

OPTISCHE IN-SITU MESSUNG DES PH-WERTS UNTER HOCHDRUCK AN INTRANSPARENTEN MEDIEN

OPTICAL IN-SITU MEASUREMENT OF THE PH-VALUE UNDER HIGH PRESSURE IN OPAQUE MEDIA

M. Nagel, A. Wierschem, C. Rauh, A. Delgado

Lehrstuhl für Strömungsmechanik, Universität Erlangen-Nürnberg, D-91058 Erlangen

pH, Hochdruck, optische Methoden, in-situ-Messung, intransparente Medien
pH, high pressure, optical methods, in-situ measurement, opaque media

Zusammenfassung

Es wird eine Messmethode vorgestellt, bei der der pH-Wert an optisch zugänglichen Oberflächen mit in Kunststoff immobilisierten Indikatoren unter Hochdruck (bis 700 MPa) bestimmt werden kann. Die Indikatoren werden durch kovalente Bindung an Polyvinylalkohol (PVA) immobilisiert, an Reflektionssonden fixiert und mit einer Lichtquelle bestrahlt. Je nach Indikatortyp wird hierzu eine Breitband- oder eine UV-Lichtquelle verwendet. Die Reflektionsspektren der Sonden werden bei verschiedenen pH-Werten vor und nach mehreren Hochdruckbehandlungen aufgenommen. Die gemessenen Spektren zeigen eine deutliche Abhängigkeit vom pH-Wert. Erste Ergebnisse zur Bestimmung des pH-Werts aus den gemessenen Spektren von immobilisiertem Fluoreszein sind viel versprechend: Erstmalige Hochdruckbehandlung der Reflektionssonden führte zu einer leichten, dauerhaften Verschiebung der Spektren, was vermutlich durch eine druckinduzierte Kompaktierung der Indikatorschicht verursacht wird. Optisch konnte keine Beschädigung der Beschichtungen durch Hochdruckbehandlung festgestellt werden, auch ein „Ausbluten“ bzw. „in Lösung gehen“ des gebundenen Indikators in die Probe wurde bei der ersten Hochdruckbehandlung entweder gar nicht oder nur in äußerst geringem Ausmaß beobachtet.

Einleitung

Der pH-Wert bzw. pH-Bereich ist eine wichtige Prozesskenngröße. Dies gilt insbesondere auch für die Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln: Bei der Entkeimung von Lebensmitteln und damit dem Vorliegen einer Probenzusammensetzung mit unterschiedlichen Dissoziationskonstanten der Komponenten beispielsweise verursacht die Hochdruckbehandlung pH-Wert-Inhomogenitäten von etwa 0,5 - 1 pH-Einheiten. Veränderungen des pH-Werts um eine Einheit wiederum können die erzielbare Entkeimung stark beeinträchtigen und zu unerwünschten Produktveränderungen führen.

Bei transparenten, farblosen und leicht trüben Medien können Flüssigindikatoren zur optischen Bestimmung des pH-Wertes bzw. pH-Wert-Bereichs eingesetzt werden. Bei trüben oder stark gefärbten Lösungen aber auch bei Prozessen, bei denen aus chemischen, physikalischen oder biologischen Gründen keine Indikatoren beigemischt werden können, lässt sich diese Methode nicht anwenden. Allerdings kann in diesen Fällen der pH-Wert auch

weiterhin optisch bestimmt werden, indem die Indikatoren an einem Sichtfenster bzw. einem Lichtwellenleiter immobilisiert werden. In diesem Verfahren wird nicht mehr das Transmissionssignal sondern das Reflektionssignal ausgewertet. Im Folgenden wird eine solche Messmethode vorgestellt.

Immobilisierung der Indikatoren

Es wurden die pH-Indikatoren Phenolphthalein, o-Kresolphthalein und Fluoreszein immobilisiert. Phenolphthalein ist ein Triphenylmethanfarbstoff und bildet die Basisverbindung der Familie der Phthaleine. Bei einem pH-Wert von 0 bis etwa 8,2 ist gelöstes Phenolphthalein farblos, bei höherem pH-Wert färbt die Lösung sich rötlich-pink. Kresolphthalein zeigt ein analoges Verhalten. Fluoreszein ist ein stark fluoreszierendes Molekül, das häufig als Säure-Base-Indikator verwendet wird. Seine Emissionsintensität ist abhängig von der Deprotonierung in wässrigen Lösungen und ist somit stark pH-abhängig. Der pH-Bereich des Indikators liegt zwischen pH 0 und pH 10.

Die Immobilisierung der Indikatoren wird durch ein 2-stufiges Verfahren erreicht. In der ersten Stufe reagiert der Indikator in alkalischem Milieu mit Formaldehyd. Die Reaktion findet bei ca. 430 K unter Schutzgasatmosphäre (Stickstoff) statt. Die anschließende Zugabe von Säure verursacht das Ausfällen einer Indikator-Formaldehyd-Verbindung als wasserunlösliches Pulver. Das entstandene Pulver wird aufgereinigt und getrocknet. Das Indikator-Formaldehyd kann neben der Immobilisierung an PVA auch in Ethanol gelöst in Flüssigkeiten eingesetzt werden (Zhihong *et al.* 2005).

Die kovalente Bindung des jeweiligen Indikators an PVA findet ebenfalls unter Schutzgas in Lösungsmittel (DMSO – Dimethylsulfoxid) knapp an der Siedetemperatur des Lösungsmittels statt. Der formulierte Indikator-Formaldehyd-Polyvinylalkohol (z.B. Fluoreszein-Formaldehyd-Polyvinylalkohol) in DMSO wird flüssig auf die zu beschichtende Oberfläche -z.B. Glasfaserkabel, Sichtfenster der Hochdruckzelle oder Küvette– aufgebracht und das Lösungsmittel ausgetrocknet. Die Trockentemperatur muss dabei die Glastemperatur von PVA (ca. 358 K) überschreiten, um eine stabile Kunststoffbeschichtung zu bilden. Nach dem Trockenvorgang wird mit einer leicht alkalischen Lösung ungebundenes Indikator-Formaldehyd aus der Beschichtung ausgespült.

Nach bisherigen Untersuchungen lassen sich neben Glas (Quarzglasküvetten, Saphirglasfenster) auch unterschiedliche Kunststoffe wie PMMA (Polymethylmethacrylat, Acrylglas), beschichten. Dabei ist beim Trocknungsvorgang zu beachten, dass die Glastemperatur bzw. Schmelztemperatur des zu beschichtenden Mediums über der Glastemperatur von PVA liegt. Lösungsmittel- und Kunststoffanteil der Beschichtungslösung müssen ebenfalls dem Trägermaterial angepasst werden

Experimenteller Aufbau

Die Indikatoren Phenolphthalein und o-Kresolphthalein wurden mit einer Deuterium-Halogen Lichtquelle (Micropack DH-2000-S) bestrahlt, für Fluoreszein wurden UV-LEDs (Wellenlänge: 405 nm Strahlstärke: 40 mW/sr) als Lichtquelle verwendet. Die Lichtführung erfolgte mit Hilfe von Glasfaserleitern bis zu einer Kondensorlinse. Der durch die Linse aufgeweitete Strahl wird rückseitig auf die mit den Indikatoren beschichtete transparente Behälterwand gerichtet. Das von Phenolphthalein oder o-Kresolphthalein reflektierte Licht bzw. die Fluoreszenzantwort von Fluoreszein wird mit derselben Kondensorlinse gesammelt und über einen Y-Verteiler zu einem CCD-Spektrometer (Ocean Optics S2000) weitergeleitet, mit dem die wellenlängenabhängige Intensitätsverteilung der Strahlung quantifiziert wird. Abbildung 1 zeigt den experimentellen Aufbau.

Für jeden Indikator wurde mit Hilfe von pH-Bufferlösungen für jede pH-Stufe (pH 1 bis pH 12) ein Spektrum unter Normaldruck aufgenommen. Dabei wurden die Spektren des an der Glasküvette immobilisierten Indikators mit denen des Formaldehyd-Derivat (1. Stufe der Immobilisierung) und des reinen Indikators verglichen. Sowohl das Derivat als auch der reine Indikator wurden dazu in Ethanol gelöst. Vor Aufnahme der Spektren wurde jeweils 30 Sekunden gewartet, um eine vollständige Durchfärbung des Indikators zu gewährleisten. Die beschichteten Glasküvetten wurden anschließend drei Hochdruckzyklen ausgesetzt. Die Hochdruckzyklen bestanden aus einer jeweiligen Haltezeit von 15 Minuten bei 500 MPa. Nach der Hochdruckbehandlung wurden die beschichteten Küvetten erneut vermessen. Um Fehler individueller Beschichtungen zu minimieren, erfolgte jede Messung in Dreifachbestimmung mit jeweils neu angesetzten Indikatorlösungen und neu aufgetragenen Beschichtungen.

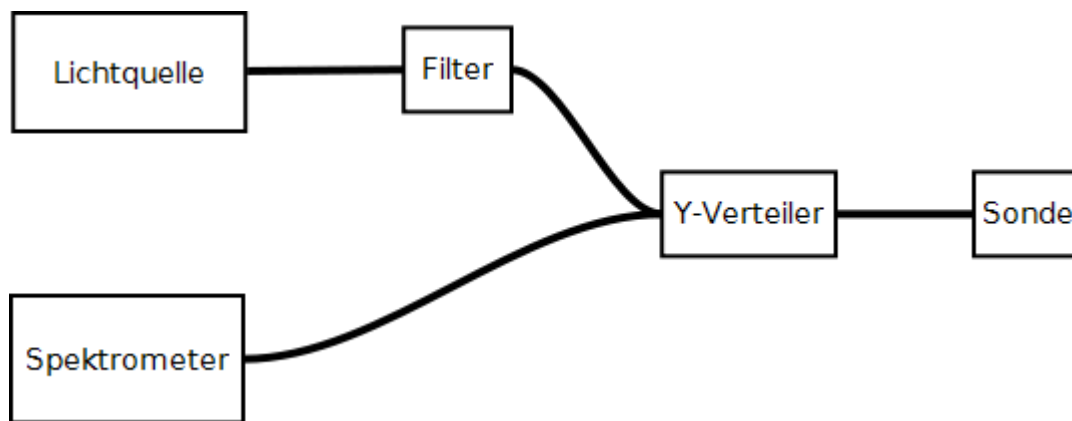


Abb. 1: Experimenteller Aufbau. Die Lichtquelle bestrahlt die Sonde, die in direktem Kontakt mit der Probe ist. Der Filter wird zur Einstellung der Lichtintensität verwendet. Das von der Sonde ausgesendete Licht wird über den Y-Verteiler an das Spektrometer übertragen und ausgewertet.

Als Referenz für die Intensitätsverteilung diente eine unbehandelte Glasküvette mit destilliertem Wasser. Um den Einfluss von Abstandsvariationen zwischen den Indikatoren und der Kondensorlinse zu minimieren, wurden die Spektren gegen ein Frequenzband im kurzwelligen UV-Bereich normiert, in dem die Glasoberfläche der Küvette laut Herstellerangabe zu 100 % reflektiert, also kein Licht die Indikatoren erreicht.

Resultierende Spektren

Die gemessenen Spektren werden nachfolgend am Beispiel von Phenolphthalein vorgestellt. Die Abbildungen zeigen jeweils Spektren vor und nach dem vollständigen Farbumschlag von farblos nach violett ausgewählt.

Der Farbumschlag von Phenolphthalein ist auch in einem Reflektionsspektrum deutlich zu erkennen. Abbildung 2 zeigt zudem, dass sich das Reflektionsspektrum bei reinem Phenolphthalein in Ethanol bei einer Änderung des pH-Werts von 8 auf 9,5 deutlich ändert. Von einer nahezu konstanten Intensität im gesamten sichtbaren Wellenlängenbereich bei pH 8 sinkt die Intensität im Blauen und Grünen deutlich ab. Bei ca. 330 nm und 420 nm bilden sich dabei zwei stark ausgeprägten lokale Maxima aus. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch das immobilisierte Phenolphthalein. Allerdings erfolgt der Farbumschlag erst ab einem pH-Wert von pH 9,5. Zudem erstreckt sich der Übergangszustand über einen größeren pH-Wertbereich. Der vollständige Farbumschlag ist erst bei einem pH-Wert von 12,8 erreicht. Es

wird vermutet, dass dieses Verhalten durch eine verlangsamte Diffusion der H⁺ Ionen durch die Polymermatrix verursacht wird. Ob dies durch eine verlängerte Wartezeit vor der Messung ausgeglichen werden kann wird in einer neuen Messreihe aktuell untersucht.

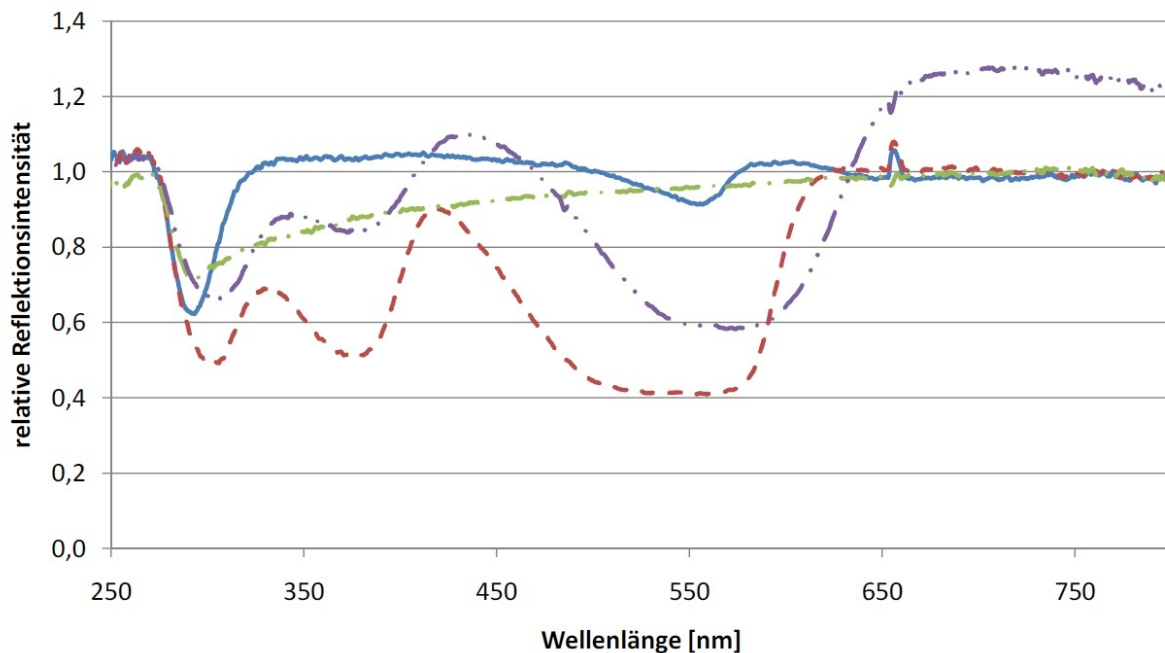


Abb. 2: Normierte Reflektionsspektren von reinem Phenolphthalein in Ethanol bei pH 8 (—) und 9,5 (— —) und immobilisiertem Phenolphthalein bei pH 9,5 (— • —) und 12,8 (— • • —).

Das pH-sensitive Verhalten des immobilisierten Phenolphthaleins bleibt auch nach mehreren Hochdruckzyklen erhalten. Einen Vergleich der Reflektionsspektren um den Punkt des Farbumschlags vor und nach der Hochdruckbehandlung zeigt Abbildung 3. Unabhängig von der Hochdruckbehandlung zeigen die Spektren den für den jeweiligen pH-Wert typische qualitativen Verlauf. Allerdings sind die Kurven in der Frequenz und Intensität verschoben. Diese Verschiebung wird vermutlich durch eine Kompaktierung der Indikatorschicht während der Hochdruckbehandlung verursacht.

Die anderen immobilisierten Indikatoren o-Kresolphthalein und Fluoreszein zeigen qualitativ das gleiche Verhalten wie Phenolphthalein: Die Indikatorreaktion bleibt nach der Immobilisierung erhalten. Ebenso führt die Hochdruckbehandlung der pH-sensitiven Küvettenbeschichtung zu keinen qualitativen Veränderungen in den Spektren. Optisch konnte keine Beschädigung der Beschichtungen durch Hochdruckbehandlung festgestellt werden. Ein „Ausbluten“ bzw. „in Lösung gehen“ des gebundenen Indikators in die Probe wurde bei den ersten Hochdruckbehandlungen bei Phenolphthalein und o-Kresolphthalein gar nicht und bei Fluoreszein nur in äußerst geringem Ausmaß beobachtet. Möglicherweise handelt es sich dabei aber nur um kleine Mengen Fluorescein-Formaldehyd, die bei der Immobilisierung nicht ausgespült wurden und wegen des hohen Färbevermögens von Fluoreszein sichtbar waren.

Bei immobilisiertem Fluoreszein hängt die Fluoreszenzantwort stark vom pH-Wert ab. Wie Abbildung 4 zeigt, kann selbst eine halbe pH-Stufe noch deutlich unterschieden werden. Auch diese Sensitivität bleibt nach der Hochdruckbehandlung erhalten.

Dies zeigt wie auch die anderen bisher durchgeführten Untersuchungen, dass sich die entwickelten immobilisierten Indikatoren für die Messung des pH-Wertes bzw. pH-Bereichs unter Hochdruck eignen.

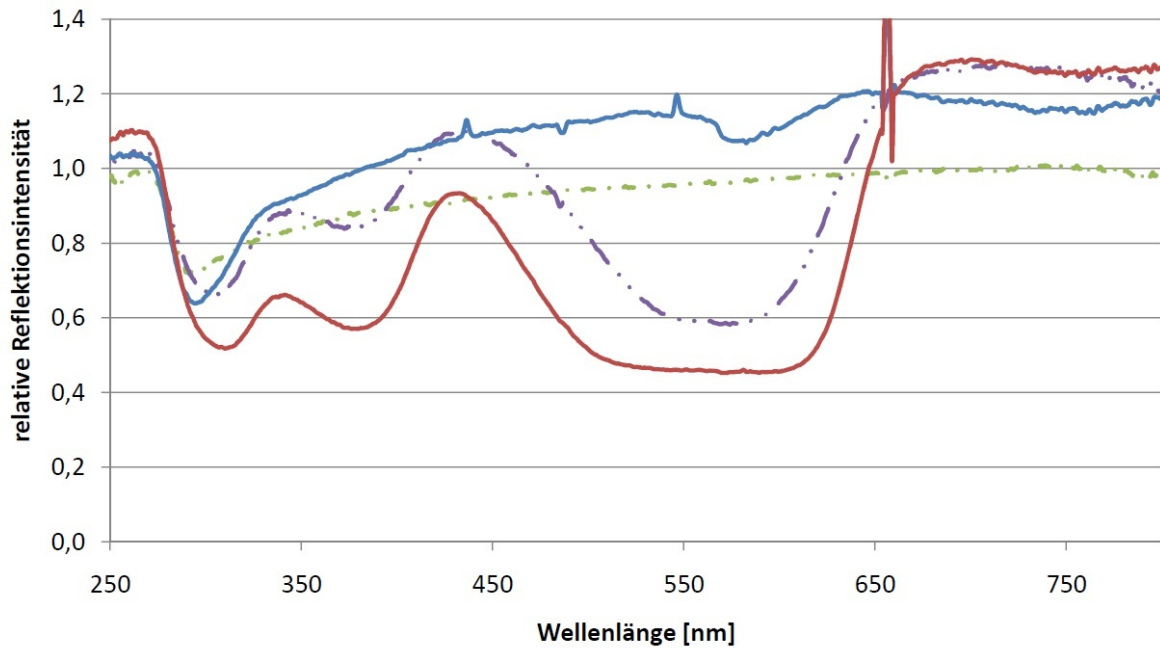


Abb. 3: Normierte Reflektivitätsspektren von immobilisiertem Phenolphthalein vor der Hochdruckbehandlung bei pH 9,5 (— • —) und 12,8 (— • • —) und nach der Hochdruckbehandlung bei pH 9,5 (—) und 12,8 (— —).

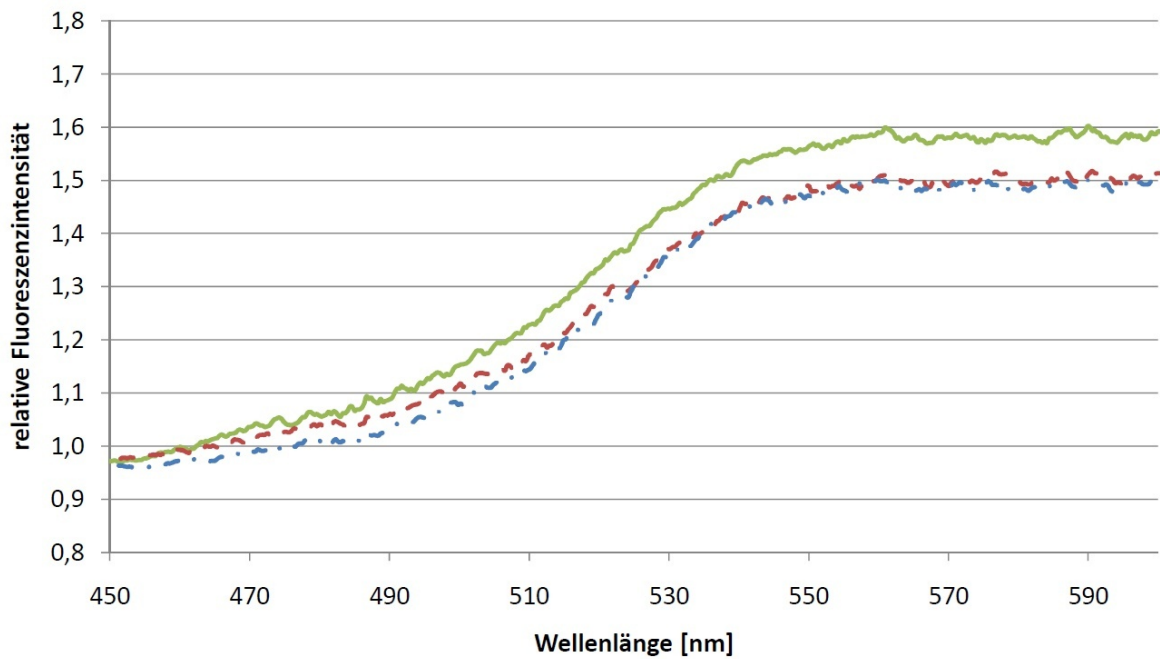


Abb. 4: Normierte Fluoreszenzspektren von immobilisiertem Fluorescein bei pH 4,0 (—), 4,5 (— —) und 5,0 (— • —).

Ausblick

Aktuell wird eine optische in-situ pH-Messung mit Hilfe von immobilisiertem Fluoreszein entwickelt. Erste Ergebnisse, aus den gemessenen Fluoreszenzspektren von immobilisiertem Fluoreszein den pH-Wert zu bestimmen, sind viel versprechend. Abbildung 5 vergleicht die pH-Wertbestimmung mit immobilisiertem Fluoreszein mit den Werten, wie sie mit einem Labormessgerät bestimmt wurden. Dabei wurde für jeden Versuch jede beschichtete Küvette einzeln mit mehreren Messpunkten kalibriert werden. Die entwickelten Messgeräte sollen zukünftig an einer Hochdruckzelle angebaut und unter Hochdruck eingesetzt werden.

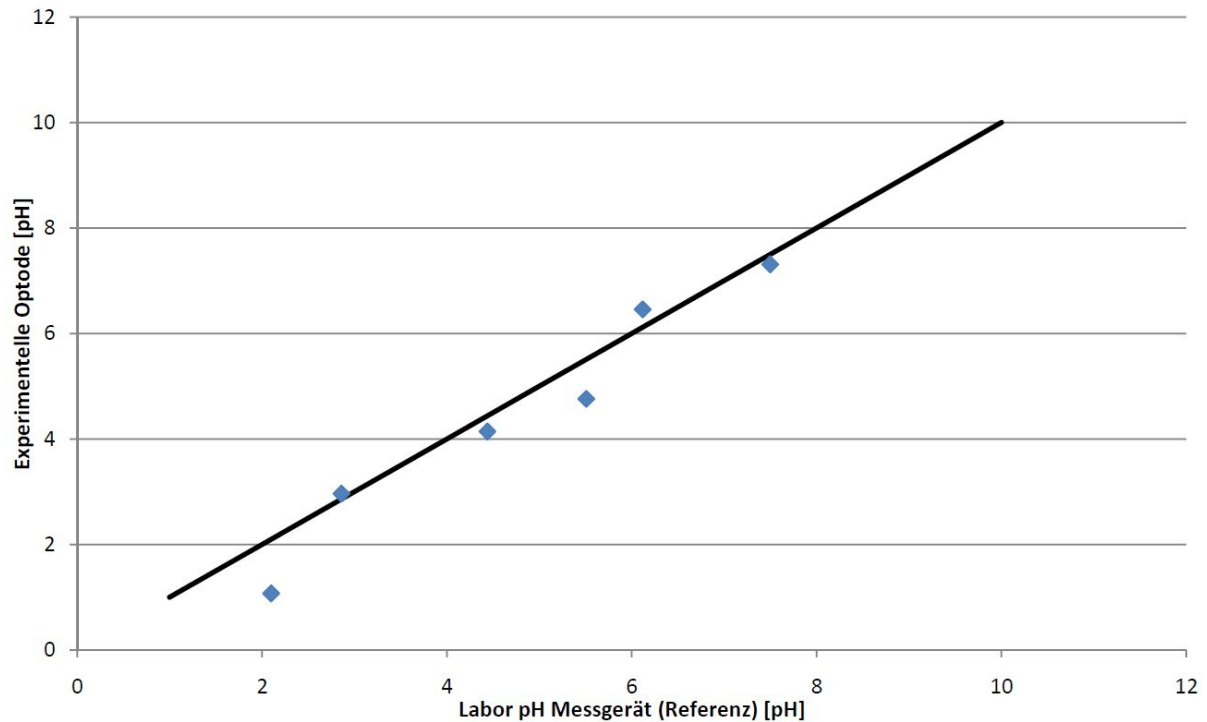


Abb. 5: Erste Versuche mit einer experimentellen Optoden den pH-Wert aus dem Fluoreszenzsignal von Fluoreszein zu ermitteln. Aufgetragen sind die von der Optode ermittelten Werte in Referenz zu einem Labormessgerät. Die durchgezogene Linie gibt die Winkelhalbierende des Koordinatensystems an.

Literatur

Zhihong L., Shuyu G., Tianlu C., 2005: "Fluorescein-Formaldehyde Oligomeric pH Indicator: Facilitation, Synthesis, Characterization, and Potential Application", *Journal of Polymer Science* **43**, 3447-3453