

Phasendiagramm des sogenannten Ouzo-Effekts unter Verwendung temperaturgesteuerter UV-Vis-Spektroskopie

Gleichzeitige Experimente mit Temperaturanstieg unter Verwendung des Agilent Cary 3500 UV-Vis und der Multizonenfunktion des Multiküvetten-Probenmoduls

Autoren

Marc-André Gagnon und
Claire Cislak
Agilent Technologies, Inc.

Einführung

Ein Phasendiagramm ist von grundlegender Bedeutung in der Chemie. Es zeigt, wie sich der physikalische Zustand einer Substanz als Funktion von zwei Variablen ändert, beispielsweise von Temperatur und Druck oder auch von Temperatur und Konzentration. Phasendiagramme werden durch das Aufzeichnen von Kurven erstellt, die die Bedingungen zeigen, unter denen verschiedene Phasen eines Stoffes im Gleichgewicht koexistieren. Die Linien in einem Phasendiagramm stellen Phasengrenzen dar, beispielsweise die Grenze zwischen einer festen und einer flüssigen Phase oder zwischen einer flüssigen Phase und einer Gasphase. Diese Grenzen charakterisieren die Bedingungen, unter denen Phasenübergänge stattfinden. Daher gibt die Veränderung der entsprechenden Variable in einem bestimmten Phasendiagramm zur Verschiebung eines Werts von einer Seite dieser Grenze auf die andere Aufschluss über die für einen Phasenübergang erforderlichen Bedingungen. Dieser Prozess kann zeitaufwändig sein, da mehrere Experimente durchgeführt werden müssen, um ein umfassendes Phasendiagramm zu erstellen.

Ein Löslichkeitsdiagramm, das als eine mit einem Phasendiagramm vergleichbare Darstellung betrachtet wird, zeigt, wie sich eine oder mehrere Substanzen mit einer anderen Substanz verbinden. Es gibt Aufschluss über die Löslichkeit (gelöste Stoffe bilden Lösungen mit Lösemitteln basierend auf Konzentration und Temperatur) und Mischbarkeit (Substanzen vermischen sich, um eine homogene Lösung ohne Niederschlag zu bilden). Die Diagramme basieren auf günstigen oder ungünstigen Wechselwirkungen zwischen den untersuchten chemischen Substanzen.

Löslichkeitsdiagramme und Phasendiagramme geben Aufschluss darüber, wie Substanzen physikalisch untereinander und mit der Umgebung interagieren. Diese Studien sind daher für das Verständnis chemischer Prinzipien von wesentlicher Bedeutung.

Da sich die UV-Vis-Spektroskopie als für die Charakterisierung trüber Proben geeignet erwiesen hat¹, wurde sie zur Untersuchung des Ouzo-Effekts verwendet. Der Ouzo-Effekt beschreibt eine Art Emulgierung, die zwischen Wasser und den Terpenen alkoholischer Getränke wie griechischem Ouzo oder französischem Pastis auftritt. Eine bekannte Pastis-Marke enthält beispielsweise ein stark hydrophobes Terpen, Anethol (Abbildung 1), das für das Anisaroma des Schnapses verantwortlich ist. In seiner unverdünnten Form hat der Schnaps eine Ethanolkonzentration von 45 % (v/v). Bei dieser Ethanolkonzentration sind die Anetholmoleküle in der Wasser-Alkohol-Mischung vollständig löslich.

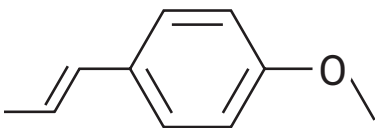


Abbildung 1. Chemische Struktur von Anethol, einem stark hydrophoben Terpen, das in einigen Pastis-Schnäpsen enthalten ist.

Pastis wird üblicherweise mit Wasser und Eis serviert, was die Alkoholkonzentration durch Verdünnung verringert und die Temperatur der Mischung senkt. Infolgedessen fallen die Anetholmoleküle in die wässrige Fraktion aus, was die Farbe des Getränks von klarem braun in milchiges Gelb verändert (Abbildung 2). Wie dieses Phänomen zustande kommt, ist nicht vollständig geklärt, aber die nahezu augenblickliche Veränderung fasziniert Chemiker und Nichtchemiker gleichermaßen.²



Abbildung 2. Zubereitung eines typischen Pastis-Getränks zur Veranschaulichung des Ouzo-Effekts. Die Kombination von unverdünntem Pastis (links), Wasser (Mitte links) und Eiswürfeln (Mitte rechts) ergibt ein milchiges gelbliches Getränk (rechts).

In dieser Arbeit wurde der Phasenübergang in verschiedenen Wasser-/Ethanolmischungen durch Messung des Ausmaßes der durch die Anetholsuspension in der Pastismischung verursachten Lichtstreuung untersucht. Wie bereits gezeigt, verfügt das Agilent Cary 3500 UV-Vis-Spektralphotometer dank des einzigartigen Optikdesigns über einzigartige Fähigkeiten zur Charakterisierung trüber Proben.¹

Cary 3500 UV-Vis-Spektralphotometer

Das Cary 3500 UV-Vis-Spektralphotometer ist ein vollständig austauschbares modulares System mit einer Xenon(Xe)-Blitzlampe als Lichtquelle und einem doppelten Out-of-Plane-Littrow-Monochromator. Die spektrale Bandbreite (SBW) des Monochromators kann von 0,1 bis 4,0 nm variiert werden. Mittels Faseroptik-Technologie wird das Quellsignal direkt und gleichzeitig zu allen Küvetten übertragen.

Bei Verwendung des Agilent Compact-Probenmodul mit der gemeinsamen Cary 3500 UV-Vis Engine hat der Analytiker Zugriff auf zwei Küvettenpositionen, während mit dem Agilent Multiküvetten-Probenmodul acht Küvetten zugänglich sind.

Sowohl das kompakte Peltier- als auch das Multiküvetten-Peltier-Probenmodul verwenden ein luftgekühltes Peltier-System zur Temperaturregulierung, das eine eingestellte Temperatur zwischen -5 und 110 °C erreichen und halten und die Temperatur außerdem mit Anstiegsraten von 0,1 bis 40 °C/min erhöhen kann.

Die einzigartige Multizonenfunktion des Multiküvetten-Probenmoduls ermöglicht die gleichzeitige Durchführung von vier temperaturregulierten Experimenten (vier Proben- und Referenzpaare) in getrennten Zonen. Diese Multizonenfunktion verbessert die Produktivität beim Erstellen von Mehrpunkt-Phasendiagrammen erheblich.

In dieser Studie wurde das Cary 3500 mit Multiküvetten-Peltier-Probenmodul verwendet, um Temperaturanstiegsstudien mit vier verschiedenen Alkohol-/Wassermischungen gleichzeitig durchzuführen. Für jede Versuchsreihe wurde die Temperatur unter ständigem Rühren zwischen 55 und -2,5 °C verändert, wobei acht Küvetten (vier Proben- und vier Referenzküvetten) im Probenmodul verwendet wurden. Die Ergebnisse zeigen,

wie mithilfe des Cary 3500 Multicell Peltier-UV-Vis-Systems zeiteffizient ein Acht-Punkte-Löslichkeitsphasendiagramm des Ouzo-Effekts erstellt werden kann.

Experimentelles

Probenvorbereitung

Insgesamt wurden acht Verdünnungen der Pastis-Probe direkt in oben offenen 10-mm-Quarz-Standardküvetten mit sternförmigem Rührstäbchen und Deckel vorbereitet. Die Konzentrationen der Proben betrugen 45,0 (unverdünnt), 44,0, 42,5, 40,0, 37,5, 35,0, 32,5 und 30,0 % (v/v) Alkohol. Aus Gründen der Einheitlichkeit wurde jede Küvette mit einem Gesamtvolumen von 2,00 ml Lösung gefüllt.

In optisch abgestimmten Quarzküvetten, die gleichfalls mit einem Rührstäbchen und einem Deckel versehen waren, wurden mit entsprechenden Verdünnungen von Ethanol mit deionisiertem (DI) Wasser Referenzproben hergestellt. Durch die Verwendung optisch abgestimmter Quarzküvettenpaare war vor dem Starten kein Nullen bzw. keine Basislinienmessung erforderlich. Alle Probenküvetten wurden mit einem Temperatursensor ausgestattet, der auf eine feste Höhe eingestellt war, sodass die Spitze vollständig in die Lösung eingetaucht war (Abbildung 4).

Geräte

Das mit dem Multiküvetten-Peltier-Probenmodul ausgestattete Cary 3500 UV-Vis-Spektralphotometer wurde mit der Agilent Cary UV Workstation-Software gesteuert.

In dem Multiküvetten-Peltier-Modul ist jede Küvette mit einem eigenen Detektor gekoppelt, und jede Küvette kann mit einem Rührer und einem eigenen Temperatursensor ausgestattet werden. In dieser Studie wurden deshalb alle vier Probenküvetten mit einem Temperatursensor versehen, um die Temperatur jeder Zone (mit einer Probe und einer Referenz) basierend auf der Ist-Temperaturanzeige der Probenküvette zu überwachen, zu messen und zu regulieren.

Wellenlängenscans wichtiger Mischungen/Komponenten

Vor den temperaturregulierten Experimenten mit den verschiedenen Alkoholkonzentrationen wurden UV-Vis-Spektren des unverdünnten Pastis-Schnapses, einer verdünnten Pastis-Lösung, die mit Ethanol auf 45 % (v/v) Alkohol eingestellt worden war, sowie einer verdünnten Pastis-Lösung mit 30 % (v/v) Alkohol unter Verwendung der in Tabelle 1 angegebenen Einstellungen aufgenommen. In der Referenzküvette befand sich die entsprechende Ethanolösung in deionisiertem -Wasser.

Tabelle 1. Agilent 3500 UV-Vis-Parameter zur Datenerfassung von UV-Vis-Spektren der unverdünnten und verdünnten Pastisprobe bei 25 °C.

Parameter	Einstellung
Wellenlängenbereich	200 bis 1100 nm
Datenintervall	1,00 nm
Mittelungszeit	0,02 s
Spektrale Bandbreite	4,0 nm
Rührgeschwindigkeit	800 U/min
Temperatur	25,0 °C

Untersuchung der Löslichkeitstemperatur

Die zur Messung der Löslichkeitstemperatur für jede Pastismischung verwendeten Temperaturanstiegsparameter sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Für alle Experimente wurde ein Startpunkt von 25,0 °C gewählt. Einige Mischungen erwiesen sich bereits bei Raumtemperatur als unlöslich. Daher wurde in Phase 1 des Temperaturanstiegsprogramms die Temperatur der Küvette auf 55 °C erhöht, um sicherzustellen, dass alle verbleibenden Partikel in der Suspension vollständig in Lösung gingen. In Phase 2 erfolgte dann die Erfassung der eigentlichen Daten im Extinktionsmodus von 55 bis -5 °C. Für alle Messungen wurde der in der Probenküvette jeder Zone angebrachte Temperatursensor für die Rückkopplungsschleife des Temperaturreglers verwendet. Weitere Einzelheiten zur Auswahl dieser Parameter sind im nächsten Abschnitt erläutert.

Tabelle 2. Agilent 3500 UV-Vis-Parameter für jede Phase des Temperaturprogramms.

	Phase 1 (Erwärmung)	Phase 2 (Abkühlung)
Wellenlänge	750,0 nm	750,0 nm
Mittelungszeit	1,0 s	1,0 s
Spektrale Bandbreite	4,0 nm	4,0 nm
Rührgeschwindigkeit	400 U/min	400 U/min
Starttemperatur	25,0 °C	55,0 °C
Endtemperatur	55,0 °C	-5,0 °C
Wartezeit	10,0 min	0 min
Datenintervall	1,0 °C	1,0 °C
Rate	5,0 °C/min	1,0 °C/min

Das Cary 3500 Multicell Peltier-Probenmodul ist mit einer Spüleleitung ausgestattet, um Kondensation an den Außenwänden der Küvette bei der Durchführung von Experimenten bei Temperaturen unter dem Taupunkt zu verhindern. Da für die Untersuchung des Ouzo-Löslichkeitsphasendiagramms Extinktionsmessungen unter 0 °C, dem Gefrierpunkt von Wasser, erforderlich waren, wurde Stickstoff (N₂) mit einer Flussrate von 10 l/min als Spülgas verwendet.

Ergebnisse und Diskussion

Identifizierung des Wellenlängenbereichs

Die charakteristische braune Farbe von purem Pastis mit 45 % (v/v) Alkohol wird durch Chromophore verursacht, die mit der Formulierung des spezifischen in dieser Studie verwendeten Schnapses in Zusammenhang stehen. Um den geeigneten Wellenlängenbereich für die Phasenübergangsmessungen zu ermitteln, wurden daher zunächst einige Kontrollscans durchgeführt.

Der unverdünnte Pastis (blaue Kurve in Abbildung 3) absorbiert stark bei Wellenlängen unter 500 nm bis zum Maximum des photometrischen Bereichs des mit einem Multiküvetten-Peltier-Modul ausgestatteten Cary 3500, d. h. etwa 4,5 Absorptionseinheiten.

Um die mit dem Pastis-Schnaps verbundenen Chromophore sichtbar zu machen, wurde eine verdünnte Pastis-Lösung hergestellt. Die Ethanolkonzentration wurde dabei konstant gehalten, um ein Ausfällen von Anethol zu verhindern. Die gelbe Kurve in Abbildung 3 zeigt zwei unterschiedliche Peaks bei 244 und 297 nm sowie Tailing bis 460 nm, wahrscheinlich aufgrund des Rands eines nicht aufgelösten Peaks. Dieses Tailing-Signal erstreckt sich im Spektrum des unverdünnten Pastis-Schnapses wahrscheinlich bis 600 nm (blaue Kurve). Diese Messungen lassen den Schluss zu, dass es keine signifikanten Chromophore gibt, die zu der Messung über 600 nm beitragen. Die grüne Kurve in Abbildung 3 einer Mischung mit niedrigerem Alkoholgehalt (30 %) ist repräsentativ für eine milchige Pastislösung bei Raumtemperatur.

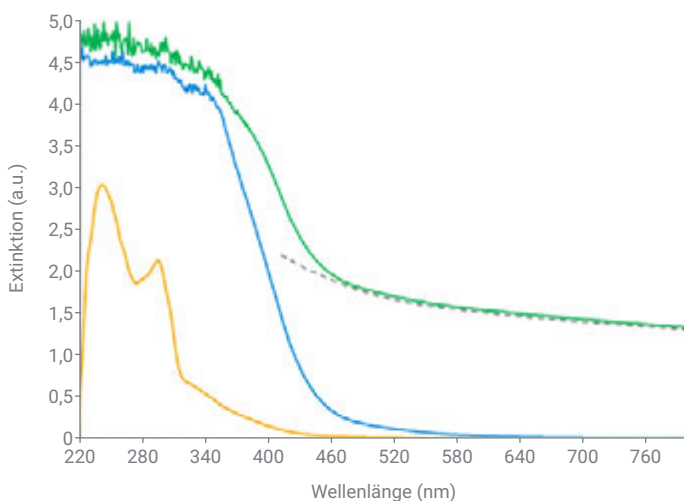


Abbildung 3. UV-Vis-Spektrum von unverdünntem Pastis (blau), 10-fach verdünntem Pastis in 45 % (v/v) Ethanol (gelb) und milchiger Pastis-Lösung mit 30 % (v/v) Alkohol (grün). Der Beitrag der Lichtstreuung zu der grünen Kurve ist durch die graue gestrichelte Linie dargestellt.

Zusätzlich zu den Chromophormerkmalen im Bereich von 200 bis 600 nm kann ein zusätzlicher Beitrag > 600 nm beobachtet werden, wie die graue gestrichelte Linie in Abbildung 3 zeigt. Dieses langsam abklingende Signal, das sich auf das Signal im gesamten Spektralbereich auswirkte, hängt mit der Lichtstreuung zusammen, die durch ungelöste Partikel in Suspension verursacht wird.

Zur Bestimmung der Phasenübergangstemperaturen wurde eine Wellenlänge von 750,0 nm gewählt. Das erkennbare Extinktionssignal bei 750,0 nm ist ausschließlich eine Funktion der Lichtstreuung und frei von jeglichem Beitrag von Chromophoren.

Optimierung der Temperaturbedingungen und Kühlraten

Die Mischungen mit niedrigerem Alkoholgehalt in dieser Studie hatten Übergangstemperaturen nahe der Umgebungstemperatur. Eine typische Löslichkeitskurve für eine Probe mit niedrigem Alkoholgehalt ist in Abbildung 4 dargestellt. Bei der Ausgangstemperatur von 25,0 °C ist die erkennbare Extinktion bei 750 nm aufgrund der Lichtstreuung durch ungelöstes Anethol in Suspension signifikant. Das anfängliche Erwärmen der Proben auf 55,0 °C (Phase 1 in Tabelle 2) reduziert die erkennbare Extinktion auf ~ 0 , da sich das ausgefällte Anethol im Ethanolanteil der Pastis-Lösung wieder löst. Die Erwärmungsrate ist in dieser Phase irrelevant, da das Ziel darin besteht, alle Partikel, die zu Lichtstreuung führen könnten, aufzulösen. Die Proben werden 10 Minuten lang bei der höheren Temperatur gehalten, damit alle langsamen Lösungsprozesse bis zum Ende ablaufen können.

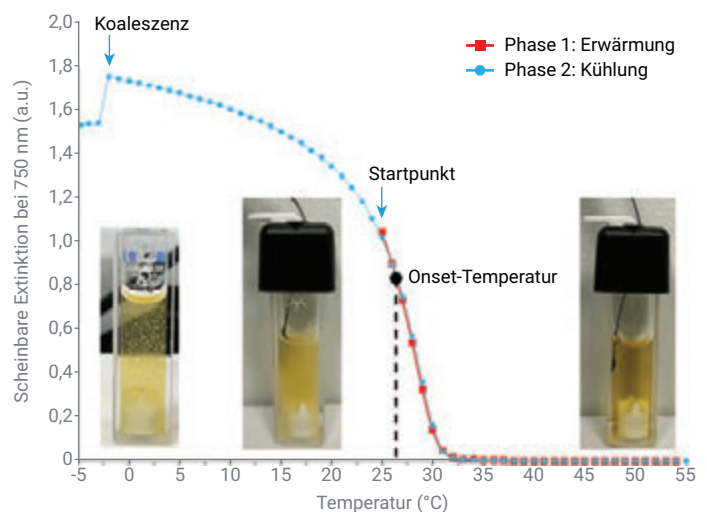


Abbildung 4. Eine typische Kurve des Phasenübergangs einer Pastisprobe mit 30 % (v/v) Alkoholgehalt. In Phase 1 (■) wurden die Proben unter ständigem Rühren auf 55 °C erhitzt, wodurch eine klare Lösung entstand, zu sehen in der Küvette rechts. In Phase 2 (●) wurde die Probe langsam auf -5 °C abgekühlt, wodurch eine milchige Lösung entstand, dargestellt in der mittleren Küvette. Ein zusätzlicher Phasenübergang fand in der Nähe des Gefrierpunkts von Wasser statt, zu sehen in der Küvette links.

Während der Kühlphase (Phase 2 in Tabelle 2) wurde die Temperatur in jeder Zone langsam mit einer Rate von $1,0\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ auf $-5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gesenkt. Vorläufige Tests mit einer schnelleren Abkühlrate ($> 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$) ergaben, dass der Anethol-Phasenübergang trotz des effizienten Rührens der Lösung kein Gleichgewicht erreichte. Die Kinetik des Phasenübergangs war bei der schnelleren Abkühlrate zu langsam, was zu einer Hysterese-Abkühlungs-/Erwärmungskurve führte (Daten nicht gezeigt).

Bei einer Abkühlrate von $1,0\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ oder langsamer wurden reproduzierbare Ergebnisse erzielt. Wenn die Temperaturbedingungen erfüllt sind, steigt die erkennbare Extinktion stark an, bevor sie ein Plateau erreicht. Dieser Wendepunkt wird als Onset-Temperatur bezeichnet. Der Grad an Lichtstreuung nimmt zu, wenn mehr Anethol ausfällt, und es gibt eine gewisse Anethol-Ausfällung im wässrigen Anteil selbst leicht verdünnter Pastisproben.

Bei einigen Lösungen wurde ein plötzlicher Abfall der erkennbaren Extinktion unter $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ beobachtet, wie in Abbildung 4 gezeigt. Trotz kontinuierlichen gründlichen Rührens der Lösung kam es bei einigen Lösungen unter $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ zu einer beginnenden Destabilisierung und Phasentrennung, wie durch Sichtprüfung der Küvetten bestätigt wurde. Dieses Phänomen wurde bereits früher beobachtet und auf Koaleszenz (Anetholtröpfchen verbinden sich zu größeren Tröpfchen), Flockung (Anetholtröpfchen lagern sich zusammen, ohne sich zu verbinden), Sedimentation (Trennung aufgrund von Dichteunterschieden) und Ostwald-Reifung (Zunahme der Anetholtröpfchengröße) zurückgeführt.² Jeder dieser Prozesse führt zu einer deutlichen Abnahme der Extinktion, wenn die einheitliche Wolke aus ausgefälltem Anethol verschwindet. Dieser Phasenübergang bei niedrigen Temperaturen erwies sich als nicht reversibel, d. h. beim erneuten Erwärmen der Lösung ließ sich eine Hysterese beobachten. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden Temperaturen unter $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Löslichkeitsphasendiagramm weggelassen, da sie keine Auswirkungen auf das Einsetzen der Ausfällung hatten.

Auswirkungen der prozentualen Alkoholkonzentration auf die Ausfällungstemperatur

Die Experimente wurden mit frisch zubereiteten Lösungen mit unterschiedlicher Alkoholkonzentration (unverdünnt bis $30,0\text{ } \%$ v/v) wiederholt. Die Abkühlungskurven für die verschiedenen Proben sind in Abbildung 5 gezeigt. Bereits die Zugabe geringster Mengen an Wasser zu dem Schnaps hatte eine Verschiebung der Onset-Temperatur der Ausfällung von Anethol zur Folge. Es gibt einen klaren Trend in Richtung einer höheren Ausfällungstemperatur, wenn der Ethanolanteil in der Lösung abnimmt.

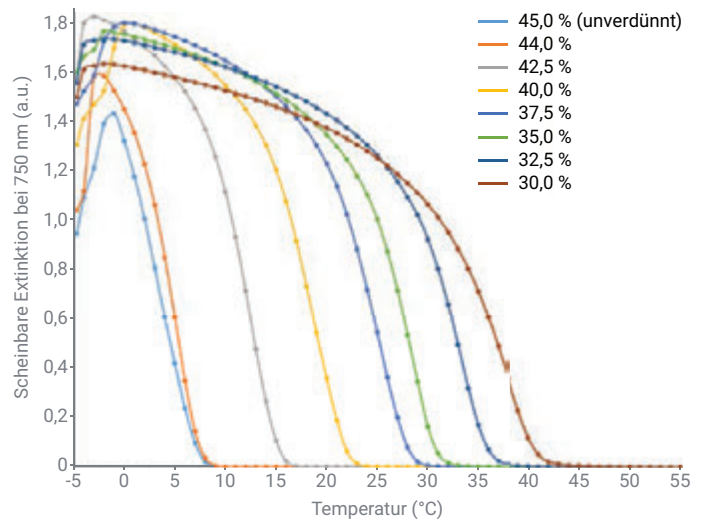


Abbildung 5. UV-Vis-Abkühlungskurven (Stufe 2) von Pastis-Lösungen mit einer Alkoholkonzentration von 45,0, 44,0, 42,5, 40,0, 37,5, 35,0, 32,5 und 30,0 % (v/v).

Das Experiment war auf $30\text{ } \%$ (v/v) Alkohol beschränkt, da Proben mit niedrigeren Alkoholkonzentrationen Temperaturen nahe am Siedepunkt von Ethanol/Wasser erreichen, um die Mischung zunächst zu lösen.

Bestimmung der Phasentemperaturen

Es wurde die Methode der ersten Ableitung angewendet, um die Phasentemperatur für jede der in Abbildung 5 gezeigten Kurven genau zu bestimmen. Anhand der gemittelten Temperaturen wurde das in Abbildung 6 gezeigte Phasendiagramm der Anethollöslichkeit erstellt. Die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung der drei Wiederholungswerte.

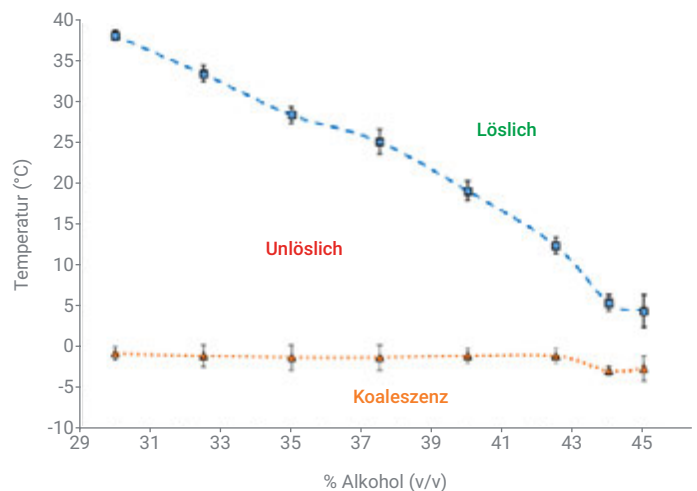


Abbildung 6. Löslichkeitsphasendiagramm von Anethol in Pastis-Schnaps. Jeder Datenpunkt entspricht dem Durchschnittswert, und die Fehlerbalken beziehen sich auf die Standardabweichung von drei Wiederholungen.

Die UV-Vis-Spektroskopie mag nicht die naheliegendste oder am besten geeignete Methode zur Untersuchung der Phasentrennung nahe dem Gefrierpunkt von Wasser sein. Die Temperatur, bei der sie auftritt, könnte jedoch auch mithilfe der Methode der ersten Ableitung geschätzt werden. Dieser zusätzliche Phasenübergang scheint unabhängig von der Alkoholkonzentration in der Lösung zu sein, wie durch die orange gepunktete Linie in Abbildung 6 dargestellt ist. Die Tatsache, dass der Übergang sehr nahe bei 0 °C liegt, ließe die Vermutung zu, dass er mit reinen Wasserbereichen innerhalb der Emulsion zusammenhängt.

Fazit

Es wurde das mit einem Agilent Multiküvetten-Peltier-Probenmodul ausgestattete Agilent Cary 3500 UV-Vis-Spektralphotometer verwendet, um ein Acht-Punkte-Phasendiagramm von Anethol in Pastis-Schnaps zu erstellen.

Die Multizonenfunktion der temperaturgeregelten Peltier-Multiküvette ermöglichte die parallele Durchführung von vier Temperaturanstiegsexperimenten mit Küvetten, die Proben-/Referenzpaare enthielten. Diese Funktion ermöglichte die Erstellung eines umfassenden Löslichkeitsphasendiagramms für Pastis in zwei Durchläufen von 73 Minuten mit dem Cary 3500 UV-Vis – viel schneller als bei der Erstellung eines Phasendiagramms mit anderen Techniken.

Zur Verhinderung von Sedimentation während der Messungen wurde jede der acht Küvetten in der Multiküvette mit einem unabhängigen Rührer ausgestattet. Ständiges Rühren stellte auch die Gleichmäßigkeit der Temperatur in allen Küvetten sicher, was für Temperaturanstiegsexperimente entscheidend ist. Die Kombination aus luftgekühltem Peltier-System und Stickstoffgasspülfunktion stellte sicher, dass Temperatursollwerte deutlich über der Umgebungstemperatur und unter dem Gefrierpunkt von Wasser ohne Kondensation erreicht wurden.

Die Studie zeigte die Eignung und Effizienz des benutzerfreundlichen Cary 3500 UV-Vis-Systems bei der Erstellung von Phasendiagrammen komplexer Proben, um Aufschluss über den Ouzo-Effekt zu geben.

Referenzen

1. United States Pharmacopeia (2024). General Chapter, {855} Nephelometry and Turbidimetry. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeia. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M9373_03_01
2. Sitnikova, N. L.; Sprik, R.; Wegdam, G.; Eiser, E. Spontaneously Formed *trans*-Anethol/Water/Alcohol Emulsions: Mechanism of Formation and Stability. *Langmuir* **2005**, 21, 16, 7083–7089.

Weitere Informationen

- Cary 3500 Multicell UV-Vis-Spektralphotometer
- Cary 3500 Compact UV-Vis-Spektralphotometer
- Cary UV Workstation-Software
- Häufige Fragen zur UV-Vis-Spektroskopie und zu Spektralphotometern

www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis

DE-000868

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
Gedruckt in den USA, 12. September 2024
5994-7767DEE