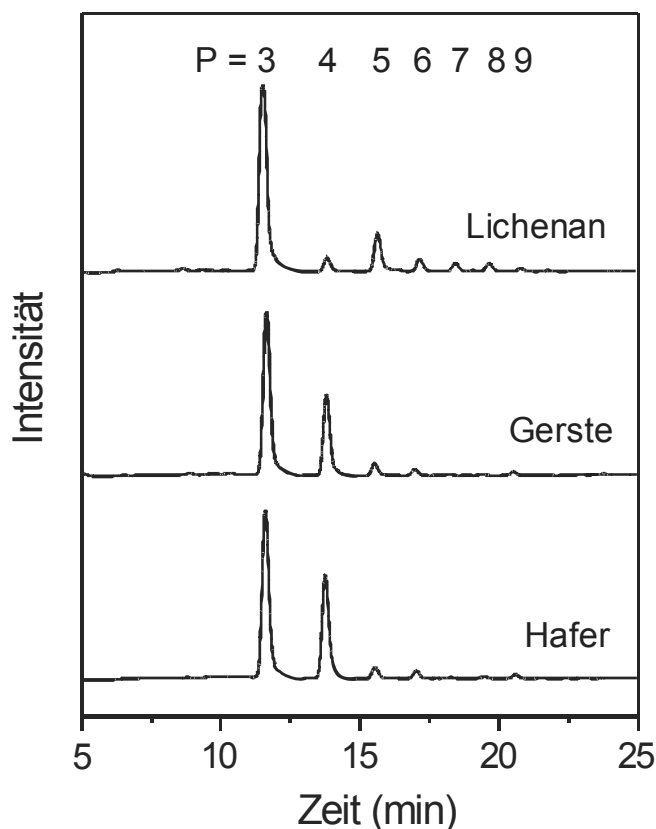


Abbildung 9 Anionenaustauschchromatographische Elutionsdiagramme der mit Lichenase (E.C. 3.2.1.73) abgebauten (1→3)(1→4)-β-D-Glucane mit Angabe der zugehörigen Polymerisationsgrade P.

Eine exakte planimetrische Integration der peak-Flächen in Abbildung 9. erlaubt die Bestimmung der Verhältnisse von Oligomeranzahl mit unterschiedlichen Polymerisationsgraden P wie in Tabelle (4) dargestellt.

Tabelle (4) Relative Mengen der Hauptfraktionen der Lichenase-Digestate mit Polymerisationsgrad P aus Abbildung 9. .

Substanz	P=3 : P=4 : P=5
Lichenan	23 : 1 : 2,5
Gerstenglucan	2,5 : 1 : 0,12
Haferglucan	1,9 : 1 : 0,08

Danach bildet, wie aus dem Verhältnis der Bindungsarten von ~ 28:72 nach Tabelle (3) erwartet, das Oligomer mit dem Polymerisationsgrad von P = 3, das in der Glucankette einem Block von drei über β-(1→4) Bindungen verknüpften Glucoseeinheiten entspricht (sog. Cellotrioseeinheit) den überwiegenden Anteil des

Enzymabbaus dar, wie auch schon anderweitig berichtet wurde (Perlin and Suzuki 1962; Edney, Marchylo et al. 1991; Wood, Weisz et al. 1991; Wood, Weisz et al. 1994). Die Bindungsverteilung ist dabei zwar statistisch, allerdings nicht regellos (Henriksson, Telemann et al. 1995). Wie aus Tabelle (4) hervorgeht, ist das Verhältnis von Cellotrioseeinheiten zur nächstgrößeren Cellotetroseeinheit im Lichenan um den Faktor 10 größer als im Gerstenglucan, daß wiederum ein um den Faktor 1.4 größeres Verhältnis im Vergleich zum Haferglucan aufweist. Das Lichenan stellt somit das einheitlichste Polymer dar und besteht fast ausschließlich aus Cellotrioseblöcken, die miteinander über β -(1 \rightarrow 3) Bindungen verknüpft sind. Haferglucan weist demgegenüber die größte Uneinheitlichkeit auf, während das Gerstenglucan eine Mittelstellung einnimmt, dem Haferglucan aber ähnlicher ist als dem Lichenan.

Diese Strukturparameter korrelieren mit den beobachteten Unterschieden in der Geliergeschwindigkeit I_E . Als ein neues Modell für den Gelbildungsmechanismus kann daraus abgeleitet werden, daß die zur Assoziation befähigten Strukturelemente die regelmäßigen Abfolgen von Cellotrioseblöcke sind (Abbildung 10.). Die "Fehlstellen" von größeren celluloseartigen Sequenzen begrenzen danach die Assoziation, bewirken aber auch, daß das Molekül wasserlöslich bleibt, da eine molekülübergreifende Assoziation zum Ausfallen des Glucans aus der Lösung führen würde. Dieses Modell widerspricht dem von Letters aufgestelltem (Letters 1977) und seit dem in der Literatur weitverbreitetem Modell, daß die Assoziation über die bis zu 15 Glucoseeinheiten langen Cellulose-Sequenzen erfolgt (siehe Abbildung 10.). Gerade für Lichenan wurde aber ein besonders geringer Anteil an langen Cellulosesequenzen mit Polymerisationsgrad $P > 9$ im Lichenase Abbau gefunden (Wood, Weisz et al. 1994).

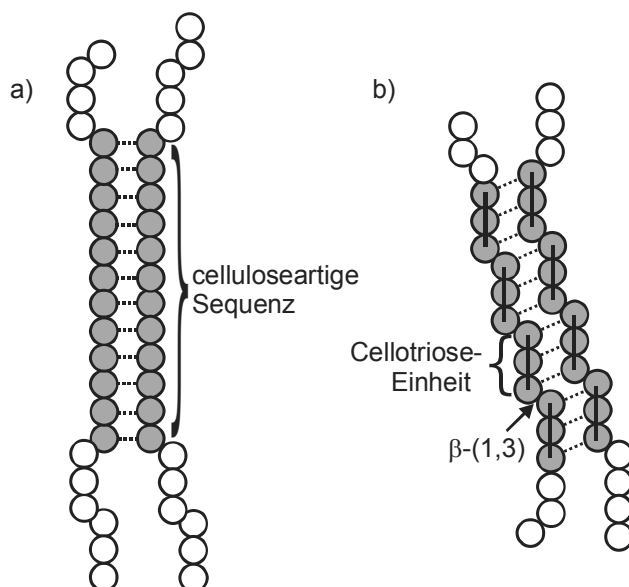


Abbildung 10 a) In der Literatur häufig zitiertes Modell der Gelierung von (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucan über lange Cellulosesequenzen. b) neues Modell der Assoziation über regelmäßige Abfolgen von β -(1 \rightarrow 3)-verknüpften Cellotrioseeinheiten.

2.5 Quantifizierung der Lösungscharakteristika von β -(1,3)(1,4)-Glucanen

Für eine exakte Beschreibung der Lösungscharakteristika von Polymerlösungen ist eine Vorhersage der Fließeigenschaften wünschenswert. Durch die Aufstellung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ist eine solche umfassende Beschreibung der rheologischen Materialfunktionen des Scherfließens in Abhängigkeit der Konzentration und Molmasse möglich, wodurch die Größen des Newton'schen Fließens (Ruhescherviskosität η_0) als auch des nicht-Newton'schen Fließens (Pseudoplastizität) erfolgreich quantifiziert werden können (Clasen and Kulicke 2001).

Für die Glucane konnte die Ruhescherviskosität η_0 durch folgende Beziehung erfolgreich beschrieben werden.

$$\eta_0 = 8,91 \cdot 10^{-4} (c \cdot [\eta] + 0,703 \cdot (c \cdot [\eta])^2 + 5,57 \cdot 10^{-3} (c \cdot [\eta])^{5,18} + 1)$$

Für die vollständige Beschreibung der Fließeigenschaften der Glucane müssen, diese Struktur-Eigenschafts-Beziehungen auf das nicht-Newton'sche Fließen ausgedehnt werden. Hierbei sind die kritische Schergeschwindigkeit \mathbf{g}_{krit} bzw. und die Fließkurvensteigung n die beschreibenden Größen. Durch Überführung der kritischen Schergeschwindigkeit \mathbf{g}_{krit} in die reziproke längste Relaxationszeit λ_0 ist eine mathematische Beschreibung über folgende Beziehung möglich,

$$\lambda_0 = 1,48 \cdot 10^{-11} \cdot c^{-2,4085} \cdot \left((c \cdot [\eta])^2 + 0,703 \cdot (c \cdot [\eta])^3 + 5,57 \cdot 10^{-3} \cdot (c \cdot [\eta])^{6,11} \right)$$

während die Fließkurvensteigung n durch folgenden exponentiellen Gleichungsansatz beschrieben werden kann.

$$n = -0,82 + 1,782 \cdot 10^{-0,0995 \cdot c \cdot [\eta]}$$

Durch die Kenntnis dieser Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ist es möglich die unterschiedlichen Fließeigenschaften der Glucane in Abhängigkeit der Molmasse und der Konzentration in einer sogenannten Masterkurve zu vereinen, wie sie in Abbildung 11. dargestellt ist.

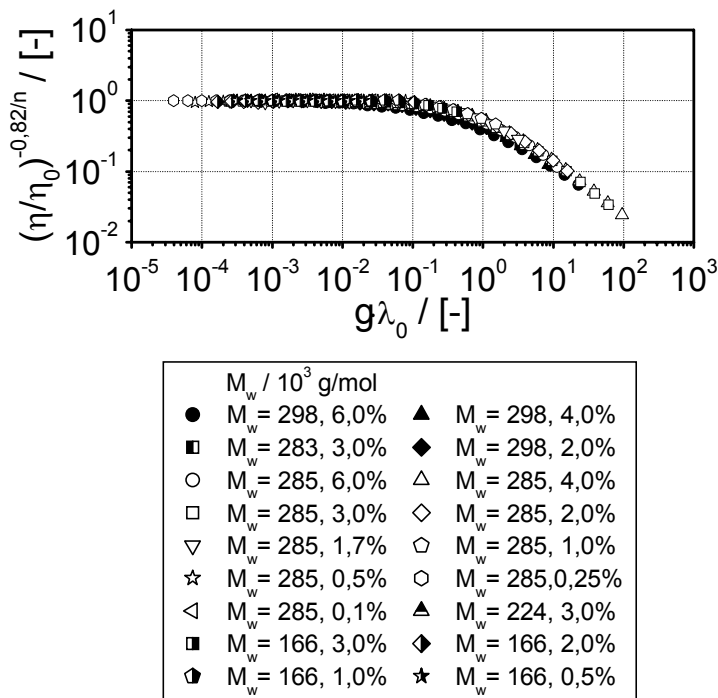


Abbildung 11 Normierte Darstellung der Fließkurven (Masterkurve) von verschiedenen Gerstenglucanen mit unterschiedliche Molmasse und Konzentration.

2.6 Bestimmung der Gelstruktur im Ruhezustand mit rheo-optischen Schwingungsmessungen

Mit Hilfe der rheo-optischen Schermessungen ist ausschließlich eine Charakterisierung des Solzustandes möglich, da die bei der Gelbildung entstehenden dreidimensionalen Strukturen durch Scherung zerstört werden. Eine Möglichkeit den Gelbildungsprozeß dennoch optisch zu charakterisieren, sollten rheo-optische Messmethoden gekoppelt mit mechanischen Schwingungsmessungen darstellen, die eine zerstörungsfreie Untersuchung erlauben.

Hierzu wurde in ein konventionelles Rheometer ein optischer Pfad mit drei Lasern integriert, deren Polarisations Ebenen zu einander im Winkel von 45° stehen. Um die Intensitätsabschwächung des Lasersignals während der Messung den einzelnen Lasern zu zuordnen, werden diese im Pulsbetrieb von $50 \mu\text{s}$ betrieben und mit einer A/D-Wandler Karte die Laserintensitäten ausgelesen. Diese Meßprinzip ist in Abbildung 12. schematisch dargestellt.

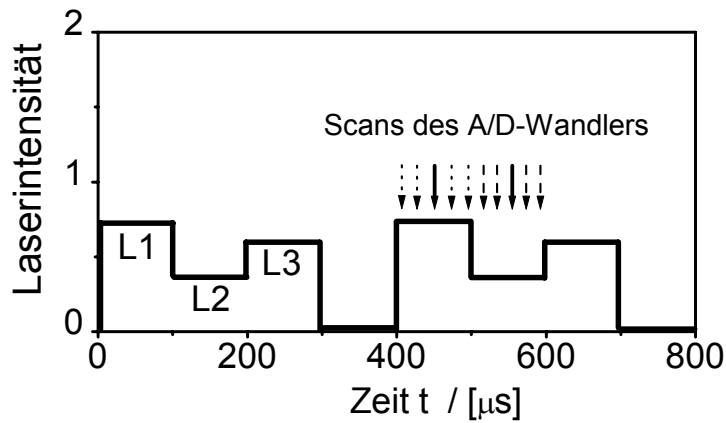


Abbildung 12 Schematische Darstellung des Meßprinzips der rheo-optischen Meßeinrichtung mit gepulsten Lasern.

Bei Vorgabe des eines Oszillationssignal durch das Rheometer sollten die Laserintensitäten einer sinusförmigen Schwingung unterliegen, die eine Phasendifferenz δ zum Vorgabesignal des Rheometers besitzt. Des weiteren sollte sich die maximalen Amplituden der Laserintensitäten (I_{0° , I_{45° , I_{90°) von den entsprechenden Laserintensitäten der unbelasteten Probe unterscheiden, so daß eine resultierende Intensitätsabschwächung und eine entsprechende Phasendifferenz δ resultiert, wie sie in Abbildung 13. schematisch für einen der drei Laser dargestellt ist.

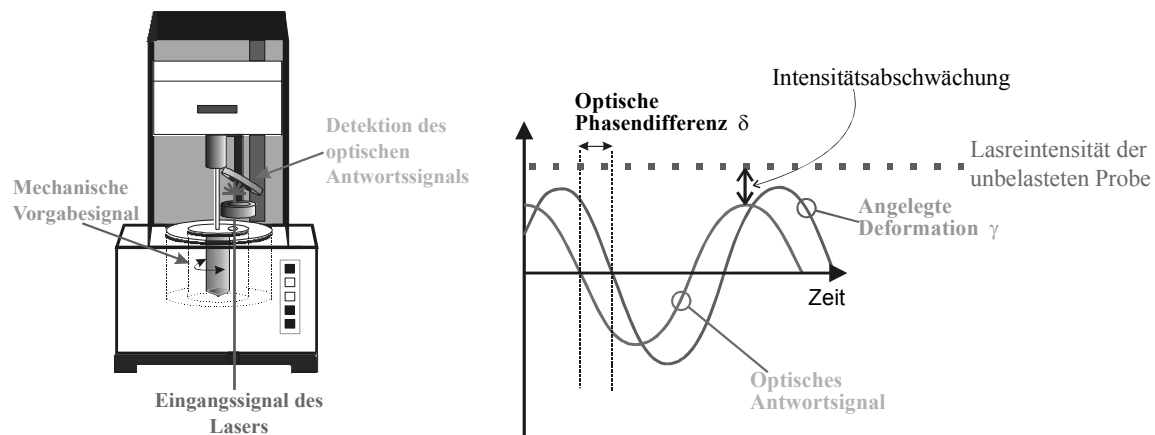


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Meßprinzips für die rheo-optischen Schwingungsmessungen

Aus diesen gemessenen Größen der Phasendifferenz und des Intensitätsunterschiedes sollte entsprechend den rheo-mechanischen Größen ein optische Speicher- und Verlustmodul (G^*_{opt} und G''_{opt}) berechnet werden.

$$G^* = \frac{I}{I_0} \cdot e^{i \cdot \delta} = G' + i \cdot G'' \quad (5)$$

Eine Analyse des mechanischen Vorgabesignals des Rheometers zeigte jedoch, daß die Vorgabe einer harmonische Schwingung mit konstanter Frequenz und Amplitude mit der bestehenden Hardware nicht möglich ist, so daß eine Korrelation mit den optischen Signalen nicht durchgeführt werden konnte.

2.7 Untersuchung des Dehnströmverhaltens

Aufbauend auf den erarbeiteten rheologischen Grundlagen sollte das Verhalten von Glucanlösungen in Dehnströmungen untersucht werden. Insbesondere aus den Untersuchung des Verhaltens der assoziierten Cluster in Dehnströmfeldern soll en Methoden abgeleitet werden, die eine möglichst praxisnahe, anwendungstechnologisch einfache und schonende Unterdrückung bzw. Beseitigung der Gelbildung der Glucane ermöglichen.

Dehnströmungen treten in vielen technischen Verarbeitungsprozessen auf. So zum Beispiel beim Versprühen und Vernebeln oder bei Filtrationsprozessen, wobei es zur Degradation der Polymere in Lösung kommen kann. Derartige Dehnströmfelder können beim Durchströmen von Fluiden durch porösen Medien induziert werden, wie z.B. Kieselgurfilter. Durch die vorhandenen Partikel kommt es zu einem Strömungsprofil mit wechselnden Querschnitt. An den Verengungsstellen kommt es zur Ausbildung von Dehnströmungsanteilen. In den sich anschließenden Aufweitungsstellen können die zuvor gedehnten Strukturen wieder relaxieren und ihre ursprüngliche Form einnehmen. An den sich anschließenden Verengungsstellen treten neue Dehnungen an den relaxierten Strukturen auf. Sind die äußeren Parameter so, daß die Verweilzeit im Aufweitungsteil kürzer ist, als die Relaxationszeit der Polymere kommt es zu einer Degradation der Strukturen, wie in Abbildung 14. veranschaulicht.

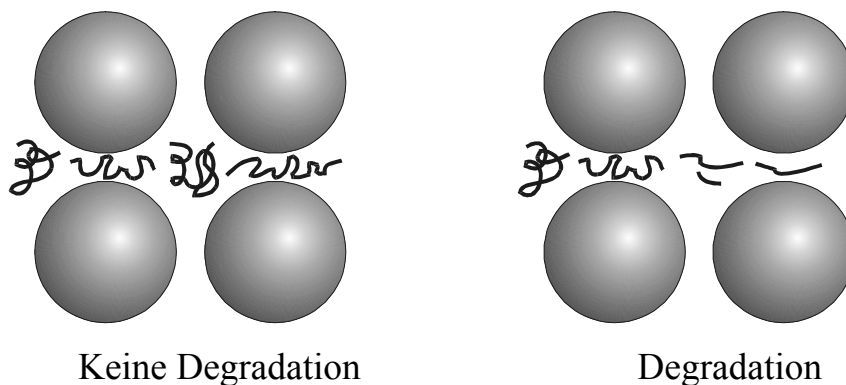


Abbildung 14 Schematische Darstellung der in Dehnströmungen auftretenden Degradationen.

Um den Einfluß von Strömefeldern auf das viskoelastische Verhalten der Glucane und insbesondere der assoziierten Cluster zu untersuchen, kann deren viskoelastische Materialfunktionen beim Durchgang durch ein poröses Medium bzw. eine 4-Rollenmühle unter Berücksichtigung der Strömungsgeschwindigkeit und der Porengröße des porösen Mediums charakterisiert werden. Mit Hilfe dieser zur Verfügung stehenden

Parameter können die theoretisch auftretenden Degradationserscheinungen insbesondere auf die Glucangelkörper untersucht werden, wodurch möglicherweise eine Gelbildung im Bierbrauprozeß unterbunden bzw. Möglichkeiten zum Abbau des vorhandenen Gels durch eine mechanische Degradation entwickelt werden können.

Hierzu wurde im Rahmen des Projektes die in Abbildung 15. und 16. dargestellte Messapparatur aufgebaut, die die Bestimmung des Widerstandsbeiwertes einer Glucanlösung in dem Dehnströmfeld eines porösen Mediums in Abhängigkeit von der Reynoldszahl /Strömungsgeschwindigkeit und den molekularen Parametern der Lösung ermöglicht.

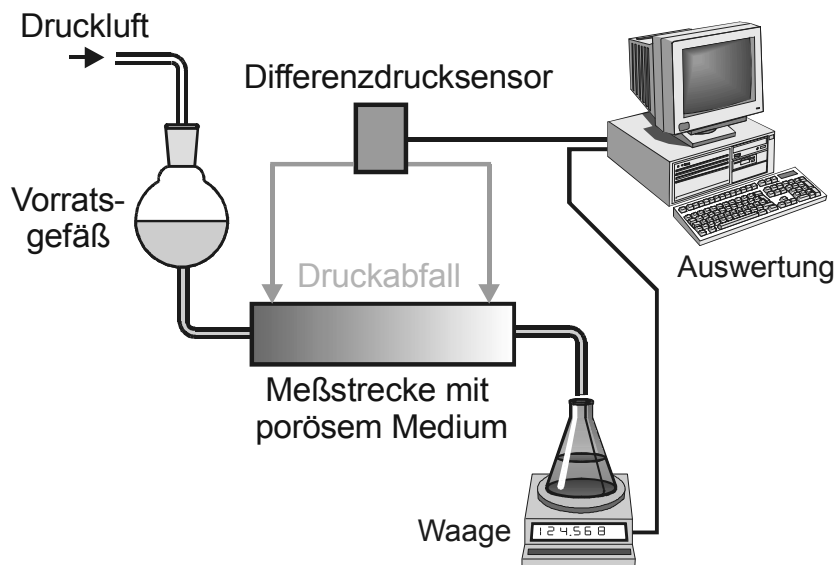


Abbildung 15 Schematische Darstellung einer porösen Meßstrecke.

Hierbei wird das zu untersuchende Polymerfluid via Druckluft über eine poröse Messstrecke gepresst. Bei der Messstrecke handelt es sich um einen mit Keramikugeln definierter Dimensionierung gefüllten Stahlzylinder. In Abhängigkeit vom angelegten Druck lässt sich über eine Waage ein Volumenstrom ermitteln. Zusammen mit geometrischen Faktoren der Kugelschüttung (Porösität, Permeabilität u.v.m) und dem mit Differenzdrucksensoren bestimmten Druckabfall über der Messstrecke lassen sich dimensionslose Kennzahlen errechnen, die das Dehnverhalten einer Polymerlösung beschreiben:

1. Fließwiderstandsbeiwert (analog Dehnviskosität)

$$\Lambda = \frac{d^2 \Phi^3 (\Delta P / L)}{\eta v (1 - n_K)^2}$$

mit d = Durchmesser der Kugeln; Φ = Porösität; DP/L = Druckabfall; h = Viskosität; n = Leerrohrgeschwindigkeit und n_K = Permeabilität

2. Reynoldszahl (analog Dehnrate)

$$Re = \frac{\rho v d}{\mu (1 - n_K)}$$

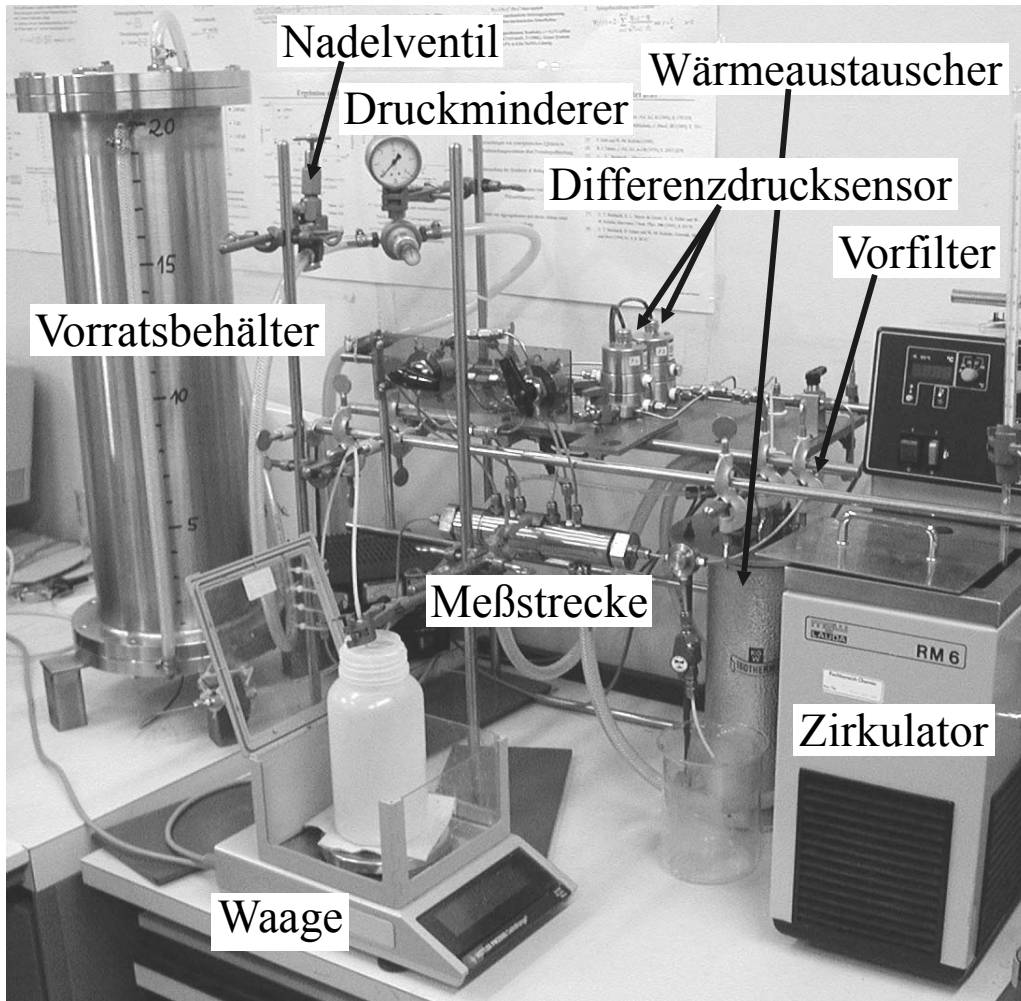


Abbildung 16 Aufbau der porösen Messstrecke .

Eine Kalibrierung der Messstrecke wurde mit dem Standardsystem Polystyrol in Toluol durchgeführt. Wie aus der Abbildung 17. ersichtlich verlässt der Verlauf des Widerstandsbeiwertes Λ einer 1000 ppm Lösung von Polystyrol (23.6 Mio. g/mol) in Toluol (rote durchgezogene Linie) schon bei sehr niedrigen Reynoldszahlen Re den Verlauf eines Newtonschen Fluids (schwarze durchgezogene Linie). Wenn die Fließgeschwindigkeit so groß wird, dass keine vollständige Relaxation des Polymerknäuels nach Porendurchgang möglich ist, tritt Degradation auf. Die Zahlen entlang der Messkurve entsprechen den jeweiligen Molmassen, welche bei dieser Fließgeschwindigkeit nach anschließender Untersuchung mit SEC/MALLS/DRI festgestellt wurden.

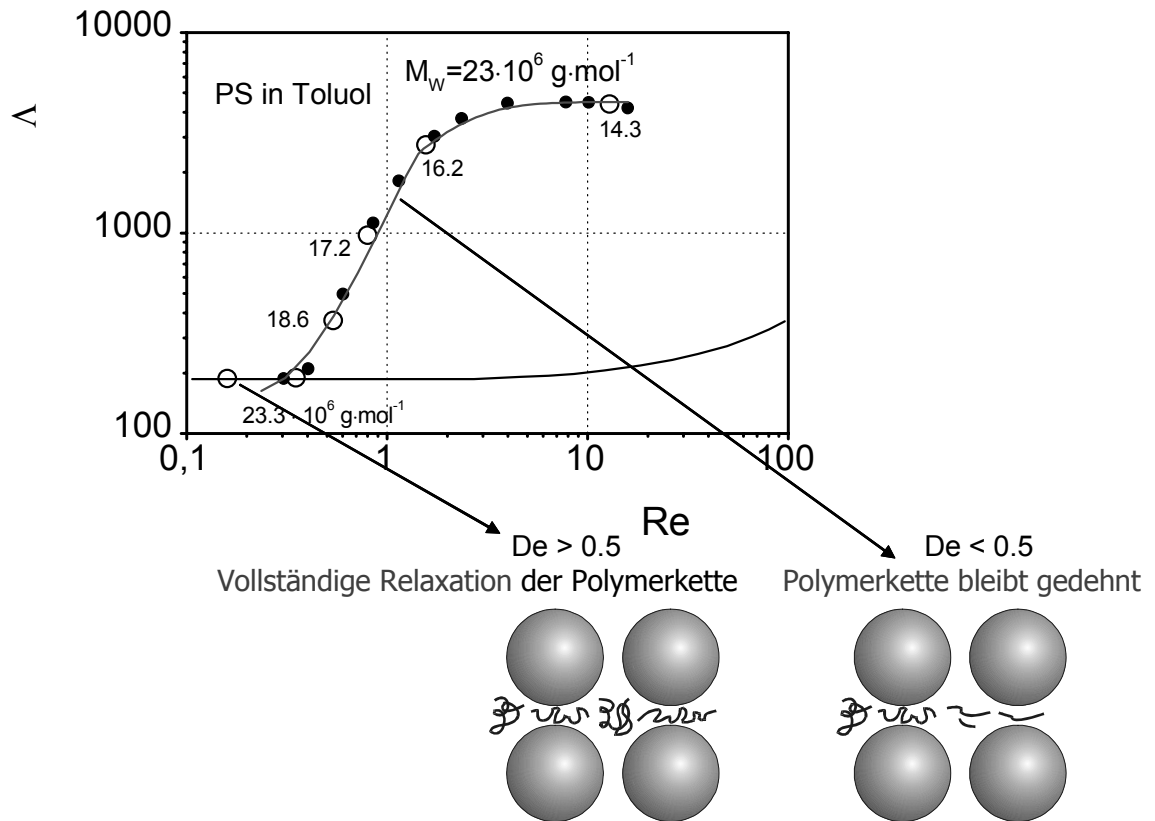


Abbildung 17 Eichung der Messstrecke mit dem Polymerstandardsystem Polystyrol in Toluol

Die Befähigung der Messstrecke zur Untersuchung wässriger Lösungssysteme ist in Abb. 18. für verschieden konzentrierte Lösungen eines Polyacrylamids (PAAm I) als jeweilige Widerstandsbeiwerte als Funktion der REYNOLDSzahl dargestellt.

Zur Berechnung der Werte wurden gleich viskosimetrisch bestimmte Viskositäten der Lösungen (ca. 1-10 mPas) eingesetzt, da selbst die 2000 ppm Lösung ein nahezu vollständig NEWTONSches Fließverhalten im Scherexperiment ($1-1000 \text{ s}^{-1}$) zeigte. Bei allen untersuchten Konzentrationen des PAAm I ist schon vor dem Erreichen des turbulenten Strömungsbereiches ein Verlassen des NEWTONSchen Verhaltens zu beobachten. Alle Kurven zeichnen sich durch einen Anstieg des Widerstandsbeiwertes bei einer charakteristischen Onset-REYNOLDSzahl Re_{on} aus. Bei dieser REYNOLDSzahl ist die Dehngeschwindigkeit des durch das poröse Medium strömenden Fluids so groß, daß die hochmolekularen Polymerknäule nicht mehr genug Zeit zur Relaxation haben und immer weiter gedehnt werden. Dies hat zur Folge, daß der Fließwiderstand steigt und es bei den hochmolekularen Ketten zu den ersten Kettenbrüchen kommt. Mit steigender Dehngeschwindigkeit können auch die kleineren Ketten nicht mehr relaxieren und auch dort kommt es zu Kettenbrüchen. Das Maximum in den Kurven bezeichnet diejenige REYNOLDSzahl, bei der die Dehngeschwindigkeit so groß ist, daß es für sämtliche Polymerketten in Lösung keine Möglichkeit mehr zur Relaxation gibt und alle Ketten degradieren. Der Widerstandsbeiwert sinkt wieder, da die vollständig degradierten Polymerketten keine elastische Deformation mehr zeigen und die Kurve nähert sich dem Verlauf eines NEWTONSchen Fluids an.

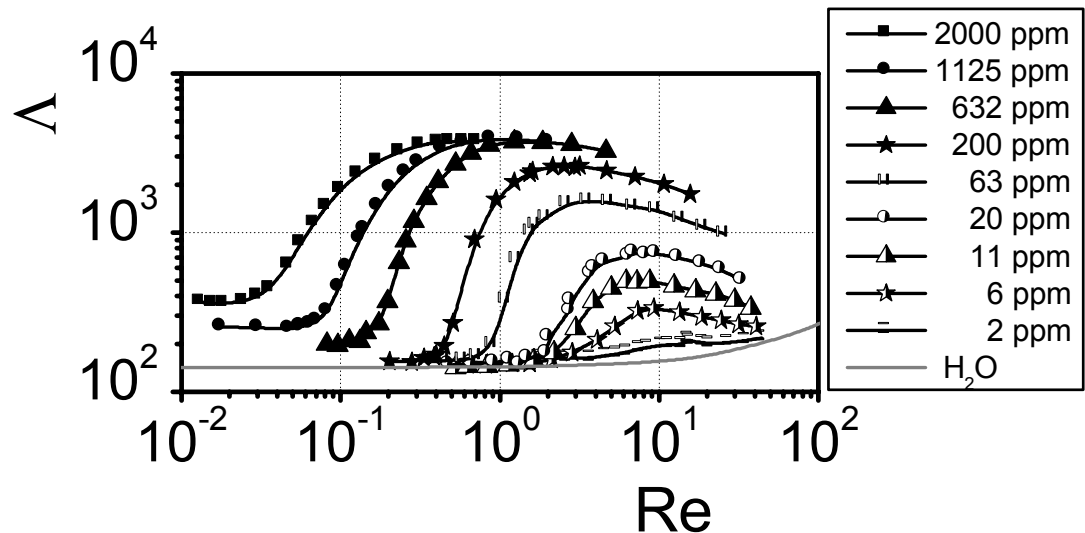


Abbildung 18 Widerstandsbeiwert Δ als Funktion der REYNOLDSzahl Re für verschieden konzentrierte 0.1 molare Natriumnitrat-Lösungen des PAAm I bei 25 °C.

Wie in Abb. 18. zu sehen, verschiebt sich der Onset mit steigender Konzentration zu niedrigeren Reynoldszahlen und damit Dehngeschwindigkeiten hin. Beginnt der Onset bei der 2000 ppm Lösung schon bei einer Reynoldszahl von ca. 0.03 so ist dieser bei der 2 ppm Lösung erst bei einer Reynoldszahl von ca. 5 zu beobachten. Eine Konzentrationserhöhung um drei Dekaden verschiebt den Onset demgemäß um mehr als zwei Dekaden zu niedrigeren REYNOLDSzahlen hin. Weiterhin ist zu beobachten, daß die Kurven ab einer Konzentration von 632 ppm schon vor dem Onset nicht mehr auf dem Kurvenverlauf eines NEWTONSchen Fluids liegen. Diesen Umstand kann man dadurch erklären, daß beim Übergang von der 200 ppm zur 632 ppm Lösung die kritische Konzentration überschritten wird. Man betrachtet also nicht mehr das einzelne Molekül sondern eine Netzwerklösung mit Verschlaufungen zwischen den zuvor isoliert vorliegenden Polymerknäulen. Dies wirkt sich für die höher konzentrierten Lösungen in der porösen Meßstrecke dahingehend aus, daß der Fließwiderstand gegenüber den niedriger konzentrierten Lösungen schon im NEWTONSchen Bereich höher liegt.

In Abb. 19. ist der Widerstandsbeiwert als Funktion der REYNOLDSzahl für verschieden konzentrierte Hydroxypropylcellulose-Lösungen wiedergegeben. Es ist zu erkennen, daß sich mit steigender Reynoldszahl der Widerstandsbeiwert nicht gravierend ändert. Auch hier ist das anfängliche Gefälle in den Kurven allein darauf zurückzuführen, daß in die Berechnung des Widerstandsbeiwertes die Viskositäten der untersuchten Lösungen nicht miteingehen. Diese sind aber nicht konstant, wie ursprünglich für die Rechnung angenommen, sondern auch für HPC im untersuchten Scherbereich abhängig von der Schergeschwindigkeit und damit auch von der REYNOLDSzahl.

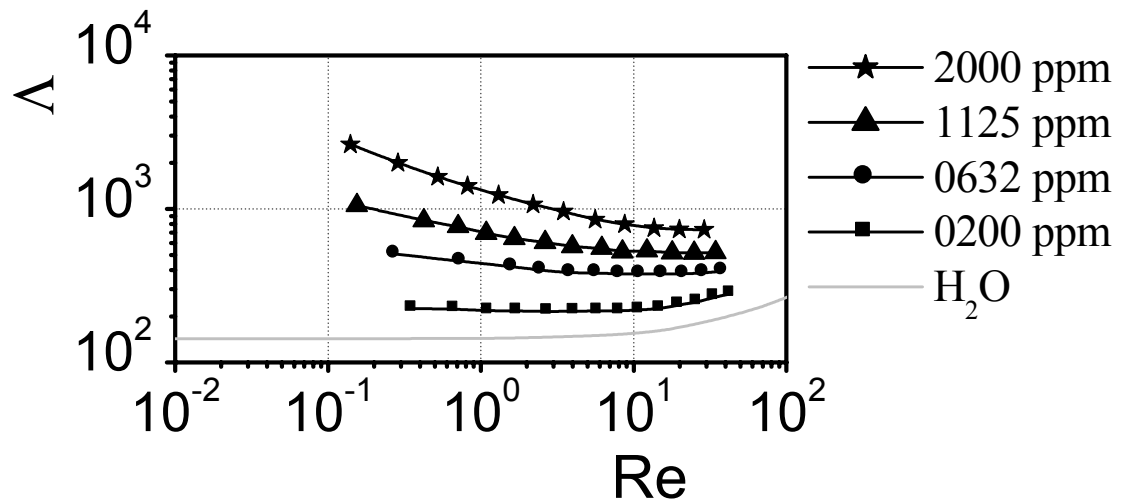


Abbildung 19: Widerstandbeiwert Δ als Funktion der REYNOLDSzahl Re für HPC verschiedener Konzentration in 0.1 molarer Natriumnitrat-Lösung bei 25 °C.

Es kann auch hier ein korrigierter Widerstandsbeiwert unter Berücksichtigung der scheinbaren Viskositäten errechnet werden. Dieser ist in Abbildung 20. als Funktion der ebenso korrigierten REYNOLDSzahl abgebildet. Es ist zu erkennen, daß auch der korrigierte Kurvenverlauf der HPC dem Verlauf eines NEWTONSchen Fluids sehr ähnlich ist. Bei der HPC treten im beobachteten Konzentrationsbereich keine Trägheitseffekte auf, was auch hier durch eine mangelnde Elastizität der Proben zu erklären.

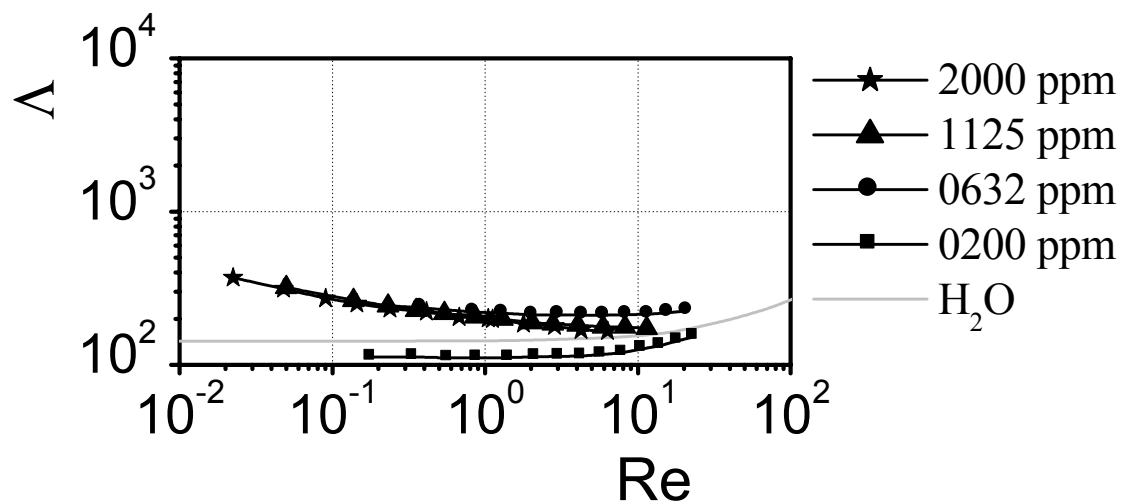


Abbildung 20 Korrigierter Widerstandbeiwert Δ als Funktion der korrigierten REYNOLDSzahl Re für HPC verschiedener Konzentration in 0.1 molarer Natriumnitrat-Lösung bei 25 °C.

Weiterhin ist zu beachten, daß die Molmasse der HPC nur 898000 g/mol beträgt und sich damit am Rande der dehnreologisch zu detektierenden Molmasse befindet. Der leichte Anstieg des Widerstandsbeiwertes bei hohen REYNOLDSzahlen ist durch den Übergang zum turbulenten Strömungsbereich zu erklären.

Weiterhin auffällig ist, daß nicht alle Kurven auf der theoretischen Kurve für ein NEWTONSches Fluid liegen. Dieser Umstand ist wiederum dadurch zu erklären, daß man beim Übergang von der 200 ppm Lösung zur 632 ppm Lösung der kritische Konzentration von 0.071 % sehr nahe kommt.

Wie im beiliegenden Anschreiben ausgeführt, konnten bislang keine Untersuchungen an Bierproben durchgeführt werden.

3 Ausblick

Eine Fortführung der Untersuchung zur Beseitigung von Filtrationsproblemen von Würze und Bier durch Glucanase ist in den nachfolgenden Richtungen wünschenswert.

3.1 Bestimmung des Dehnströmverhaltens von Bieren und Entwicklung von mechanischen Degradationsmethoden im Dehnfeld

Die Untersuchung des Dehnströmverhaltens von entgasten nativen Bieren steht nach wie vor aus. Da unsere Kooperationspartner der Holstenbrauerei, Herr Ing. Doetsch und Herr Schuhmacher, mit denen die Vereinbarungen zur Lieferung des entgasten Bieres getroffen wurden und die weitere Vorgehensweise geplant wurde, das Unternehmen im gegenseitigen Einverständnis im Oktober und September 2003 verlassen haben, konnten wir die geplanten Untersuchungen bislang nicht durchführen.

Die Untersuchung des Dehnströmverhaltens ist Grundvoraussetzung für die Entwicklung von Degradationsmethoden basierend auf Dehnströmungen. Insbesondere die Abhängigkeit einer Degradation von den molekularen Parametern muss untersucht werden, um eine Degradation bis unter die kritische minimale Molmasse zu erreichen, die nach den Ergebnissen dieses Berichtes zur erhöhten Kontaktwahrscheinlichkeit zwischen möglichen Kontaktstellen der Polymerketten und damit zur Gelbildung führt.

3.2 Detektion des transienten Dehnverhaltens mit einem Caber Dehnrheometer

Das transiente Verhalten eines Glucanmoleküls in einem Dehnströmfeld, insbesondere die Streckung aus seinem Gleichgewichtszustand, das Erreichen seines maximalen Dehnungszustandes und das nachfolgende Aufbrechen des Moleküls können mit Hilfe eines Capillary Breakup Extensional Rheometers (CaBER) erfasst werden. Diese am Massachusetts Institute of Technology (MIT) entwickelte Messmethode steht durch den Wechsel des Herrn Dr. C. Clasen an unser Institute zur Verfügung und erlaubt als Ergänzung zur Erfassung des stationären Dehnströmverhaltens mit der porösen Messstrecke nun auch die Bestimmung des transienten Verhaltens. Die Kombination beider Techniken ermöglichen eine wesentlich detailliertere Beschreibung möglicher mechanischer Degradationsmethoden des Glucans im Bier.

3.3 Sequenzanalyse verschiedener nativer Gersten

Die Untersuchung nativer Gersten nach dem neu entwickelten Modell hinsichtlich ihrer regelmäßigen Abfolgen von Cellotrioseblöcke (als zur Assoziation befähigten Strukturelemente) sollte die Ermittlung problematischer Gerstensorten schon

vor der Gelbildung ermöglichen. Eine Oligomerenanalyse der durch Lichenase (E.C. 3.2.1.73) enzymatisch abgebauten und zuvor direkt aus der nativen Gerste isolierten Glucane ermittelt durch Anionenaustauschchromatographie mit gepulster amperometrischer Detektion den Gehalt an Oligomeren mit dem Polymerisationsgrad von $P = 3$, (das in der Glucankette einem Block von drei über β -(1 \rightarrow 4) Bindungen verknüpften Glucoseeinheiten entspricht (sog. Cellotrioseeinheit)). Die so ermittelten, als kritisch eingestuften Gersten sollten dann hinsichtlich Ihrer Gelbildungstendenz mit den unkritischen verglichen, und ihr möglicher Einsatz als Braugerste evaluiert werden.

4 Literatur

- Bamforth, C. W. (1994). "b-Glucan and b-Glucanases in Malting and Brewing: Practical aspects." Brewers Digest **59**: 12-21.
- Barnes, H. A., J. F. Hutton, et al. (1989). An Introduction to rheology. Amsterdam, Elsevier.
- Böhm, N. (1998). Isolierung, Charakterisierung und Untersuchung des Gelierverhaltens von (1,3)(1,4)-b-Glucanen. Fachbereich Chemie. Hamburg, Universität Hamburg: 114.
- Böhm, N. and W. M. Kulicke (1999). "Rheological studies of barley (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)-beta-glucan in concentrated solution: mechanistic and kinetic investigation of the gel formation." Carbohydrate Research **315**(3-4): 302-311.
- Clasen, C. (2001). Neue Charakterisierungsmöglichkeiten von supramolekularen Strukturen in Biopolymerlösungen mit rheo-optischen Methoden. Aachen, Shaker Verlag.
- Clasen, C. and W. M. Kulicke (2001). "A convenient way of interpreting steady shear rheo-optical data of semi-dilute polymer solutions." Rheologica Acta **40**(1): 74-85.
- Clasen, C. and W. M. Kulicke (2001). "Determination of viscoelastic and rheo-optical material functions of water-soluble cellulose derivatives." Progress in Polymer Science **26**(9): 1839-1919.
- Clasen, C. and W. M. Kulicke (2003). "Rheo-optical studies of barley (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)-beta-glucan solution: Detection of the flow behavior of aggregates in the sol state." Journal of Rheology **47**(2): 321-335.
- Edney, M. J., B. A. Marchylo, et al. (1991). "Structure of total barley beta-glucan." J. Inst. Brew. **97**: 39-44.
- Elias, H. G. (2001). Makromoleküle: Physikalische Strukturen und Eigenschaften. Weinheim, Wiley-VCH.
- Esser, K. D. (1994). "Versuch einer kritischen Auswertung der Vorhersagemethoden für die Filtrierbarkeit des Bieres." Brauwelt **46/47**: 2508-2514.
- Fuller, G. G. (1995). Optical Rheometry of Complex Fluids. London, Oxford University Press.
- Gjertsen, P. (1966). "Beta-glucans in malting and brewing. I. Influence of beta-glucans on the filtration of strong beers." Proc. Am. Soc. Brew. Chem.: 113-120.
- Henriksson, K., A. Telemann, et al. (1995). "Hydrolysis of barley (1,3)(1,4)-b-D-glucan by a cellobiohydrolase II preparation from *Trichoderma reesei*." Carbohydr. Polym. **26**: 109-119.

- Izawa, M., Y. Kano, et al. (1993). "Relationship between structure and solubility of (1,3)(1,4)-b-D-glucan from barley." J. Am. Soc. Brew. Chem. **51**: 123-127.
- Krüger, E., N. Wagner, et al. (1989). "Analytik und rheologisches Verhalten der b-Glucane in Bier." Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. **22nd**: 425-436.
- Krüger, E., N. Wagner, et al. (1991). "Variables influencing beer filtration." Brauwelt Int.: 24-35.
- Kulicke, W.-M. (1986). Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen. Basel, Heidelberg, New York, Hüthig und Wepf.
- Letters, R. (1977). "b-Glucans in Brewing." Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. **16th**: 211-224.
- Letters, R., H. Byrne, et al. (1985). "The complexity of beer b-glucans." Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. **20th**: 395-402.
- Macosko, C. (1994). Rheology: Principles, Measurements, and Applications. New York, VCH Publishers.
- Martin, H. L. and C. W. Bamforth (1980). "The relationship between beta-glucan solubilase, barley autolysis and malting potential." J. Inst. Brew. **86**: 216-221.
- McCleary, B. C. (1988). "Purification of (1->3),(1->4)-b-D-Glucan from barley flour." Methods in Enzymology **160**: 511-514.
- McIver, R.G., et al. (1968). "Kinetic study of the retrogradation of gelatinized starch." J. Sci. Food Agric. **19**: 560-563.
- Narziß, L. (1992). "b-Glucan und Filtrierbarkeit." Brauwelt **37**: 1696-1706.
- Narziß, L., E. Reicheneder, et al. (1989). "Importance of Beta-Glucan size and concentration in malting." Monatsschr. Brauw. **42**: 430-437.
- Narziß, L., E. Reicheneder, et al. (1989). "Studying a beer filtration with an accurate beta-glucan assay." Monatsschr. Brauw. **42**: 277-285.
- Perlin, A. S. and S. Suzuki (1962). "The structure of lichenin: selective enzymolysis studies." Can. J. Chem. **40**: 50-56.
- Stewart, D. C., D. Hawthorne, et al. (1998). "Cold Sterile Filtration: A Small Scale Filtration Test and Investigation of Membrane Plugging." J. Inst. Brewing **104**: 321-326.
- Sudarmana, D. L., M. R. Goldsmith, et al. (1996). "Microfiltration studies with a modified membrane filterability procedure." Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas **33**(1): 63-72.
- Vermant, J., P. Van Puyvelde, et al. (1998). "Anisotropy and orientation of the microstructure in viscous emulsions during shear flow." Langmuir **14**(7): 1612-1617.
- Wagner, N., K. D. Esser, et al. (1988). "Analytik und Bedeutung hochmolekularer b-Glucane in Bier." Monatsschr. Brauw. **41**: 384-395.
- Wagner, N., K. D. Esser, et al. (1990). "Analytik und Bedeutung hochmolekularer b-Glucane im Bier." Monatsschr. Brauw. **40**: 384-395.
- Wagner, N., G. He, et al. (1991). "Bedeutung von b-Glucan-Gel für die Filtrierbarkeit von Bier." Brauwelt **12**: 426-434.
- Whistler, R. L. (1977). "Hydrogels - synthetic and natural." Tappi **60**: 64-67.
- Wood, P. J., J. Weisz, et al. (1991). "Molecular characterization of cereal-b-D-glucans. Structural analysis of oat b-D-glucan and rapid structural evaluation of b-D-glucans from different sources by high performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase." Cereal chem. **68**: 31-39.
- Wood, P. J., J. Weisz, et al. (1994). "Structural studies of (1,3)(1,4)-b-D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-

- like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase." Cereal Chem. **71**: 301-307.
- Woodward, J. R. and G. B. Fincher (1982). "Substrate specificities and kinetic properties of two (1,3)(1,4)-b-D-glucanases from germinating barley." Carbohydr. Res. **106**: 111-122.
- Woodward, J. R., G. B. Fincher, et al. (1983). "Water soluble (1,3),(1,4)-beta-D-glucans from barley endosperm.II. Fine structure." Carbohydr. Polym. **3**: 207-225.
- Yang, H., H. J. Zhang, et al. (1998). "Rheo-optical investigation of immiscible polymer blends." Polymer **39**(23): 5731-5737.